

LAILATUR ROHMA NINGSIH NIM. 14.03.411.00010. Identifikasi Molekular Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Karang *Leptoria Phyrigia* Penghasil Antibakteri Dalam Upaya Pengendalian Black Band Disease Di Pulau Gili Labek Kabupaten Sumenep. Dibawah bimbingan **Insafitri, ST., M.Sc., P.hD.**

ABSTRAK

Penyakit karang adalah gangguan terhadap kesehatan karang yang dapat disebabkan oleh mikroba patogen. Beberapa mikroba patogen yang menyebabkan *Black Band Disease* pada karang *Leptoria sp* di Pulau Gili Labek yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudoalteromonas rubra*. Bakteri asosiasi karang *Leptoria phyrigia* diindikasikan memiliki kandungan senyawa aktif antibakteri untuk melawan bakteri patogen penyebab BBD. Bakteri asosiasi karang yang memiliki aktivitas antibakteri perlu dilakukan identifikasi untuk mengetahui jenisnya dengan menggunakan identifikasi DNA bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri asosiasi karang *Leptoria Phyrigia* yang memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat BBD pada karang *leptoria sp* di Pulau Gili Labek. Pengambilan data dilakukan dengan pengambilan sampel karang sehat *leptoria phyrigia*. Adapun analisa laboratorium meliputi isolasi bakteri, uji antibakteri, ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, Elektroforesis, sekuensing dan analisa filogenetik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada enam isolat bakteri yang berhasil diidentifikasi berdasarkan ciri morfologi. Dari enam isolat bakteri hasil isolasi karang *leptoria phyrigia*, lima diantaranya memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureuz* dan *Pseudoalteromonas rubra*. Hasil analisa BLAST menunjukkan bahwa Isolat bakteri $10^{-5} 2$ (LP $10^{-5} 2$) memiliki kemiripan dengan *Idiomarina aquatica* sebesar 99%, Isolat bakteri $10^{-5} 3$ (LP $10^{-5} 3$) memiliki kemiripan dengan *Vibrio alginolyticus* sebesar 95%, dan Isolat bakteri 10^{-10} (LP 10^{-10}) memiliki kemiripan dengan *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* sebesar 90%. Isolat bakteri $10^{-7} 1$ dan $10^{-7} 2$ merupakan bakteri dengan jenis yang sama namun masih belum teridentifikasi dan memiliki kekerabatan dengan genus *Bacillus*.

Kata Kunci: *Leptoria phyrigia*, Antibakteri, *Black Band Disease*

LAILATUR ROHMA NINGSIH NIM. 14.03.411.00010. Molecular Identification of Bacteria Associated With Coral *Leptoria Phyrigia* Antibacterial Producer In Black Band Disease Control Effort On Gili Labek Island Sumenep Regency. Under Guidance of Advisors **Insafitri, ST., M.Sc., P.hD.**

ABSTRACT

*Coral disease is a disruption to coral health which can be caused by pathogenic microbes. Some pathogenic microbes that cause Black Band Disease on *Leptoria sp* coral on Gili Labek Island are *Staphylococcus aureuz* and *Pseudoalteromonas rubra*. Bacterial association of coral *Leptoria phyrigia* is indicated to have an antibacterial active compound to fight bacterial pathogen causing BBD. Coral association bacteria that have antibacterial activity need to be identified to know its type by using bacterial DNA identification. This study aims to determine the type of coral bacterial association *Leptoria Phyrigia* which has antibacterial activity in inhibiting BBD in coral *leptoria sp* on Gili Labek Island. The data were collected by sampling healthy coral *leptoria phyrigia*. The laboratory analysis includes bacterial isolation, antibacterial test, DNA extraction, DNA amplification, electrophoresis, sequencing and phylogenetic analysis.*

*The results showed that six bacterial isolates were identified based on morphological features. Of the six isolated bacterial isolates of *leptoria phyrigia* coral, five of them have potential antibacterial activity against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureuz* and *Pseudoalteromonas rubra*. The result of BLAST analysis showed that bacteria isolate 10-52 (LP 10⁻⁵²) had similarity with *Idiomarina aquatica* 99%, bacteria isolate 10-53 (LP 10⁻⁵³) had similarity with 95% *Vibrio alginolyticus*, and bacterial isolate 10-10 (LP 10⁻¹⁰) have similarities with *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* by 90%. Isolate bacteria 10-71 and 10-72 are bacteria of the same type but are still unidentified and have a kinship with the genus *Bacillus*.*

Key Word : *Leptoria phyrigia*, antibacterial, Black Band Disease

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	vii
RIWAYAT HIDUP	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Batasan Masalah	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Karang <i>Leptoria phyrigia</i>	4
2.2 Bakteri Asosiasi Karang Keras.....	5
2.3 Bakteri Patogen	5
2.4 <i>Black Band Disease</i> Pada Karang.....	6
2.5 Upaya Pengendalian <i>Black Band Disease</i>	8
2.6 Uji Antibakteri	9
2.7 PCR	10
2.8 Risalah Penelitian.....	13
III. METODOLOGI PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat	18
3.2 Alat dan Bahan.....	18

3.3 Prosedur Pengumpulan Data	21
3.4 Pengambilan Sampel Karang Sehat	21
3.5 Sterilisasi	22
3.6 Pembuatan Media Zobell 2116E	22
3.7 Preparasi Sampel	22
3.8 Pengenceran	23
3.9 Isolasi Bakteri	23
3.10 Uji Antibakteri	24
3.11 Analisis Diameter Zona Hambat Antibakteri	25
3.12 Analisis Tipe Antibakteri	26
3.13 Analisis Kemurnian DNA	26
3.14 Ekstraksi DNA	26
3.15 Amplifikasi DNA	27
3.16 Elektroforesis	27
3.17 Sekuensing	27
3.18 Analisa Filogenetik	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian	29
4.2 Bakteri Asosiasi Karang Leptoria	29
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	33
4.4 Amplifikasi 16s rNA Bakteri	42
4.5 Analisis Filogenetik Bakteri Yang Memiliki Aktivitas Antibakteri	45
4.6 Asosiasi Bakteri Karang <i>Leptoria Phyrigia</i> Yang Memiliki Aktivitas Antibakteri	49
V. PENUTUP	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
Lampiran	60

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Alat Laboratorim.....	19
Tabel 3.2 Alat yang digunakan untuk identifikasi berdasarkan 16s rDNA	19
Tabel 3.3 Bahan yang digunakan pada saat reculture bakteri patogen	20
Tabel 3.4 Bahan yang digunakan pada saat isolasi dan uji aktivitas antibakteri	20
Tabel 3.5 Bahan yang digunakan pada saat identifikasi bakteri berdasarkan 16s rDNA	20
Tabel 3.6. Kategori penghambatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat..	26
Tabel 3.7. Kategori tipe antibakteri.....	26
Tabel 3.8. Kategori kemurnian DNA.....	26
Tabel 4.1 Morfologi koloni bakteri yang berasosiasi dengan karang <i>Leptoria phyrigia</i>	30
Tabel 4.2 Diameter zona hambat tanggal 23 November 2017 (1 x 24 jam)	36
Tabel 4.3 Diameter zona hambat tanggal 24 November 2017 (2 x 24 jam)	37
Tabel 4.4 Diameter zona hambat tanggal 25 November 2017 (3 x 24 jam)	37
Tabel 4.5 Rata-rata diameter zona hambat.....	37
Tabel 4.6 Hasil pembacaan kemurnia DNA	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Leptoria phyrigia</i>	4
Gambar 2.2. Proses Denaturasi	11
Gambar 2.3. Proses Annealing.....	12
Gambar 2.4. Proses Extention.....	12
Gambar 3.1 Peta Lokasi Penelitian	18
Gambar 3.2 Prosedur Pengumpulan Data	21
Gambar 3.3 Proses pengenceran bertingkat	17
Gambar 3.4. Pengukuran zona hambat	23
Gambar 4.1 Karang <i>Leptoria phyrigia</i>	30
Gambar 4.2 Hasil isolasi bakteri (a) LP 10 ⁻⁵ , (b) LP 10 ⁻⁷ dan (c) LP 10 ⁻¹⁰	32
Gambar 4.3 Hasil purifikasi bakteri (a) LP 10 ⁻⁵ 3, (b) LP 10 ⁻⁷ 2, dan (c) LP 10 ⁻¹⁰	33
Gambar 4.4 Hasil uji overlay (a) Isolat bakteri <i>Leptoria</i> dengan <i>Staphylococcus aureuz</i> (b) Isolat bakteri <i>Leptoria</i> dengan <i>Pseudoalteromonas rubra</i>	33
Gambar 4.5 Hasil Uji Difusi Agar (a) isolat bakteri 10 ⁻⁵ 2 dengan <i>S.aureuz</i> , (b) isolat bakteri 10 ⁻⁵ 3 dengan <i>S.aureuz</i> , (c) isolat bakteri 10 ⁻⁷ 1 dengan <i>S.aureuz</i> , (d) isolat bakteri 10 ⁻¹⁰ dengan <i>S.aureuz</i> , (e) isolat bakteri 10 ⁻⁵ 3 dengan <i>P.rubra</i> (f) isolat bakteri 10 ⁻⁷ 2 dengan <i>P.rubra</i>	35
Gambar 4.6 Grafik Diameter zona hambat LP 10 ⁻⁵ 2 dengan <i>S.aureuz</i> selama 3 hari	38
Gambar 4.7 Grafik Diameter zona hambat LP 10 ⁻⁵ 3 dengan <i>S.aureuz</i> selama 3 hari	39
Gambar 4.8 Grafik Diameter zona hambat LP 10 ⁻⁷ 1 dengan <i>S.aureuz</i> selama 3 hari	39
Gambar 4.9 Grafik Diameter zona hambat LP 10 ⁻¹⁰ dengan <i>S.aureuz</i> selama 3 hari.	40
Gambar 4.10 Grafik Diameter zona hambat LP 10 ⁻⁵ 3 dengan <i>P.rubra</i> selama 3 hari	40
Gambar 4.11 Grafik Diameter zona hambat LP 10 ⁻⁷ 2 dengan <i>p.rubra</i> selama 3 hari	41
Gambar 4.12 Hasil amplifikasi DNA.....	44
Gambar 4.13 Pohon Filogenetik isolat LP1	47
Gambar 4.14 Pohon Filogenetik Isolat LP2	47
Gambar 4.15 Pohon Filogenetik Isolat LP5.....	48
Gambar 4.16 Pohon filogenetik Isolat LP3 dan LP4	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kromatogram LP1/LP 10 ⁻⁵ 2	53
Lampiran 2. Kromatogram LP2/LP 10 ⁻⁵ 3	53
Lampiran 3. Kromatogram LP3/LP 10 ⁻⁷ 1	54
Lampiran 4. Kromatogram LP4/LP 10 ⁻⁷ 2	55
Lampiran 5. Kromatogram LP5/LP 10 ⁻¹⁰	55
Lampiran 6. Urutan Nukleutida Isolat Bakteri.....	56
Lampiran 7. Urutan Nukleutida Isolat Bakteri.....	57
Lampiran 8. Urutan Nukleutida Isolat Bakteri.....	58
Lampiran 9. Urutan Nukleutida Isolat Bakteri.....	59
Lampiran 10. Urutan Nukleutida Isolat Bakteri.....	60
Lampiran 11. Hasil Identifikasi Bakteri Isolat LP1/LP 10 ⁻⁵ 2	61
Lampiran 12. Hasil Identifikasi Bakteri Isolat LP1/LP 10 ⁻⁵ 3	62
Lampiran 13. Hasil Identifikasi Bakteri Isolat LP1/LP 10 ⁻⁷ 1	63
Lampiran 14. Hasil Identifikasi Bakteri Isolat LP1/LP 10 ⁻⁷ 2	64
Lampiran 15. Hasil Identifikasi Bakteri Isolat LP1/LP 10 ⁻¹⁰	65