

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT RUMPUT
LAUT SPESIES *Halimeda macroloba* DARI PULAU MASPARI,
OGAN KOMERING ILIR SUMATERA SELATAN**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang
Ilmu Kelautan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya*



Oleh :

NURIL AZHAR

08051381320003

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDERALAYA**

2017

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT RUMPUT
LAUT SPESIES *Halimeda macroloba* DARI PULAU MASPARI,
OGAN KOMERING ILIR SUMATERA SELATAN**

SKRIPSI

Oleh :

NURIL AZHAR

08051381320003

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang
Ilmu Kelautan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya*

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDERALAYA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT RUMPUT LAUT
SPESIES *Amphiroa fragilissima* DARI PULAU MASPARI

SKRIPSI

*Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Bidang Ilmu Kelautan*

Oleh

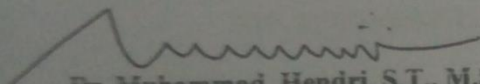
NURIL AZHAR

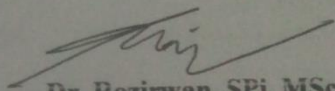
08051381320003

Inderaiaya, Agustus 2017

Dosen Pembimbing II

Dosen Pembimbing I


Dr. Muhammad Hendri, S.T., M.Si
NIP.197510092001121004


Dr. Rozirwan, SPi, MSc
NIP.197905212008011009

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kelautan



Heron Suraakti, S.Pi., M.Si
NIP.197703202001121002

Tanggal Pengesahan:

LEMBAR PENGESAHAN

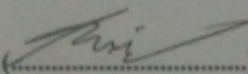
Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Nuril Azhar
NIM : 08051381320003
Program Studi : Ilmu Kelautan
Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Rumput Laut Spesies
Halimeda macroloba dari Pulau Maspari.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

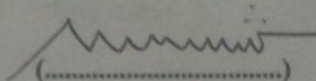
DEWAN PENGUJI

Ketua : Dr. Rozirwan, M.Sc
NIP. 197905212008011009



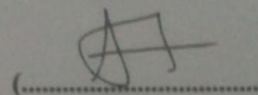
(.....)

Anggota : Dr. Muhammad Hendri, M.Si
NIP. 197510092001121004



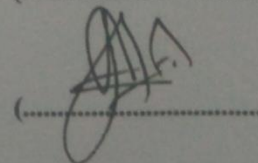
(.....)

Anggota : Tengku Zia Ulqodry, PhD
NIP. 197709112001121006



(.....)

Anggota : Gusti Diansyah, S.Pi., M.Sc
NIP. 198108052005011002



(.....)

Ditetapkan di : Indralaya

Tanggal :

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya **NURIL AZHAR, NIM 08051381320003** menyatakan bahwa Karya Ilmiah/Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan Karya Ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun Perguruan Tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam Karya Ilmiah/Skripsi ini yang berasal dari penulis lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua Karya Ilmiah/Skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Inderalaya, September 2017



Nuril Azhar

08051381320003

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nuril Azhar
NIM : 08051381320003
Program Studi : Ilmu Kelautan
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas Karya Ilmiah saya yang berjudul:

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Rumput Laut Spesies *Halimeda macroloba* dari Pulau Maspari, Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis pertama/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat yang sebenarnya.

Inderalaya, September 2017

Yang menyatakan,



Nuril Azhar

08051381320003

ABSTRAK

Nuril Azhar. 08051381320003. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Rumput Laut Spesies *Halimeda macroloba* dari Pulau Maspari Ogan Komering Ilir Sumatera Selatan. (Pembimbing : Dr. Rozirwan M.Sc dan Dr. M. Hendri M.Si)

H. macroloba merupakan salah satu rumput laut dari *Chlorophyta* (alga hijau) yang menghasilkan senyawa bioaktif. Salah satu upaya yang dilakukan untuk mengeksplorasi senyawa bioaktif yaitu bakteri endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menganalisa jumlah, jenis dan laju pertumbuhan bakteri endofit asosiasi *H. macroloba* dari Pulau Maspari, Sumatera Selatan. Prosedur yang dilakukan meliputi penumbuhan, isolasi, pemurnian, pewarnaan Gram, uji biokimia, identifikasi dan laju pertumbuhan. Isolasi dilakukan dengan teknik *pour plate* dan didapatkan 3 isolat murni dengan kode isolat yaitu HL2K (*Veilonella* sp), HL2P (*Yersinia* sp.) dan HL2SPK (*Shigella* sp). Isolat yang didapatkan seluruhnya bersifat gram negatif dan memiliki karakteristik yaitu *Veilonella* sp (*cocus* mempunyai koloni berwarna kuning), *Yersinia* sp. (*basil* mempunyai koloni berwarna putih) dan *Shigella* sp (*basil* mempunyai koloni berwarna orange). Jumlah bakteri terbanyak isolat bakteri *Shigella* sp., *Veilonella* sp. dan *Yersinia* sp. berturut-turut adalah 39×10^{10} (Cfu/ml), $12,7 \times 10^{10}$ (Cfu/ml) dan 271×10^{10} (Cfu/ml) dengan konsentrasi awal yaitu 79×10^4 (Cfu/ml), 184×10^4 (Cfu/ml) dan 37×10^4 (Cfu/ml). Laju pertumbuhan tertinggi setiap isolat berturut-turut yaitu 0.78 (Cfu/ml/jam), 0.95 (Cfu/ml/jam) dan 1.49 (Cfu/ml/jam). Waktu Generasi tercepat dari setiap bakteri yaitu 13.17 jam (*Shigella* sp.), 14.05 jam (*Veilonella* sp.) dan 6.99 jam (*Yersinia* sp.).

Kata Kunci : *H. macoloba*, bakteri endofit, jenis bakteri, laju pertumbuhan, waktu generasi

ABSTRAK

Nuril Azhar. 08051381320003. Isolation and Identification Endofitic Bacteria Seaweed *Halimeda* Species *macroloba* from Maspari Island, South Sumatra (Supervisor : Dr. Rozirwan M.Sc dan Dr. M. Hendri M.Si)

H. macroloba is one seaweed of the Chlorophyta (green algae) which produceds bioaktive compound. One of the efforts is making to explore of bioaktif compounds i.e. bacterial endophyte. This research aims to found and analyzed the amount, type and rate of growth of bacterial endophyte association *H. macroloba* from Maspari Island, South Sumatra. Procedures performed include growth, isolation, purification, staining Gram, biochemical test, identification and growth rate. Insolation is made with pour plate techniques and obtained 3 isolates pure with code isolates i.e HL2K (*Veilonella* sp.), HL2P (*Yersinia* sp.) and HL2SPK (*Shigella* sp). Isolates are obtained entirely negative Gram and has a characteristic i.e *Veilonella* sp. (cocus has yellow colonies), *Yersinia* sp. (basil has white colonies) and *Shigella* sp (basil has orange colonies). The largest number of bacteria isolates the bacteria *Shigella* sp., *Yersinia* sp., and *Veilonella* sp. in a row is 39×10^{10} (Cfu/ml), 12.7×10^{10} (Cfu/ml) and 271×10^{10} (Cfu/ml) and initial concentrations i.e., 79×10^4 (Cfu/ml), 184×10^4 (Cfu/ml) and 37×10^4 . (Cfu/ml). The highest growth rate of any consecutive isolates 0.78 (Cfu/ml/hour), 0.95 (Cfu/ml/hour) and 1.49 (Cfu/ml/hour). The fastest generation time of any bacteria that is 13.17 hours (*Shigella* sp.), 14.05 hours (*Veilonella* SP.) and 6.99 hours (*Yersinia* sp.).

Key words: *H. macoloba*, endophytic bacteria, strains, growth rate, generation time

RINGKASAN

Nuril Azhar. 08051381320003. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Rumput Laut Spesies *Halimeda macroloba* dari Pulau Maspari Ogan Komering Ilir Sumatera Selatan

(Pembimbing : Dr. Rozirwan M.Sc dan Dr. M. Hendri M.Si)

Pulau Maspari memiliki beragam biota seperti mangrove, rumput laut dan sebagainya. Rumput laut di Pulau Maspari memiliki beragam jenis dan memiliki banyak potensi. Senyawa bioaktif bisa dimanfaatkan sebagai bahan obat. Salah satu rumput laut yang berpotensi adalah *H. macroloba* sebagai penghasil senyawa bioaktif yang banyak potensi di dalamnya dan sedikit dieksplorasi. Kendala dalam mengeksplorasi dan eksploitasi senyawa bioaktif dari rumput laut adalah terbatasnya produksi di alam. Solusi yang bisa dilakukan untuk mengeksplorasi senyawa bioaktif dari rumput laut adalah bakteri endofit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri endofit dari, mengidentifikasi bakteri endofit yang diisolat dari rumput laut spesies *H. macroloba*. serta menganalisis laju pertumbuhan setiap isolat bakteri endofit.

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Maret – Mei 2017. Sampel *H. macroloba* yang digunakan diambil di Pulau Maspari, Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan dengan koordinat 3° 15' 57" LS dan 106° 12' 59" BT. Penumbuhan bakteri endofit dilakukan di media cair. Bakteri yang tumbuh ditandai dengan perubahan warna dan dilakukan isolasi. Isolasi bakteri dilakukan dengan teknik *pour plate*. Bakteri yang tumbuh dicawan petri dilakukan pemurnian. Isolat bakteri yang telah murni dilakukan karakterisasi (pewarnaan Gram) dan uji biokimia. Hasil tersebut dijadikan parameter untuk identifikasi bakteri endofit. Bakteri endofit juga dilakukan perhitungan laju pertumbuhan dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

Isolat bakteri HL2K memiliki karakteristik gram negatif berbentuk bulat (*coccus* mempunyai koloni berwarna kuning) dan uji biokimia meliputi kebutuhan oksigen (*anaerob*), fermentasi gula glukosa (-) dan uji indol (-) merupakan bakteri *Veillonella* sp. Isolat bakteri HL2SPK memiliki karakteristik gram negatif berbentuk batang (*basil* mempunyai koloni berwarna putih) dan uji biokimia meliputi kebutuhan oksigen (*anaerob* fakultatif), urease (-), fermentasi gula laktosa (-) sukrosa (+), motilitas (-), dan uji indol (-) merupakan bakteri *Shigella* sp. Isolat bakteri HL2P memiliki karakteristik gram negatif berbentuk batang (*basil* mempunyai koloni berwarna orange) dan uji biokimia meliputi kebutuhan oksigen (*anaerob*), fermentasi gula laktosa (-), glukosa (-), motilitas (-), urease (-), *simmons citrate* (-) dan uji indol (-) merupakan bakteri *Yersinia* sp.

Jumlah bakteri terbanyak isolat bakteri *Shigella* sp., *Veillonella* sp. dan *Yersinia* sp. berturut-turut adalah 39×10^{10} Cfu/ml, $12,7 \times 10^{10}$ Cfu/ml dan 271×10^{10} Cfu/ml dengan konsentrasi awal yaitu 79×10^4 Cfu/ml, 184×10^4 Cfu/ml dan 37×10^4 Cfu/ml. Laju pertumbuhan tertinggi berturut-turut yaitu 0.78 Cfu/ml/jam, 0.95 Cfu/ml/jam dan 1.49 Cfu/ml/jam sedangkan terendah yaitu 0.15 Cfu/ml/jam, 0.38 Cfu/ml/jam dan 0.04 Cfu/ml/jam. Waktu Generasi tercepat yaitu 13.17 jam (*Shigella* sp.), 14.05 jam (*Veillonella* sp.) dan 6.99 jam (*Yersinia* sp.) sedangkan waktu generasi terlama yaitu 85.37 jam (*Shigella* sp.), 43.43 jam (*Veillonella* sp.) dan 449.58 jam (*Yersinia* sp.).

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puji dan syukur saya panjatkan kepada *Allah subhanahu wata'ala*, alhamdulillah karena berkat ridho dan kekuasaannya sehingga saya dapat menyelesaikan Penelitian ini dan mendapatkan gelar sarjana. Salawat nabi yang saya sampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad *shallallahu 'alaihi wa sallam*, membawa zaman dari kegelapan ilmu menjadi zaman yang terang benderang memiliki ilmu yang sangat banyak. Al-Qur'an dan sunnah nabi Muhammad *shallallahu 'alaihi wa sallam* menjadi panutan untuk menjadi pribadi yang lebih baik lagi. Semoga di yaumul akhir mendapatkan syafaat dari Nabi Muhammad *shallallahu 'alaihi wa sallam* dan menjadi pengikutnya. Aamiin ya rabbal alamin.

Saya mengucapkan ribuan terimakasih untuk nama yang akan saya sebutkan, atas pertolongan, ilmu, nasihat dan waktunya dalam membimbing dan menemani selama penelitian ini;

1. Bapak **Dr.Rozirwan**, selaku pembimbing intan dari awal intan minta judul **KP, Skripsi**, trimakasih banyak pak atas waktu, ilmu, dan kesabaran bapak dalam membimbing intan, menyemangatin intan, membuat intan yang semula tidak tau menjadi tau. Candaan bapak yang terkadang membuat intan baper ☺ hahaha, ilmu yang bapak berikan sangat berharga bagi intan, bapak **TERBAIK** dalam segalanya hehehe. Intan minta maaf pak, jika selama ini intan melakukan kesalahan yang intan sengaja maupun tidak disengaja, mohon dimaafkan pak ya ☹☹☹. Hanya Allah subhanahu wata'ala yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.
2. Bapak **Dr.Muhammad Hendri**, selaku pembimbing intan skripsi, bapak yang membuat intan cepat semangat, memberikan suntikan semangat yang jauh lebih baik dari pada **Mar*o Teguh** hehehe ☺☺, bapak yang mau sabar dalam menghadapi tingkah laku intan, bapak yang membuat pikiran intan berawal dari kacau menjadi simpel dengan bilang **“Mudah itu jangan terlalu dipusingkan”** hihh trimakasih banyak pak sangat bekerja, mantra yang bapak kasih kalau intan takut dan gugup selama seminar dan sidang **“LOLOCAN (Lo kera gue macan)”** :D :D :D , bapak **TERBAIK**. Intan minta maaf pak atas tingkah maupun sifat intan yang manja membuat bapak jengkel ☹☹, maafin

intan pak ya ☺☺. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.

3. Bapak **Tengku Zia Ulqodry, PhD**, selaku penguji dan pembimbing dari intan seminar proposal, seminar hasil, dan sidang sarjana. Beliau yang bersemangat dalam membahas draft intan untuk menjadikan draft intan ini benar lagi, memberikan semangat dan masukan yang bagus. Dari semula intan tidak tau mengenai *filosofi* akhirnya intan menjadi tau. Trimakasih banyak pak, atas kesabaran bapak, kebaikan bapak, waktu luang bapak dalam membimbing intan revisian draft skripsi intan di sela-sela kesibukan bapak sebagai sekretaris program studi Ilmu Kelautan. Intan minta maaf pak, jika selama seminar proposal membuat bapak marah, dari situ intan bertekad harus lebih baik lagi kedepan. Trimaksih banyak bapak ☺☺☺☺☺. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.
4. Bapak **Gusti Diansyah, SPI., M.Sc**, selaku penguji, pembimbing revisian dan pembimbing akademik. Pak, intan mengucapkan trimakasih untuk semua waktu, kesabaran, dan ilmu bapak yang diberikan untuk intan. Masukan dan saran yang membuat intan mengerti mana yang benar dan salah. Bapak menjadi dosen pembimbing akademik yang selalu menyemangati, mengingatkan ketika kami lalai dalam akademik. Bapak yang murah senyum, kalau bapak senyum waahh manis ☺☺☺, bapak yang mau mengajak kami bercanda sebelum bimbingan akademik ☺. Trimakasih banyak pak atas didikannya selama 4 tahun ini. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.
5. **Ketua Program Studi Ilmu Kelautan Bapak Heron Surbakti, M, Si**, yang rela memberikan sedikit waktunya untuk intan meminta tanda tangan, meberikan pelajaran dari awal kuliah hingga akhir kuliah, semangat bapak dalam mengajar, kesabaran. Trimaksih kasih banyak pak, dan intan minta maaf untuk kesalahan yang intan lakukan baik yang sengaja maupun yang tidak disengaja. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.

6. **Bapak/Ibu Dosen Program Studi Ilmu Kelautan** yang memberikan ilmu dan waktu untuk memberikan pelajaran yang sangat berharga bagi intan. Trimakasih banyak buk, dan intan mohon maaf jika intan melakukan kesalahan baik yang disengaja maupun yang tidak disengaja. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak/ibu aamiin yarabbalalamin.
7. **PAK MUNAWAR** selaku **Ketua Program Studi Biologi**, bapak yang rela memberikan waktu untuk berdiskusi mengenai penelitian intan, bapak yang selalu sabar memberikan penjelasan kepada intan, bapak yang mau memberikan ilmunya kepada intan. Trimakasih banyak pak, atas bimbingan bapak untuk intan yang bukan mahasiswi biologi, ilmu yang bapak berikan sangat berharga untuk intan, yang pada awalnya intan tidak tau mengenai identifikasi bakteri, sekarang sudah tau dan intan banyak diberikan pengalaman dalam menyelesaikan penelitian ini. Maaf pak, intan banyak merepotin bapak disela-sela kesibukan bapak untuk mengajari intan supaya bisa. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.
8. **PAK MARSAL (pipi)** selaku ayah bagi intan di rantauan, trimakasih banyak pi, atas kesabaran dan waktu yang pipi kasih untuk intan. Maaf pi, intan banyak bikin salah samo pipi, sering bandel kalau dibilangin, intan sering nyusahin pipi, buat pipi terkadang kesel samo intan ☹️☹️☹️☹️ maaf pi yo ☹️☹️☹️. Semangat yang pipi kasih ke intan setelah intan curhat dengan kepeninangan intan selama kuliah, kegalauan intan hahahahah :D :D :D :D, trimakasih banyak pi. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.
9. **PAK MIN**, bapak yang selalu intan minta cap untuk surat dll :D :D :D :D, yang paling seneng dengan menonton hewan-hewan yang di alam (sebagai penenang pikiran), pak min, maaf yo kalau selamo intan kuliah ini, pak min sering direpotin oleh intan. Trimakasih banyak pak min atas kesabaran dan waktunya untuk intan. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk bapak aamiin yarabbalalamin.

10. UNI NIAR (analisis Lab Mikrobiologi Jurusan Biologi) yang sudah mau direpotin intan, intan sering bertanya ini dan itu. Trimakasih banyak ni, sudah mau memberikan ilmunya untuk intan. Intan minta maaf jika selama ini melakukan penelitian di Lab Mikro banyak melakukan kesalahan. Trimakasih ni, alat-alat yang di Lab Mikro mau uni pinjamin dengan intan meskipun banyak yang intan pinjam sampai 200 lebih cawan petri, dan tabung reaksi. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat memberikan kelimpahan rezeki dan keridhoannya untuk uni aamiin yarabbalalamin.

11. **WAHYU INTAN SARO**, trimakasih banyak yo ril, sudah menjadi pacar/teman sekaligus tandem skripsi yang mau menolong intan, pengetahuan yang idak tau samo sekali biso kito pecahkan sampai kito ngerti, sudah bersama sampai 2 tahun lebih, keadaan **susah** telat dapet kiriman lagi dak ado uang samo2 masak nasi goreng abal-abal, saling sepinjaman uang, **senang** sudah dirasain galo. Tapi jangan mudah marah lagi yo, harus lebih sabar lagi, harus lebih menjadi orang yang perhatian, pengertian. Trimakasih atas kebaikan selamo ini. Hanya Allah subhanahu wata'ala, yang dapat membalas kebaikan kau ril aamiin ya rabbal alamin ☺☺☺☺.

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Rumput Laut Spesies <i>Halimeda macroloba</i>	5
2.2 Bakteri Endofit	8
2.3 Karakterisasi Bakteri	11
2.3.1 Pewarnaan Gram sel bakteri	11
2.3.2 Uji Biokimia	12
2.4 Laju Pertumbuhan	16
III METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.3 Metode Penelitian.....	22
3.3.1 Pengambilan dan Penanganan Sampel Rumput Laut di Pulau Maspari ..	23
3.3.1 Penanganan Sampel dan Penumbuhan Bakteri Endofit.....	23
3.3.2 Isolasi dan Karakterisasi Makroskopis Bakteri Endofit	24
3.3.3 Pemurnian Bakteri Endofit	24
3.3.4 Karakterisasi Bakteri Endofit	25
3.3.5 Identifikasi Bakteri Endofit	27
3.3.6 Laju Pertumbuhan Bakteri Endofit.....	27
3.4 Analisis Data	28
3.4.1 Analisis Deskriptif	28
3.4.2 Analisis Data Kurva Pertumbuhan	28

IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Parameter Lingkungan <i>H. macroloba</i>	30
4.2 Rumput laut <i>Halimeda macroloba</i>	30
4.3 Penumbuhan Bakteri Endofit di Media Cair	32
4.4 Isolasi, Makroskopis, dan Pemurnian Bakteri Endofit.....	34
4.4 Karakterisasi Bakteri Endofit	36
4.4.1 Pewarnaan Gram.....	37
4.4.2 Uji Biokimia	39
4.4.3 Identifikasi Bakteri Endofit	47
4.5 Laju Pertumbuhan	51
4.5.1 Kurva Tumbuh Bakteri Endofit.....	53
V KESIMPULAN DAN SARAN	56
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	70

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Diagram alir rumusan masalah.....	3
Gambar 2 Bagian-bagian thalus rumput laut	5
Gambar 3 Daerah dan zona pantai	6
Gambar 4 <i>Halimeda macroloba</i>	7
Gambar 5 Interaksi bakteri simbiosis dengan rumput laut.....	10
Gambar 6 Uji hidrolisis karbohidrat.	13
Gambar 7 Hasil uji indol.....	13
Gambar 8 Reaksi uji urease.....	14
Gambar 9 Hasil uji urease.....	14
Gambar 10 Hasil uji <i>Simmons citrate</i>	16
Gambar 11 Lokasi pengambilan sampel.....	19
Gambar 12 Diagram alir penelitian.....	22
Gambar 13 Rumput laut <i>H. macroloba</i>	31
Gambar 14 Penumbuhan bakteri media cair.	33
Gambar 15 Pemurnian isolat bakteri.....	35
Gambar 16 Hasil pewarnaan Gram.	39
Gambar 17 Uji kebutuhan oksigen.....	41
Gambar 18 Fermentasi karbohidrat.....	41
Gambar 19 Uji indol.....	44
Gambar 20 Uji urease.....	45
Gambar 21 Uji Motilitas.	46
Gambar 22 Uji <i>Simmons citrate</i>	47
Gambar 23. Diagram Alir Identifikasi	48
Gambar 24. Scanning mikrograp elektron <i>Veillonella</i> sp.	49
Gambar 25. Scanning mikrograp elektron <i>Shigella</i> sp.....	50
Gambar 26. Scanning mikrograp elektron <i>Yersinia</i> sp.	51
Gambar 27. Kurva tumbuh bakteri endofit	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Alat yang digunakan di lapangan.....	20
Tabel 2 Alat yang digunakan di laboratorium.....	20
Tabel 3 Bahan yang digunakan di laboratorium	21
Tabel 4 Komposisi media pertumbuhan Zobell.....	24
Tabel 5 Parameter lingkungan perairan	30
Tabel 6 Hasil Isolasi Bakteri Endofit dari Rumput Laut <i>H. macroloba</i>	34
Tabel 7. Karakteristik bakteri endofit.....	36
Tabel 8. Laju pertumbuhan bakteri endofit.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Karakterisasi morfologi dan biokimia.....	70
Lampiran 2 Bentuk Makroskopis Bakteri	72
Lampiran 3 Komposisi Media yang Digunakan dalam Penelitian.....	73
Lampiran 4 Hasil Laju pertumbuhan	75
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	84

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pulau Maspari memiliki beragam biota seperti mangrove, rumput laut dan sebagainya. Rumput laut di Pulau Maspari memiliki beragam jenis dan memiliki banyak potensi. Rumput laut merupakan salah satu obat tradisional yang pertama kali di pakai oleh kekaisaran cina. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh rumput laut bisa dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan obat. Beberapa rumput laut dilaporkan dapat dijadikan sebagai antimikroba, antioksidan, antibiotik, anti-inflamasi, antiproliferatif, antikoagulan, dan antitumor (Paul and Fenical, 1984; Ellouali *et al.* 1993; Dhargalkar and Neelam, 2005; Chanda *et al.* 2010; Boopathy and Kathiresan, 2011; Bour *et al.* 2013; Mhadhebi *et al.* 2014; Cunha and Grenha, 2016).

Salah satu rumput laut yang berpotensi adalah *H. macroloba* sebagai penghasil senyawa bioaktif. *H. macroloba* salah satu rumput laut dari *Chloropyta* yang banyak potensi di dalamnya dan sedikit dieksplorasi. Penelitian Dzeha *et al.* (2003) menemukan bahwa *H. macroloba* menghasilkan senyawa *triterpenoid* yaitu *clionasterol*. Kendala dalam mengeksplorasi dan eksploitasi senyawa bioaktif dari rumput laut adalah terbatasnya produksi di alam. Solusi yang bisa dilakukan untuk mengeksplorasi senyawa bioaktif dari rumput laut adalah bakteri endofit.

Rumput laut mampu berasosiasi di jaringan dalam yaitu salah satunya dengan bakteri endofit yang menghasilkan senyawa bioaktif mirip inangnya. Asosiasi antara rumput laut dan bakteri telah lama dipelajari, interaksi yang terjadi antara bakteri dan rumput laut telah dilakukan selama 40 tahun terakhir. Potensi bakteri endofit rumput laut sebagai penghasil senyawa bioaktif telah lama dipelajari dan memiliki berbagai potensi seperti antimikroba, antibiotik dan anti-*fouling* (Hollants *et al.* 2011; Janakidevi *et al.* 2013; Ibrahim *et al.* 2015; Rozirwan *et al.* 2015). Pada penelitian Kusdiyantini *et al.* (2015) menyimpulkan bahwa isolat bakteri yang paling potensi menghasilkan senyawa antibakteri diperoleh dari rumput laut spesies *H. macroloba*.

Salah satu tempat yang banyak tumbuh *H. macroloba* adalah Pulau Maspari. Informasi yang sedikit dan terbatas tentang rumput laut dari Pulau

Maspari menjadi menarik untuk dikaji dan dilakukan penelitian. *H. macroloba* merupakan rumput laut yang kaya akan senyawa bioaktif tetapi agar tidak terjadi ekplorasi berlebihan dilakukan penelitian tentang bakteri endofit asosiasi *H. macroloba*.

1.2 Rumusan Masalah

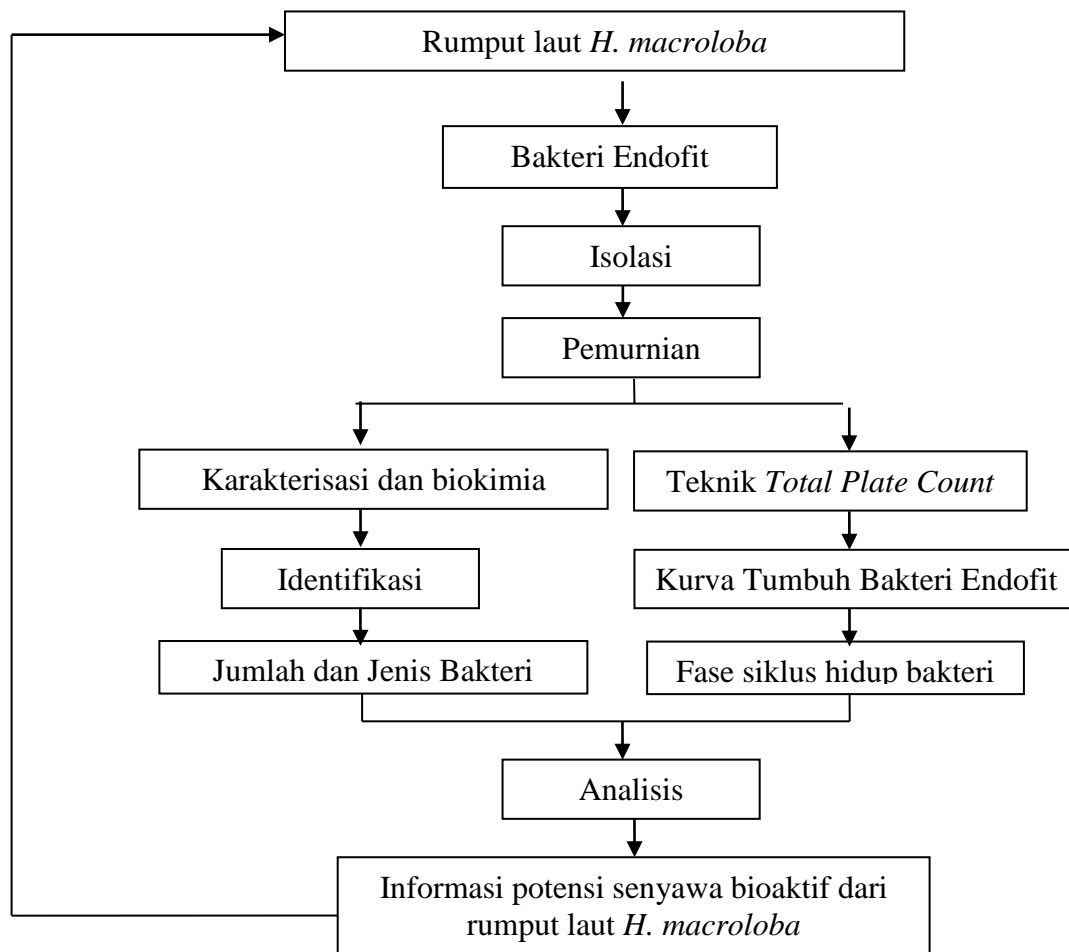
Rumput laut di Pulau Maspari belum dimanfaatkan karena sedikitnya informasi mengenai senyawa bioaktif di pulau tersebut. Rumput laut menghasilkan senyawa bioaktif yang bisa digunakan manusia sebagai bahan obat (Paul and Fenical, 1984). Salah satu rumput laut yang memiliki potensi yaitu *H. macroloba*.

Oleh karena itu asosiasi rumput laut dengan bakteri endofit menjadi penelitian penting karena bakteri endofit juga menghasilkan senyawa bioaktif seperti inangnya bahkan lebih baik (Janakidevi *et al.* 2013). Bakteri endofit tersebut dilakukan isolasi dan identifikasi, didapatkan hasil jumlah dan laju pertumbuhan bakteri tersebut. Bakteri tersebut di analisis secara deskriptif untuk mengetahui potensi senyawa bioaktif.

Senyawa bioaktif diketahui bahwa dapat dijadikan bahan obat. Penemuan bahan obat dari bakteri endofit asosiasi rumput laut *H. macroloba* ini penting karena menurut Bour *et al.* (2013) bahwa penyakit patogenik semakin kebal terhadap berbagai obat. Secara sistematis diagram alir perumusan masalah dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan uraian hal-hal diatas dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian adalah:

1. Apa saja jenis-jenis bakteri endofit dari rumput laut *H. macroloba* ?
2. Bagaimana laju pertumbuhan bakteri dan waktu generasi endofit dari spesies rumput laut *Halimeda macroloba* ?



Gambar 1 Diagram alir rumusan masalah

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut;

1. Mendapatkan isolat bakteri endofit dari rumput laut spesies *H. macroloba*.
2. Mengidentifikasi dan menganalisis bakteri endofit yang diisolat dari rumput laut spesies *H. macroloba*.
3. Menganalisis laju pertumbuhan setiap isolat bakteri endofit

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi penelitian dengan topik yang sama dan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi jumlah isolat, jenis-jenis bakteri endofit dan laju pertumbuhan tiap isolat bakteri endofit dari rumput laut spesies *H. macroloba*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, J. D., and Shannon, R. 1958. A method for typing *Shigella sonnei*, using colicine production as a marker. *Journal of Clinical Pathology*, 11(1), 71-77.
- Abubakar, H., Wahyudi, A. T., dan Yuhana, M. 2012. Skrining bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. sebagai penghasil senyawa antimikroba. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 16(1), 35-40.
- Ain N., Ruswahyuni dan Widyorini N. 2014. Hubungan kepadatan rumput laut dengan substrat dasar berbeda di Perairan Pantai Bandengan, Jepara. *Diponegoro Journal Of Maquares*. 3(1) : 99-107.
- Akerlund, T., Nordström, K., and Bernander, R. 1995. Analysis of cell size and DNA content in exponentially growing and stationary-phase batch cultures of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 177(23), 6791-6797.
- Amedei, A., Niccolai, E., Marino, L., and D'Elis, M. M. 2011. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 5(09), 628-639.
- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, and Water Environment Federation. 1992. *Standard methods for the examination of water and wastewater* (Vol. 18). American Public Health Association.
- Anggara, B. S., and Yuliani, L. L. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil hormon indole acetic acid dari akar tanaman ubi jalar. *Jurnal Mahasiswa Teknologi Pendidikan*, 3(3).
- Antriana N. 2014. Isolasi bakteri asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.). *Jurnal Saintifika*. 16(1) : 18 – 28. ISSN : 2502-2768.
- Arfah, H., dan Patty, S. I. 2014. Biodiversity and biomass of macroalgae in Kotania Bay Waters, West Seram. *Jurnal Ilmiah Platax*, 2(2), 63 – 73.
- Aslan, L.M. 2005. *Budidaya Rumput Laut*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Ashley. 2015. Carbohydrate Fermentation. <https://www.studyblue.com/notes/note/n/lab-test/deck/15755162>. [3 Februari 2017].
- Alves, M. S., da Silva Dias, R. C., de Castro, A. C. D., Riley, L. W., and Moreira, B.M. 2006. Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp. *Journal of clinical microbiology*, 44(10), 3640-3646.

- Bergey, D. H., Robert Earle Buchanan, and N. E. Gibbons. 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology eight edition*. Baltimore: Williams and Wilkins Co.
- Benner, G. E., Andrews, G. P., Byrne, W. R., Strachan, S. D., Sample, A. K., Heath, D. G., and Friedlander, A. M. 1999. Immune response to *Yersinia* outer proteins and other *Yersinia pestis* antigens after experimental plague infection in mice. *Infection and immunity*, 67(4), 1922-1928.
- Benson H.J. 2002. *Microbiological Applications A Laboratory Manual in General Microbiology 8th Edition*. The McGraw-Hill Companies.
- Black. J.G. 2008. *Microbiology: Principles and Explorations. 8th edition*. John Wiley Sons, Inc. Toronto : Arlington, Virginia.
- Boopathy, N.S., and Kathiresan, K. 2011. Anticancer drugs from marine flora: an overview. *Journal of oncology*, 2010.
- Bour M.E., Ali A.I.B. and Ktari L. 2013. Seaweeds Epibionts: Biodiversity and Potential Bioactivities. *Journal Formate*.
- Brewer, J. H. 1940. Clear liquid mediums for the aerobic cultivation of anaerobes. *Journal of the American Medical Association*, 115(8), 598-600.
- Bryn K., Ulstrup J.C., and Strmer F.C. 1973. Effect of acetate upon the formation of acetoin in klebsiella and enterobacter and its possible practical application in a rapid Voges-Proskauer Test. *Journal Applied Microbiology*. 25(3) : 511-512.
- Buck, J. D. 1982. Nonstaining (KOH) method for determination of gram reactions of marine bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(4), 992-993.
- Button, D. K., Schut, F., Quang, P., Martin, R., and Robertson, B. R. 1993. Viability and isolation of marine bacteria by dilution culture: theory, procedures, and initial results. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(3), 881-891.
- Caboni, M., Pédrón, T., Rossi, O., Goulding, D., Pickard, D., Citiulo, F. and Sansonetti, P. J. 2015. An O antigen capsule modulates bacterial pathogenesis in *Shigella sonnei*. *PLoS Pathog*, 11(3), e1004749.
- Cappuccino J.G and Sherman N. 2014. *Kurva Pertumbuhan. Microbiology : A Laboratory Manual*. Penerjemah : Nur M. Jakarta : EGC.
- Chanda, S., Dave, R., Kaneria, M., and Nagani, K. 2010. Seaweeds: a novel, untapped source of drugs from sea to combat infectious diseases. *Current*

research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology, 1, 473-480.

- Chellaram, C., Sreenivasan, S., Anand, T. P., Kumaran, S., Kesavan, D. and Priya, G. 2011. Antagonistic bacteria from live corals, Tuticorin coastal waters, Southeastern India. *Pak. J. Pharm. Sci*, 24(2), 175-181.
- Chellaram C., Subarnavathi S., and Raja P. 2016. Antibiotic Activity In Epibiotic Bacteria Of Seaweed, *Caulerpa Scalpelliformis*, Southeastern India. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology* 2(3) ISSN: 2321-9009.
- Chen, T. H., and Elberg, S. S. 1977. Scanning electron microscopic study of virulent *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* type 1. *Infection and immunity*, 15(3), 972-977.
- Coppejans, E., Prathep, A., Leliaert, F., Lewmanomont, K., and De Clerck, O. 2010. *Seaweeds of Mu Ko Tha Lae Thai (SE Thailand): methodologies and field guide to the dominant species (Vol. 11)*. Biodiversity Research and Training Program (BRT).
- Cunha, L., and Grenha, A. 2016. Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. *Marine drugs*, 14(3), 42.
- Clarke, P. H., and Cowan, S. T. 1952. Biochemical methods for bacteriology. *Microbiology*, 6(1-2), 187-197.
- Clifton, K. E., and Clifton, L. M. 1999. The phenology of sexual reproduction by green algae (Bryopsidales) on Caribbean coral reefs. *Journal of Phycology*, 35(1), 24-34.
- Cowan and Steel's .1993. *Manual for the identification of medical bacteria third edition edited*. Press Syndicate Of The University Of Cambridge. ISBN 0521 32611
- Darmayasa I. B. G. 2008. Isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi lipid (lemak) pada beberapa tempat pembuangan limbah dan estuari dam Denpasar. *Jurnal Bumi Lestari*, 8 (2) : 122-127
- Dash C., Payyappilli R.J., 2016 KOH string and Vancomycin susceptibility test as an alternative method to Gram staining. *Journal of International Medicine and Dentistry*. 3(2): 88-90.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas staphylococcus aureus terhadap amoxicillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (pe) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31.

- Dhargalkar, V. K., and Pereira, N. 2005. Seaweed: promising plant of the millennium. *Science and Culture*. 71 : 3-4
- Durham, H. E. 1898. A simple method for demonstrating the production of gas by bacteria. *British medical journal*, 1(1952), 1387.
- Dzeha, T., Jaspars, M., and Tabudravu, J. 2003. Clionasterol, a triterpenoid from the Kenyan marine green macroalga *Halimeda macroloba*. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*, 2(2), 157-161.
- Egan S., Tilmann H., Catherine B., Peter S., Staffan K. and Torsten T. 2013. The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiol Rev* 37 : 462–476
- Erlania dan Radiarta I.N. 2015. Distribusi rumput laut alam berdasarkan karakteristik dasar perairan di kawasan rata-rata terumbu Labuhanbua, Nusa Tenggara Barat: strategi pengelolaan untuk pengembangan budidaya. *Jurnal Riset Akuakultur* Volume 10 Nomor 3.
- Ellouali, M. O. S. T. A. F. A., Boisson-Vidal, C., Durand, P., and Jozefonvicz, J. 1993. Antitumor activity of low molecular weight fucans extracted from brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Anticancer Research*, 13(6), 2011-2020.
- Fajri, M. A., Agustien, A., dan Periadnadi, P. 2015. Isolasi, karakterisasi dan potensi bakteri endofitik dari tanaman zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) sebagai penghasil antibiotika. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(2).
- Fay, G. D. and Barry, A. 1974. Methods for detecting carbohydrate fermentation by gram-negative nonsporeforming anaerobes. *Applied microbiology*, 27(3), 603.
- Ferguson, W. W., and Henderson, N. D. 1947. Description of strain C27: a motile organism with the major antigen of *Shigella sonnei* phase I. *Journal of bacteriology*, 54(2), 179.
- Galimand, M., Guiyoule, A., Gerbaud, G., Rasoamanana, B., Chanteau, S., Carniel, E., and Courvalin, P. 1997. Multidrug resistance in *Yersinia pestis* mediated by a transferable plasmid. *New England Journal of Medicine*, 337(10), 677-681.
- Gronow, S., Welnitz, S., Lapidus, A., Nolan, M., Ivanova, N., Del Rio, T. G., and Cheng, J. F. 2010. Complete genome sequence of *Veillonella parvula* type strain (Te3 T). *Standards in genomic sciences*, 2(1), 57.
- GBIF. 2016. Classification *V. parvula*. <http://www.gbif.org/species/102702379/classification>. [7 Juni 2017].

- Govindasamy, C., Narayani, C. G. S., Arulpriya, M., Ruban, P., Anantharaj, K. and Srinivasan, R. 2011. In vitro antimicrobial activities of seaweed extracts against human pathogens. *Journal of Pharmacy Research* Vol,4 (7),2076-2077.
- Gray, W. M., and Johnson, M. G. 1976. Characteristics of bacteria isolated by the anaerobic roll-tube method from cheeses and ground beef. *Applied and environmental microbiology*, 31(2), 268-273.
- Gupta, R. M., Kale, P. S., and Rathi, M. L. 2015. Isolation, characterization and identification of endophytic bacteria by 16S rRNA partial sequencing technique from roots and leaves of *Prosopis cineraria* plant. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(6):36-43.
- Funahashi, S. 1973. Distribution of marine algae in the Japan Sea, with reference to the phytogeographical positions of Vladivostok and Noto Peninsula districts. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University. Series 5, Botany*, 10(1), 1-31.
- Hagström, A., Ammerman, J. W., Henrichs, S., and Azam, F. 1984. Bacterioplankton growth in seawater: II. Organic matter utilization during steady-state growth in seawater cultures. *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 18(1), 41-48.
- Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W.F. and Kloepper J.W. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crop. *Can. Journal Microbial.* 43: 895-914.
- Halvorson, H. O. and Ziegler, N. R. 1935. Application of statistics to problems in bacteriology: iv. Experimental comparison of the dilution method, the plate count, and the direct count for the determination of bacterial populations. *Journal of bacteriology*, 29(6), 609.
- Hemraj V., Diksha S. and Avneet G. 2013. A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare Journal of Life Science*. Vol 1, Issue 1.
- Hidayatun N., Susilowati D.N. dan Mulya K. 2011. Identifikasi Isolat Bakteri Endofitik dan Filosfer Padi dengan Analisis Sekuen 16S rDNA. *Berita Biologi* 10(4)
- Hollants J., Leroux O., Leliaert F., Decleyre H., De Clerck O., and Willems A. 2011. "Who is in there? Exploration of endophytic bacteria within the siphonous green seaweed *Bryopsis* (Bryopsidales, Chlorophyta). *PLoS One* 6(10): e26458.
- Hollants J., Leliaert F., Clerck O.D. Willems A. 2013. What we can learn from sushi: a review on seaweed–bacterial association. *FEMS Microbiol Ecol* 83 : 1–16.

- Hucker, G. J., and Conn, H. J. 1923. *Methods of Gram staining*. New York Agricultur Technical Bulletin N0. 93
- Hugenholtz, J. 1993. Citrate metabolism in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 165-178.
- Hurtado-Ponce, A. Q., Luhan, M. R., and Guanzon Jr, N. G. 1992. *Seaweeds of Panay*. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Ibrahim, H. A., Beltagy, E. A., El-Din, N. G. S., El Zokm, G. M., El-Sikaily, A. M., and Abu-Elela, G. M. 2015. Seaweeds agarophytes and associated epiphytic bacteria along Alexandria coastline, Egypt, with emphasis on the evaluation and extraction of agar and agarose. *Revista de biología marina y oceanografía*, 50(3), 545-561.
- Isnaini, Surbakti, H., dan Aryawati, R. 2014. Komposisi dan kelimpahan fitoplankton di perairan sekitar Pulau Maspari, Ogan Komering Ilir. *Maspari Journal*, 6(1), 39-45.
- ITIS. 1996. *Halimeda macroloba* **Decaisne**. <https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt#null>. [3 Februari 2017].
- Janakidevi, V., YokeshBabuM, U. R., and Kumarguru, A. 2013. Antagonistic activity of seaweed associated bacteria against human pathogens. *Int J Cur Micobiol App Sci*, 2, 140-147.
- Johnson M. 2002. Indole Test. <http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/376-Introduce.htm> [3 Februari 2017].
- Judianti, O. W., Fiqri, M. M., Ansyori-KM, M. K., dan Trimulyono, G. 2016. Aktivitas antibakteri isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons *Demospongiae* dari pantai Paciran Lamongan. *Sains dan Matematika*, 2(2).
- Kabanova, N., Stulova, I. and Vilu. 2012. Microcalorimetric study of the growth of bacterial colonies of *Lactococcus lactis* IL1403 in agar gels. *Food microbiology*, 29(1), 67-79.
- Kadi, A. 2015. Karakteristik makro algae berzat kapur di perairan Tanjung Sira Lombok-Barat. *Biosfera*, 32(1), 51-58.
- Kara, D., Luppens, S. B., Van Marle, J., Özok, R., and Jacob, M. 2007. Microstructural differences between single-species and dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Veillonella parvula*, before and after exposure to chlorhexidine. *FEMS microbiology letters*, 271(1), 90-97.

- Karsten, U., Wiencke, C. and KIRST, G. O. 1991. The effect of salinity changes upon the physiology of eulittoral green macroalgae from antarctica and southern chile: ii intracellular inorganic ions and organic compounds. *Journal of experimental botany*, 42(12), 1533-1539.
- Keudell, K., Conte, M., Fujimoto, L., Ernest, M., and Berry, H. G. 1976. Microorganisms isolated from pulp chambers. *Journal of endodontics*, 2(5), 146-148.
- Khamid, M. A., and Mulasari, S. A. 2013. Identifikasi bakteri aerob pada lindi hasil sampah dapur di Dusun Sukunan Yogyakarta. *Jurnal Kesehatan Masyarakat. Journal of Public Health*, 6(1).
- Komala, P. S., Helard, D. and Delimas, D. 2012. Identifikasi mikroba anaerob dominan pada pengolahan limbah cair pabrik karet dengan sistem Multi Soil Layering (MSL). *Jurnal Teknik Lingkungan UNAND*, 9(1), 74-88.
- Koomnok, C., Teaumroong, N., Rerkasem, B., and Lumyong, S. 2007. Diazotroph endophytic bacteria in cultivated and wild rice in Thailand. *ScienceAsia*, 33, 429-435.
- Kovacs, N. 1928. Eine vereinfachte Methode zum Nachweis der Indolbildung durch Bakterien. *Z. ImmunForsch. exp. Ther.* 55, 311.
- Kusdiyantini E, Anto B., Rizky P.N. 2015. Bioprospeksi dan identifikasi molekuler bakteri yang berasosiasi dengan alga hijau sebagai penghasil senyawa antibakteri Prosiding KPSDA 1.1
- Kusmiati dan Amarila M. 2002 Aktivitas bakteriosin dari bakteri *Leuconostoc mesenteroides* pba1 pada berbagai media. *Jurnal Makara Kesehatan*, Vol. 6, No. 1.
- Lapointe, B. E. 1997. Nutrient thresholds for bottom-up control of macroalgal blooms and coral reefs. *Limnol. Oceanogr*, 44, 1586-1592.
- Lee, S. D. 2008. *Agrococcus jejuensis* sp. nov., isolated from dried seaweed. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58(10), 2297-2300.
- Leibo, R., Mantiri, D. dan Gerung, G. 2016. Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak total alga hijau *Halimeda opuntia* linnaeus dan *Halimeda macroloba* decaisne dari perairan teluk totok. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 2(1), 30-36.
- Loesche, W. J. 1969. Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria. *Applied microbiology*, 18(5), 723-727.

- Lombard, G. L., and Dowell, V. R. 1983. Comparison of three reagents for detecting indole production by anaerobic bacteria in microtest systems. *Journal of clinical microbiology*, 18(3), 609-613.
- Lumantouw S. F., Febby E. K., Sendy B R., dan Marina F.O.S. 2013. isolasi dan identifikasi bakteri yang toleran terhadap fungisida mankozeb pada lahan pertanian tomat di Desa Tempok, Kecamatan Tompaso, Sulawesi Utara. *Jurnal Bios Logos*. 3 (2)
- Marianingsih P., Amelia E., Suroto T. 2013. Inventarisasi dan identifikasi makroalga di perairan Pulau Untung Jawa. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Mayakun, J., Kimb, J. H., Lapointec, B. E., and Prathepa, A. 2012. The effects of herbivore exclusion and nutrient enrichment on growth and reproduction of *Halimeda macroloba*. *ScienceAsia*, 38, 227-234.
- Mayakun, J., Bunruk, P., and Kongsang, R. 2014. Growth rate and calcium carbonate accumulation of *Halimeda macroloba* Decaisne (Chlorophyta: Halimedaceae) in Thai waters. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 36, 419-423.
- McDade, J. J., and Weaver, R. H. 1959. Rapid methods for the detection of carbohydrate fermentation. *Journal of bacteriology*, 77(1), 65.
- Medical Image*. 2017. Scanning micrograf of *Shigella sonnei*. <https://www.medicalimages.com/stock-photo-scanning-electron-micrograph-of-shigella-sonnei-a-gram-negative-nonmotile-facultatively-image9923967.html>. [15 Juni 2017)
- Mhadhebi, L., Mhadhebi, A., Robert, J., and Bouraoui, A. 2014. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative effects of aqueous extracts of three mediterranean brown seaweeds of the genus *Cystoseira*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 207-220.
- Minnerath J.M., Roland J.M., Rossi L.C., Weishalla S.R. and Wolf M.M. 2009. A comparison of heat versus methanol fixation for gram staining bacteria. *Journal Department of Biology*. Volume 35(2).
- Mizuno, S., Ajisaka, T., Lahbib, S., Kokubu, Y., Alabsi, M. N., and Komatsu, T. 2014. Spatial distributions of floating seaweeds in the East China Sea from late winter to early spring. *Journal of applied phycology*, 26(2), 1159-1167.
- Mobley, H. L., and Hausinger, R. P. 1989. Microbial ureases: significance, regulation, and molecular characterization. *Microbiological reviews*, 53(1), 85-108.

- Mudge, C. S. 1917. The effect of sterilization upon sugars in culture media. *Journal of bacteriology*, 2(4), 403.
- Narisawa, N., Haruta, S., Arai, H., Ishii, M., and Igarashi, Y. 2008. Coexistence of antibiotic-producing and antibiotic-sensitive bacteria in biofilms is mediated by resistant bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 74(12), 3887-3894.
- NCBL. 2017. Classification *Shigella sonnei*. <http://eol.org/pages/972662/names>. [13 Juni 2017].
- Nguyen M.T., 2006. The effect of temperature on the growth of the bacteria *Escherichia coli* DH5 α . *Biology Journal*. Vol 1
- Nonci, M., Baharuddin, B., Rasyid, B., and Pirman, P. 2015. Seleksi bakteri methanotrof (pereduksi emisi gas metan di lahan sawah) berdasarkan aktivitas enzim methan monooksigenase. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 13(2), 87-91.
- Nossal, N. G., and Heppel, L. A. 1966. The release of enzymes by osmotic shock from *Escherichia coli* in exponential phase. *Journal of Biological Chemistry*, 241(13), 3055-3062.
- Nursanty R. dan Suhartono. 2012. Isolasi, karakterisasi dan uji antimikroba bakteri endofit asal tumbuhan johar (*Cassia siamea Lamk.*) *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 4 (1) : 7-10.
- Nuria M.C., Abdur R., dan Sumantri. 2009. Uji kandungan bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang dari depot air minum isi ulang di Kabupaten Rembang. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 5 (1) : 27 – 35.
- Paul, V. J., and Fenical, W. 1984. Novel bioactive diterpenoid metabolites from tropical marine algae of the genus *Halimeda* (Chlorophyta). *Tetrahedron*, 40(16), 3053-3062.
- Pelczar, M. J. R. C. Bard G., W. Burnett H., J. Conn, R. D., DeMoss E. E. Evans, F. A. Weiss, M. W. Jennison, A. P. McKee, A. J. Riker, J. Warren, and O. B. Weeks. 1957. *Manual of microbiological methods*-By The Society American Bacteriologists Committee On Bacteriological Technic. Mcgraw-Hill Book Company, Inc.
- Pelczar, M. J. dan ECS Chan. 2006. Dasar-dasar mikrobiologi. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Pranoto E., Gilang F. dan Hingdri. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit pada tanaman teh (*Camellia Sinensis (L.) O. Kuntze*) produktif dan belum menghasilkan klon GMB 7 dataran tinggi. *Jurnal Biospecies* 7 (1): 1-7.

- Public Health England*. 2015. *Urease Test*. UK Standards for Microbiology Investigations. Issued by the Standards Unit, Microbiology Services, PHE Bacteriology – Test Procedures.
- Pujiyanto, S., Sunarno, S. and Widayarsi. 2015. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil inhibitor α -glukosidase dari tanaman pare (*Momordica Charantia L*). *Prosiding SNST Fakultas Teknik*, 1(1).
- Pustelny, C., Komor, U., Pawar, V., Lorenz, A., Bielecka, A., Moter, A. and Lünsdorf, H. 2015. Contribution of *Veillonella parvula* to *Pseudomonas aeruginosa*-mediated pathogenicity in a murine tumor model system. *Infection and immunity*, 83(1), 417-429.
- Rafii, F., Franklin, W., and Cerniglia, C. E. 1990. Azoreductase activity of anaerobic bacteria isolated from human intestinal microflora. *Applied and environmental microbiology*, 56(7), 2146-2151.
- Ravikumar, S., Gnanadesigan, M., Suganthi, P., and Ramalakshmi, A. 2010. Antibacterial potential of chosen mangrove plants against isolated urinary tract infectious bacterial pathogens. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3), 94-99.
- Raza E.M.U., Ketut S. dan Hapsari M. 2012. Beban cemaran bakteri *Escherichia coli* pada daging asap se'i babi yang dipasarkan di Kota Kupang. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(4) : 453 – 470. ISSN : 2301-7848
- Retnowati Y., Bialangi N. dan Posangi N.W. 2011. Pertumbuhan bakteri staphylococcus aureus pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*andrographis paniculata*). *Jurnal Saintek*, 6 (2)
- Robbins, G. B., and Lewis, K. H. 1940. Fermentation of sugar acids by bacteria. *Journal of bacteriology*, 39(4), 399.
- Rogosa, M. 1956. A selective medium for the isolation and enumeration of the *Veillonella* from the oral cavity. *Journal of bacteriology*, 72(4), 533.
- Rogosa, M., Fitzgerald, R. J., MacKintosh, M. E., and Beaman, A. J. 1958. Improved medium for selective isolation of *Veillonella*. *Journal of bacteriology*, 76(4), 455.
- Rolfe, M. D., Rice, C. J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A. D. and Peck, M. W. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *Journal of bacteriology*, 194(3), 686-701.
- Rozirwan, Bengen D.G., Zamani N.P., Effendi dan H. Chaidir. 2015. Senyawa bioaktif bakteri simbiosis karang lunak *Sinularia flexibilis* dan *S. Polydactyla*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 6 (2).

- Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D. J. and Dowling D.N.2007. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett* 278 : 1–9
- Salle, A. J.1943. *Laboratory Manual On Fundamental Principles Of Bacteriology*. Mcgraw-Hill Book Company. Inc; New York; London.
- Saraswati, S. A., dan Darmasetiyawana, I. 2016. Identifikasi Bakteri pada Rumput Laut *Euchema spinosum* yang terserang penyakit Ice-ice di Perairan Pantai Kutuh. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*, 2(1), 11-15.
- Schroeder, G. N., and Hilbi, H. 2008. Molecular pathogenesis of *Shigella* spp.: controlling host cell signaling, invasion, and death by type III secretion. *Clinical microbiology reviews*, 21(1), 134-156.
- Schut, F., de Vries, E. J., Gottschal, J. C., Robertson, B. R., Harder, W., Prins, R. A., and Button, D. K. 1993. Isolation of typical marine bacteria by dilution culture: growth, maintenance, and characteristics of isolates under laboratory conditions. *Applied and environmental microbiology*, 59(7), 2150-2160.
- Setiawati, M. R., Suryatmana, P., Herdiyantoro, D., & Ilmiyati, Z. 2014. Karakteristik pertumbuhan dan waktu generasi isolat *Azotobacter* sp. dan bakteri endofitik asal ekosistem lahan sawah. *Jurnal Agroekoteknologi*, 6(1).
- Setyobudiandi I., Eddy S., luariah U., Bahtiar, dan Hari H. 2009. *Rumput laut Indonesia Upaya dan Jenis Pemanfaatannya*. Unhalu Press.
- Siddiquie M.D. And Ravi P.M. 2014. Age and gender wise distribution pattern of typhoid causing bacteria *Salmonella serovars* in Mahakaushal Region. *Journal of Pharmaceutical Research*. Volume 3, Issue 4, 1183 1203. ISSN 2277 – 7105
- Simmons, J. S. 1926. A culture medium for differentiating organisms of typhoid colon aerogenes groups and for isolation of certain fungi. *J. infect. Dis.* 39, 209
- Singh R.P. and C.R.K. Reddy 2014. Seaweed–microbial interactions: key functions of seaweed-associated bacteria. *FEMS Microbiol Ecol* 88 ; 213 230
- Singh R.P., Ravi S.B., C.R.K.Reddy and Bhavanath J. 2015.Effect of quorum sensing signals produced by seaweed-associated bacteria on carpospores liberation from *Gracilaria dura*. *Frontiersin Plant Science* Vol 6.
- Sinutok, S., Pongparadon, S., and Prathep, A. 2008. Seasonal variation in density, growth rate and calcium carbonate accumulation of *Halimeda macroloba*

Decaisne at Tangkhen Bay, Phuket Province, Thailand. *Malaysian Journal of Science*, 27(2), 1-8.

- Species 2000 and ITIS Catalogue of Life. 2013. Classification *Yersinia pestis*. <http://eol.org/pages/972652/names>. [15 Juni 2017]
- Stuart, C. A., Van Stratum, E., and Rustigian, R. 1945. Further studies on urease production by *Proteus* and related organisms. *Journal of bacteriology*, 49(5), 437.
- Sujoy B. and Aparna A., 2013. Potential clinical significance of urease enzyme. *European Scientific Journal*. vol.9, No.21 .
- Suriani, S., Soemarno, S., dan Suharjono, S. 2013. Pengaruh suhu dan ph terhadap laju pertumbuhan lima isolat bakteri anggota genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari ekosistem sungai tercemar deterjen di sekitar kampus Universitas Brawijaya. *Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari*, 4(1).
- Swinnen, I. A. M., Bernaerts, K., Dens, E. J., Geeraerd, A. H., and Van Impe, J. F. 2004. Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. *International journal of food microbiology*, 94(2), 137-159.
- Tampubolon A., Grevo S, Gerung dan Wagey B. 2013. Biodiversitas alga makro di lagun pulau pasige, kecamatan tagulandang, kabupaten sitaro. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Volume 2 Nomor 1.
- Tittsler, R. P., and Sandholzer, L. A. 1936. The use of semi-solid agar for the detection of bacterial motility. *Journal of Bacteriology*, 31(6), 575.
- Tulloch, W. J. 1939. Observations concerning bacillary food infection in Dundee during the period 1923–38. *Journal of Hygiene*, 39(03), 324-333.
- Wahyuni S., Lianto , dan Andi K. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri manolitikasal bonggol pohon sagu. *Jurnal Agroteknos*. Vol. 4 No. 3. Hal 174-179 ISSN: 2087-7706.
- Walpajri, F. dan Roza, R. M. 2014. Eksplorasi dan uji daya hambat bakteri endofit dari tanaman benalu sawo (*Helixanthera sp.*), benalu coklat (*Scurulla sp.*) dan benalu kopi (*Helixanthera sp.*) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 1(2),10.
- Walters, L. J., Smith, C. M., Coyer, J. A., Hunter, C. L., Beach, K. S., and Vroom, P. S. 2002. Asexual propagation in the coral reef macroalga *Halimeda* (Chlorophyta, Bryopsidales): production, dispersal and attachment of small fragments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 278(1), 47-65.

- Wiegel, J. and Quandt, L. 1982. Determination of the Gram type using the reaction between *polymyxin B* and *lipopolysaccharides* of the outer cell wall of whole bacteria. *Microbiology*, 128(10), 2261-2270.
- Yazdankhah S.P., Sørum H., Larsen H.J.S. and Gogstad G. 2001. Rapid method for detection of gram-positive and -negative bacteria in milk from cows with moderate or severe clinical mastitis. *Journal Of Clinical Microbiology*, Vol. 39, No. 9.
- Yoshie, Y., Wang, W., Hsieh, Y. dan Suzuki, T. 2002. Compositional difference of phenolic compounds between two seaweeds, *Halimeda* spp. *Journal of Tokyo University Fisheries*. 88: 21-24.
- Zulkifli, L., Jekti, D. S. D., Lestari, N., dan Rasmi, D. A. C. 2016. Isolasi bakteri endofit dari sea grass yang tumbuh di kawasan pantai pulau lombok dan potensinya sebagai sumber antimikroba terhadap bakteri patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 16(2).
- ZoBell, C. E. (1946). Marine microbiology. A monograph on hydrobacteriology. *Marine microbiology. A monograph on hydrobacteriology*.

Lampiran 1 Hasil Karakterisasi morfologi dan biokimia.

	Kode Isolat		
Karakterisasi Bakteri	HL2 P	HL2 SPK	HL2 K