

**POTENSI ANTIBAKTERI PADA BAKTERI ASOSIASI SPONS
DARI PULAU PANJANG, JEPARA, JAWA TENGAH
TERHADAP BAKTERI *Vibrio alginolyticus* PADA IKAN
KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

SKRIPSI

ERICK ARRASHY RUDIANTO

26020118140096



**PROGRAM STUDI AKUAKULTUR
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2022

**POTENSI ANTIBAKTERI PADA BAKTERI ASOSIASI SPONS
DARI PULAU PANJANG, JEPARA, JAWA TENGAH
TERHADAP BAKTERI *Vibrio alginolyticus* PADA IKAN
KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

ERICK ARRASHY RUDIANTO

26020118140096

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Derajat Sarjana S1 pada Departemen Akuakultur
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

**PROGRAM STUDI AKUAKULTUR
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul skripsi : Potensi Antibakteri pada Bakteri Asosiasi Spons dari Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Nama : Erick Arrashy Rudianto

Nomor Induk Mahasiswa : 26020118140096

Departemen/Program Studi : Akuakultur/S1 Akuakultur

Mengesahkan,

Pembimbing Utama



Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc.
NIP. 19620714 198703 1 003

Pembimbing Anggota



Dr. Ir. Desrina, M.Sc.
NIP. 19651215 199003 2 001

Dekan,
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro



Prof. Ir. Tri Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19650821 199001 2 001

Ketua,
Departemen Akuakultur



Dr. Ir. Desrina, M.Sc.
NIP. 19651215 199003 2 001

HALAMAN PENGESAHAN

Judul skripsi : Potensi Antibakteri pada Bakteri Asosiasi Spons dari Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Nama : Erick Arrashy Rudianto

Nomor Induk Mahasiswa : 26020118140096

Departemen/Program Studi : Akuakultur/S1 Akuakultur

Skripsi ini telah disidangkan di hadapan Tim Penguji pada:

Hari/tanggal : Kamis/15 Desember 2022

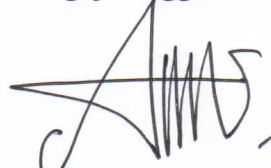
Tempat : Ruang Meeting C214

Penguji Utama



Prof. Dr. Ir. Sri Rejeki, M.Sc.
NIP. 19560307 198303 2 001

Penguji Anggota



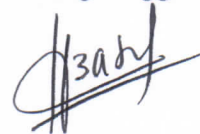
Rosa Amalia, S.Pi, M.Si.
NIP. 19911111 201903 2 028

Pembimbing Utama



Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc.
NIP. 19620714 198703 1 003

Pembimbing Anggota



Dr. Ir. Desrina, M.Sc.
NIP. 19651215 199003 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya, Erick Arrashy Rudianto, menyatakan bahwa karya ilmiah/skripsi yang berjudul Potensi Antibakteri pada Bakteri Asosiasi Spons dari Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) adalah asli karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar Kesarjanaan Strata Satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah/skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberi penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi karya ilmiah/skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, Desember 2022

Penulis,



Erick Arrashy Rudianto
NIM. 26020118140096

ABSTRAK

(Erick Arrashy Rudianto. 26020118140096. Potensi Antibakteri pada Bakteri Asosiasi Spons dari Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Sarjito dan Desrina).

Ikan kerapu merupakan komoditas unggulan budidaya laut Indonesia. Namun semenjak tahun 2018, terdapat kecenderungan penurunan produksi budidaya ikan kerapu di Indonesia. Salah satu penyebab dari penurunan produksi budidaya kerapu adalah penyakit vibriosis. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri patogenik *Vibrio* spp., salah satunya adalah *Vibrio alginolyticus*. Situasi ini semakin diperparah oleh munculnya resistensi antibiotik dalam fasilitas dan lingkungan akuakultur. Untuk menganggulangi permasalahan ini, diperlukan pencarian senyawa antibakteri baru. Spons adalah invertebrata laut yang dikenal dapat memproduksi banyak senyawa baru oleh mikroba simbiosis dan asosiasinya. Pulau Panjang memiliki beranekaragam invertebrata laut yang direfleksikan dari kondisi terumbu karangnya yang relatif baik. Oleh karena itu, studi ini bertujuan untuk mencari potensi antibakterial dari bakteri asosiasi spons di Pulau Panjang terhadap *V. alginolyticus* patogenik. Tiga spesimen spons dikoleksi, yang berkode PD, PE, dan PF, yaitu *Haliclona* sp., *Hippospongia* sp., dan *Gelliodes* sp. digunakan dalam studi ini. Spesimen ini kemudian diisolasi dalam media Zobell 2216E dan diinkubasi selama tiga hari. Diperoleh total limabelas isolat, dimana empat isolat menunjukkan aktivitas antibakterial dengan menggunakan metode *agar plug diffusion*, dengan satu isolat, yaitu PF3 menunjukkan aktivitas antibakterial terbaik. Isolat PF3 kemudian diidentifikasi secara molekuler dengan 16S rRNA. Hasilnya adalah isolat PF3 termasuk ke dalam spesies *Bacillus pumilus*. Hasil dalam studi ini menunjukkan potensi bakteri asosiasi spons yang dapat diaplikasikan untuk mencegah permasalahan penyakit dalam operasi akuakultur.

Kata Kunci: Aktivitas Antibakteri, Bakteri Asosiasi Spons, Ikan Kerapu, Pulau Panjang, Spons, Vibriosis, *V. alginolyticus*.

ABSTRACT

(Erick Arrashy Rudianto. 26020118140096. Antibacterial Potential of Sponge-Associated Bacteria from Panjang Island, Jepara, Central Java Against *Vibrio alginolyticus* in Brown-Marbled Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*). Sarjito and Desrina).

*Groupers are first-rate commodity in Indonesian mariculture. But, since 2018, there is a downward trend in Indonesian grouper aquaculture production. One of the main causes of reduction of grouper culture production is vibriosis. This disease is caused by *Vibrio* spp. bacteria, one of them is *V. alginolyticus*. This situation is more exacerbated by the emergence of antibiotic resistance in aquaculture facility and environment. To alleviate these problems, there is a need for the discovery of novel antibacterial compounds. Sponge is a marine invertebrate that is well-known to produce many novel compounds by its microbial symbionts and associate. Panjang Island has biodiversity in marine invertebrates, reflected by its relatively pristine coral reef condition. Therefore, this study aims to discover for antibacterial potential from sponge-associated bacteria in Panjang Island against pathogenic *V. alginolyticus*. Three sponge specimens were collected, coded by PD, PE, and PF, which are *Haliclona* sp., *Hippospongia* sp., and *Gelliodes* sp. respectively, were used in this particular study. These specimens then isolated in Zobell 2216E medium and incubated for three days. Total of fiveteen isolates were obtained, where four of them showed antibacterial activity using agar plug diffusion method, with one isolate, PF3 showed the best activity. PF3 isolate then was identified molecularly using 16S rRNA. The result was PF3 is belonged to *Bacillus pumilus*. These findings in this study showed the potential of sponge-associated bacteria that can be applied to prevent disease problems in aquaculture operations.*

Keywords: *Antibacterial Activity, Groupers, Panjang Island., Sponges, Sponge-Associated Bacteria, Vibriosis, *V. alginolyticus*.*

KATA PENGANTAR

Segala puji saya panjatkan kepada Allah Tabaraka wa Ta'ala atas Rahmat dan kasih sayangNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Potensi Antibakteri pada Bakteri Asosiasi Spons dari Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)”. Telah banyak pihak yang telah berkontribusi dan memberi dukungan pada penyusunan skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc. sebagai dosen pembimbing utama dan yang membiayai serta menjadi supervisor penelitian ini,
2. Ir. Desrina, M.Sc, Ph.D. sebagai dosen pembimbing anggota dan kepala program studi Akuakultur,
3. Rosa Amalia, S.Pi, M.Si. sebagai supervisor lapangan penelitian ini dan membimbing saya dengan sabar dalam mengerjakan penelitian, Dr. Aninditia Sabdaningsih, S.Si., M.Sc. yang menyarankan metode *agar plug diffusion* dalam penelitian ini dan membantu dalam identifikasi spons, dan Agus Trianto, S.T., M.Sc., Ph.D. sebagai *diver* dalam sampling spesimen spons dan membantu dalam proses identifikasi spons; dan
4. Kedua orang tua dan adik saya yang tercinta, dan tim penelitian yaitu Melenia Putri Alsa, Amelia Rahmawati, dan Dion Saputra.

Saya rasa masih banyak pihak lain yang belum disebutkan satu persatu yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi dan penelitian ini. Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga kritik dan saran yang konstruktif diharapkan untuk memperbaiki segala kekurangan dalam penyusunan skripsi ini.

Semarang, Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
1.5 Waktu dan Tempat	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Vibrio alginolyticus</i> pada Ikan Kerapu.....	5
2.1.1 Gejala Klinis Vibriosis pada Ikan Kerapu	5
2.1.2 Karakteristik Patogen	7
2.2 Spons (Porifera).....	8
2.2.1 Bakteri Asosiasi Spons.....	12
2.2.2 Potensi Antimikroba pada Spons dan Mikroba Asosiasinya	17
III. MATERI DAN METODE	18
3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat	18
3.1.2 Bahan.....	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.2.1 Sampling Spons.....	21
3.2.2 Identifikasi Spons.....	22
3.2.3 Isolasi dan Purifikasi	23
3.2.4 Uji Aktivitas Antibakteri Metode <i>Agar Plug Diffusion</i>	24
3.2.5 Identifikasi Molekuler.....	25
a. Ekstraksi DNA.....	26

b.	Amplifikasi	27
c.	Visualisasi/ <i>Electrophoresis</i>	27
d.	DNA <i>Sequencing</i> dan Analisis Filogenetik	27
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1	Hasil.....	28
4.1.1	Hasil Sampling	28
4.1.2	Hasil Isolasi.....	29
4.1.3	Hasil Uji Antimikrobal <i>Agar Plug Diffusion</i>	30
4.1.4	Identifikasi Molekuler	31
4.2	Pembahasan	35
4.2.1	Identifikasi Spons.....	35
4.2.2	Isolasi Bakteri Asosiasi Spons	37
4.2.3	Metode <i>Agar Plug Diffusion</i>	39
4.2.4	Identifikasi Molekuler	40
4.2.5	Potensi Antibakteri Bakteri Asosiasi Spons Terhadap <i>V. alginolyticus</i>	42
V.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1	Kesimpulan.....	46
5.2	Saran	46
	DAFTAR PUSTAKA	47
	LAMPIRAN.....	63
	RIWAYAT HIDUP.....	65

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini.....	18
Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini.	20
Tabel 3. Daftar isolat bakteri asosiasi spons yang diisolasi dari spesimen spons PD, PE, dan PF.....	29
Tabel 4. Hasil uji <i>agar plug diffusion</i> bakteri asosiasi spons terhadap patogen akuakultur <i>V.alginolyticus</i>	30
Tabel 5. Hasil uji nanodrop untuk kuantifikasi konsentrasi dan kualitas DNA PF3.	31
Tabel 6. Hasil BLAST dari sekuens isolat PF3.....	34

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Gejala vibriosis pada induk *E. coioides* berupa lesi kulit *haemorrhagic* pada bagian dorsal. Sumber : Nagasawa dan Cruz-Lacierda (2004). 7
- Gambar 2. Skema representatif spons. Panah mengindikasikan arah aliran air melalui spons. Sumber: Taylor *et al.* (2007)..... 10
- Gambar 3. Mikrosimbion cyanobacteria *Oscillatoria spongelia* (Cy) dalam spons *Dysedia tupha* (SEM, $\times 1160$). Sumber: Vos *et al.* (1991)..... 13
- Gambar 4. Bakteri (B) dalam *mesohyl* spons *Xestospongia muta* (SEM, $\times 3250$). Sumber: Vos *et al.* (1991). 13
- Gambar 5. Gambar *transmission electron microscopy* (TEM) dari berbagai spesies spons HMA. A = *Aplysina aerophoba*, B = *Sphaciospongia vesparium*, C = *Aiolochoira crassa*, D = *Petrosia sp.*, E = *Xestospongia testudinaria*, F = *Plakortis lita*, G = *Agelas dispar*, H = *Ircinia felix*, I = *Svenzea zeai*. Bar skala, 2 μm ; b, bakteri; n, nukleus; sc, sel spons. Sumber: Gloeckner *et al.* (2014)..... 15
- Gambar 6. Gambar *transmission electron microscopy* (TEM) dari berbagai spesies spons LMA. A = *Erylus formosus*, B = *Monanchora arbuscula*, C = *Scopalina ruetzleri*, D = *Amphimedon ochracea*, E = *Axinella cannabina*, F = *Acanthella acuta*. Bar skala 2 μm ; b, bakteri; n, nukleus; sc, sel spons. Sumber: Gloeckner *et al.* (2014) 16
- Gambar 7. Peta lokasi sampling di perairan Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah..... 22
- Gambar 8. Berbagai spesimen spons yang dikoleksi: (A) spesimen PD, (B) spesimen PE, (D) spesimen PF. Potongan spesimen spons yang dikoleksi: (D) spesimen PD, (E) spesimen PE, (F) spesimen PF. 28
- Gambar 9. *Spicule* dari spesimen spons yang dikoleksi: (A) spesimen PD, (B dan C) spesimen PE, dan (D) spesimen PF. Keterangan: OxC = *megascleres oxea* berjenis *curved*, OxH = *megascleres oxea* berjenis *hastate*, ty = *megascleres tylote*, dan s = *microscleres sigma*..... 29
- Gambar 10. Hasil isolasi bakteri asosiasi spons. (A) hasil isolasi spesimen spons PD pada pengenceran 10^{-3} , (B) hasil isolasi spesimen spons PD pada pengenceran 10^{-4} , (C) hasil isolasi spesimen spons PE pada pengenceran 10^{-3} , (D) hasil isolasi spesimen spons PF pada pengenceran 10^{-3} , dan (E) hasil isolasi spesimen spons PF pada pengenceran 10^{-4} 30
- Gambar 11. Aktivitas antibakterial isolat bakteri asosiasi spons terhadap *V. alginolyticus* pada ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*). (A) isolat PF1 dan PF2 menunjukkan aktivitas antibakterial yang ditandai oleh adanya zona inhibisi pada tanda panah, dan (B) isolat PF3 dan PF4 menunjukkan aktivitas antibakterial yang ditandai oleh adanya zona inhibisi pada tanda panah. 31
- Gambar 12. Hasil elektroforesis. Lane: (1) DNA ladder, (2) PF3 dengan adanya band berukuran 1.500 bp..... 32
- Gambar 13. *Electropherogram primer 27F* isolat PF3. 33

Gambar 14. <i>Electropherogram primer</i> 1429R isolat PF3.....	33
Gambar 15. Hasil BLAST isolat PF3.....	33
Gambar 16. Pohon filogenetik sekuens isolat PF3 dengan spesies genus <i>Bacillus</i> lainnya, dan spesies yang masuk kedalam phylum Firmicutes yaitu <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus roterodami</i> dan <i>Clostridium botulinum</i> sebagai <i>in-group</i> dan <i>Halobacterium salinarum</i> sebagai <i>out-group</i> menggunakan <i>neighbor-joining method</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Spesifikasi isolat bakteri <i>V. alginolyticus</i> yang diperoleh di BBPBAP Jepara.....	64
--	----