

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ASOSIASI SPONS  
*Clathria* sp. TERHADAP PENYAKIT VIBRIOSIS PADA IKAN KAKAP  
PUTIH (*L. calcarifer*) SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh :

**MELENIA PUTRI ALSA**

**26020118140073**



**DEPARTEMEN AKUAKULTUR  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2022**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI BAKTERI ASOSIASI SPONS  
*Clathria* sp. TERHADAP PENYAKIT VIBRIOSIS PADA IKAN KAKAP  
PUTIH (*L. calcarifer*) SECARA IN VITRO**

Oleh :  
**MELENIA PUTRI ALSA**  
**26020118140073**

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

**DEPARTEMEN AKUAKULTUR  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
2022**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi  
Spons *Clathria* sp. Terhadap Penyakit  
Vibriosis Pada Ikan Kakap Putih (*L.  
calcarifer*) Secara In Vitro

Nama Mahasiswa : Melenia Putri Alsa  
Nomor Induk Mahasiswa : 26020118140073  
Departemen/Program Studi : Akuakultur

Mengesahkan,

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Anggota



Prof. Dr. Ir. Slamet Budi P. M.Sc.  
NIP. 19550628 198103 1 005

Dekan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Diponegoro



Wiparni Agustini, M.Sc., Ph.D.  
NIP. 19651215 199003 2 001

Ketua  
Departemen Akuakultur



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

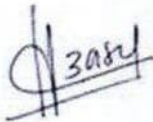
## HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi :Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi  
Spons *Clathria* sp. Terhadap Penyakit  
Vibriosis Pada Ikan Kakap Putih (*L.  
calcarifer*) Secara In Vitro

Nama Mahasiswa : Melenia Putri Alsa  
Nomor Induk Mahasiswa : 26020118140073  
Departemen/Program Studi : Akuakultur

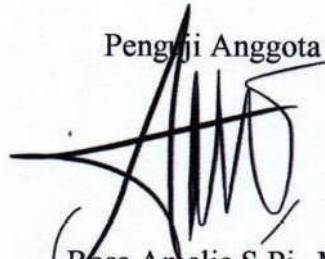
Skripsi ini telah disidangkan dihadapan Tim Penguji pada:  
Hari, tanggal : Rabu, 24 Agustus 2022  
Tempat : Ruang Meeting C214

Penguji Utama



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



Prof. Dr. Ir. Slamet Budi P. M.Sc.  
NIP. 19550628 198103 1 005

Ketua  
Program Studi Akuakultur



Dr. Ir. Desrina, M.Sc.  
NIP. 196512151990032001

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini, saya Melenia Putri Alsa, karya ilmiah/skripsi ini 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.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah/skripsi ini berasal dari karya orang lain baik yang telah dipublikasi atau tidak, telah diberikan penghargaan dan mengutip narasumber penulis secara benar dan semua ini dari karya ilmiah/skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis. Penelitian ini didanai oleh LPPM Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia melalui skema Riset Publikasi Internasional (RPI) dengan nomor kontrak: 705-01/UN7.6.1/PP/2021.

Semarang, 14 September 2022  
Penulis



Melenia Putri Alsa  
26020118144073

## RINGKASAN

**Melenia Putri Alsa. 26020118140073.** Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi Spons *Clathria* sp. Terhadap Penyakit Vibriosis Pada Ikan Kakap Putih (*L. calcarifer*) Secara In Vitro (**Sarjito dan Slamet Budi Prayitno**)

Budidaya ikan kakap putih (*L. calcarifer*) merupakan komoditas perikanan di Indonesia yang diminati dalam negeri maupun luar negeri. Secara intensif permintaan ikan kakap putih (*L. calcarifer*) sangat meningkat, namun menyebabkan ikan kakap putih (*L. calcarifer*) rentan terhadap penyakit. Salah satu penyakit yang menyerang ikan kakap putih yaitu Vibriosis. Vibriosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Vibrio* sp. yang merugikan bagi budidaya akuakultur. Vibriosis merupakan penyakit yang umum menyerang ikan kakap putih (*L. calcarifer*) dan menyebabkan kematian pada ikan kakap putih (*L. calcarifer*) hingga 50% dalam tahap pertumbuhan. Penyakit vibriosis dapat menimbulkan kematian mencapai 100% pada stadia larva atau juvenil.

Upaya pengobatan untuk mengatasi serangan bakteri vibriosis dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik dapat menghasilkan dampak negatif yaitu bakteri patogen menjadi resisten. Oleh karena itu, diperlukan bahan antimikroba yang lebih ramah lingkungan. Salah satunya yang berasal dari bahan hayati seperti spons, yang diduga mengandung senyawa bioaktif yang bersifat antibakterial. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh senyawa antibakterial dari bakteri asosiasi spons yang mampu melawan bakteri patogen ikan kakap putih (*L. calcarifer*). Penelitian ini menggunakan metode eksploratif, dengan cara mengeksplorasi spons dan ikan kakap putih (*L. calcarifer*). Pengumpulan data terdiri dari gejala klinis, isolasi sumber bakteri patogen, purifikasi spons *Clathria* sp., uji aktivitas antibakteri dan identifikasi molekuler.

Jenis spons yang digunakan hasil koleksi dari laboratorium Tropical Marine Biotechnology, yang ditemukan di Tulamben, Bali. Bakteri spons *Clathria* sp. yang berasosiasi memiliki berbagai senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antibakteri. Salah satunya aktivitas antibakteri pada ikan kakap putih (*L. calcarifer*). Spons *Clathria* sp. yang memiliki potensi menghambat atau membunuh bakteri patogen ikan kakap putih (*L. calcarifer*) akan diidentifikasi dan diuji menggunakan agar plug.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 3 bakteri asosiasi spons *Clathria* sp. berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hasil molekuler spons *Clathria* sp. dengan kode B9.2B memiliki kemiripan dengan *Bacillus paramycooides* sebesar 99,57%; B9.3C memiliki kemiripan dengan *Virgibacillus salarius* sebesar 99,83%, B9.4A memiliki kemiripan dengan *Virgibacillus* sp sebesar 99,14%. Sumber bakteri patogen dengan kode GK.9C memiliki kemiripan dengan *V. harveyi* sebesar 97,15%.

**Kata Kunci** : Antibakteri; Asosiasi; *L. calcarifer*; Spons; *V. harveyi*.

## SUMMARY

**Melenia Putri Alsa. 26020118140073. Antibacterial Activity Bacteria Associated Sponge *Clathria* sp. Against Vibriosis Barramundi (*L. calcarifer*) In Vitro (Sarjito dan Slamet Budi Prayitno)**

*Cultivation of barramundi (*L. calcarifer*) is a fishery commodity in Indonesia that is in demand both domestically and abroad. The demand for barramundi (*L. calcarifer*) is increasing, but it causes barramundi (*L. calcarifer*) to be susceptible to disease. One of the diseases that attack barramundi (*L. calcarifer*) is vibriosis. Vibriosis is a disease caused by *Vibrio* sp. detrimental to aquaculture. Vibriosis is a common disease that attacks barramundi (*L. calcarifer*) and causes death in barramundi (*L. calcarifer*) up to 50% of the growth stage. Vibriosis can cause death in up to 100% of the larvae or juvenile stages.*

*Treatment efforts to overcome the attack of vibriosis bacteria This can be done using antibiotics. However, the use of antibiotics can have a negative impact, namely when pathogenic bacteria become resistant. Therefore, antimicrobial materials that are more environmentally friendly are needed. One of them comes from biological materials such as sponges, which are thought to contain bioactive compounds that are antibacterial. The purpose of this study was to obtain antibacterial compounds from sponge-associated bacteria that were able to fight pathogenic bacteria of barramundi (*L. calcarifer*). This study uses an exploratory method, by exploring sponges and barramundi (*L. calcarifer*). Data collection consisted of clinical symptoms, isolation of the source of pathogenic bacteria, purification of *Clathria* sp. sponges, antibacterial activity tests, and molecular identification.*

*The type of sponge used is the result of a collection from a Laboratory Tropical Marine Biotechnology, which was found in Tulamben, Bali. Sponge *Clathria* sp. the associated compounds have various secondary metabolites that have antibacterial activity. One of them is the antibacterial activity of barramundi (*L. calcarifer*). Those that have the potential to inhibit or kill pathogenic bacteria of barramundi (*L. calcarifer*) will be identified and tested using an agar plug.*

*The results showed that the 3 sponge association bacteria *Clathria* sp. potentially inhibit the growth of pathogenic bacteria. Molecular results of the sponge *Clathria* sp. code B9.2B show 99.57% similarity to *Bacillus paramycoides*, B9.3C show 99.83% similarity to *Virgibacillus salarius*, and B9.4A show 99.14% similarity to *Virgibacillus* sp. The source of pathogenic bacteria with code GK.9C had a similarity to *V. harveyi* by 97.15%.*

**Keyword :** *Antibacterial; Associated; *L. calcarifer*; Sponge; *V. harveyi**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Asosiasi Spons *Clathria* sp. Terhadap Penyakit Vibriosis Pada Ikan Kakap Putih (*L. calcarifer*) Secara In Vitro” dapat terselesaikan dengan baik. Dalam kesempatan ini penulismengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc., dan Prof. Dr. Ir. Slamet Budi Prayitno, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing yang telah membantu dan membimbing penyusunan skripsi;
  2. Rosa Amalia, S.Pi.M.Si., yang telah membantu dan membimbing selama penelitian;
  3. Orang tua (Alm Alimin dan Sulastri), kakak kandung (Doni Andrian dan Dekhi Arman) serta partner penelitian bakteri (Erick Arrashy Rudianto dan Amelia Rahmawati), teman dikala sedih dan senang (Alya Elok Fatina, Nur Hidayah dan Widya Ayu Budisiwi).
  4. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan ini
- Penyusun menyadari bahwa dalam penulisan karya tulis/skripsi ataupun dalam proses penelitian ini masih terdapat banyak kekurangan, oleh sebab ini penulis memohon maaf dan semoga karya tulis/skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat luas.

Semarang, 14 Sepetmber 2022

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH</b> .....	<b>v</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat .....	5
1.5 Waktu dan Tempat.....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ).....	6
2.1.1 Klasifikasi Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	6
2.1.2 Gejala Klinis Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	7
2.2 Spons <i>Clathria</i> sp.....	8
2.2.1 Klasifikasi Spons <i>Clathria</i> sp.....	8
2.2.2 Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp .....	9
2.2.3 Potensi Antibakteri pada Spons <i>Clathria</i> sp.....	9
2.3 Penyakit Vibriosis.....	10
2.3.1 <i>V. harveyi</i> .....	10
2.3.2 <i>V. parahaemolyticus</i> .....	10
2.3.3 <i>V. alginolyticus</i> .....	11
2.3.4 <i>V. vulnificus</i> .....	11
<b>III. MATERI DAN METODE</b> .....	<b>12</b>
3.1 Hipotesis.....	12
3.2 Materi .....	12
3.2.2 Alat Penelitian .....	12
3.2.3 Bahan Penelitian .....	14
3.3 Metode.....	14
3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	15

3.3.2 Sumber Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp.....	15
3.3.3 Sumber Bakteri Patogen .....	15
3.3.4 Pembuatan Media .....	16
3.3.5 Purifikasi Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp. ....	17
3.3.6 Isolasi dan Purifikasi Sumber Bakteri Patogen.....	17
3.3.7 Karakterisasi Morfologi Isolat.....	18
3.4 Uji Aktivitas Antibakteri.....	18
3.4.1 Metode Agar Plug Diffusion.....	19
3.5 Identifikasi Molekuler .....	20
3.5.1 Ekstraksi DNA.....	20
3.5.2 Konsentrasi dan Kemurnian DNA.....	21
3.5.3 Amplifikasi PCR 16S rRNA.....	21
3.5.4 Elektroforesis .....	22
3.5.5 Sequencing DNA .....	22
3.5.6 Analisis Sequencing DNA.....	22
3.5.7 Filogenetika Molekuler.....	23
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
4.1 Hasil .....	24
4.1.1 Gejala Klinis Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	24
4.1.2 Isolasi dan Purifikasi Sumber Bakteri Patogen.....	24
4.1.3 Purifikasi Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp.....	26
4.1.4 Uji Aktivitas Antibakteri.....	27
4.1.5 Identifikasi Molekuler .....	28
4.1.6 Sequencing DNA .....	31
4.1.7 Pohon Filogenetik .....	34
4.2 Pembahasan.....	36
4.2.1 Gejala Klinis Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	36
4.2.2 Isolasi dan Purifikasi Sumber Bakteri Patogen.....	37
4.2.3 Purifikasi Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp.....	38
4.2.4 Uji Aktivitas Antibakteri.....	39
4.2.5 Identifikasi Molekuler .....	40
4.2.6 Pohon Filogenetik .....	46
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>48</b>
5.1 Kesimpulan .....	48
5.2 Saran .....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>49</b>
<b>L A M P I R A N.....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sumber Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp. ....	15
Tabel 2. Karakteristik Isolat Bakteri Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	25
Tabel 3. Karakteristik Isolat Bakteri Asosiasi Spons <i>Clathria</i> sp .....	27
Tabel 4. Hasil Aktivitas Antibakteri Asosiasi Spons Terhadap Bakteri Patogen Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	28
Tabel 5. Kuantitas Konsentrasi DNA dari Isolat yang Diekstraksi Dengan Pengujian Nanodrop .....	29
Tabel 6. Hasil Urutan Basa Nukleotida Bakteri GK.9C .....	32
Tabel 7. Hasil Urutan Basa Nukleotida Bakteri B9.2B .....	32
Tabel 8. Hasil Urutan Basa Nukleotida Bakteri B9.3C .....	33
Tabel 9. Hasil Urutan Basa Nukleotida Bakteri B9.4A .....	33
Tabel 10. Analisis Homologi 16S rRNA BLAST pada Bakteri .....	34

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	6
Gambar 2. Spons <i>Clathria</i> sp .....	8
Gambar 3. Gejala Klinis Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) pada bagian ekor terlihat geripis dan berenang tidak seimbang .....	24
Gambar 4. Isolasi Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	25
Gambar 5. Purifikasi Sumber Bakteri Patogen GK.9C .....	26
Gambar 6. Isolat B9.2B Hasil Purifikasi .....	27
Gambar 7. Kemampuan Bakteriostatik Asosiasi Spons Terhadap Bakteri Patogen Ikan Kakap Putih ( <i>L. calcarifer</i> ) .....	28
Gambar 8. Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan PCR 16 rRNA dari Isolat GK.9C .....	29
Gambar 9. Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan PCR 16 rRNA dari Isolat B9.2B .....	30
Gambar 10. Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan PCR 16 rRNA dari Isolat B9.3C .....	30
Gambar 11. Hasil Amplifikasi DNA Menggunakan PCR 16 rRNA dari Isolat B9.4A .....	31
Gambar 12. Hasil Konstruksi Pohon Filogenetik Asosiasi Bakteri Spons <i>Clathria</i> sp. Terhadap Bakteri Patogen .....	35
Gambar 13. Kontruksi Pohon Filogenetik Bakteri Patogen.....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Cara Pembuatan Media .....	61
Lampiran 2. Protokol <i>Chelex 100</i> .....	63
Lampiran 3. Komposisi <i>Master Mix</i> PCR .....	64
Lampiran 4. Pembuatan Agarose .....	64