

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri memiliki peranan penting dalam degradasi bahan organik, penanggulangan pencemaran, penghasil bahan aktif (metabolit sekunder) untuk keperluan industri makanan, industri farmasi dan kosmetik. Bakteri pendegradasi bahan organik (BO) umumnya berasal dari kelompok bakteri heterotrof yang berperan dalam penguraian senyawa organik kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana Madigan *et al.*(2018). Beberapa genus bakteri yang umum berperan sebagai pendegradasi BO di lingkungan laut antara lain *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alteromonas*, dan *Vibrio* Atlas & Bartha,(1998). Bakteri-bakteri ini menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease, amilase, dan lipase yang mendukung proses dekomposisi dan daur ulang nutrisi di perairan laut (Azam & Malfatti, 2007).

Bakteri hidrokarbonoklastik memiliki peran penting dalam proses biodegradasi pencemar minyak. Jenis bakteri seperti *Alcanivorax borkumensis*, *Pseudomonas*, *Marinobacter*, *Rhodococcus*, dan *Halomonas* mampu memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai sumber energi Head *et al.*(2006). Aktivitas bakteri ini menjadi dasar penerapan bioremediasi sebagai metode alami untuk menurunkan tingkat pencemaran minyak di lingkungan laut. Bakteri berperan dalam mereduksi dan mendetoksifikasi logam berat di lingkungan perairan. Beberapa bakteri seperti *Shewanella*, *Geobacter*, *Desulfovibrio*, dan *Pseudomonas* diketahui mampu mereduksi logam berat seperti besi (Fe), mangan (Mn), merkuri (Hg), timbal (Pb), dan kadmium (Cd) melalui mekanisme biosorpsi, pengendapan logam, serta transformasi kimia menjadi bentuk yang kurang toksik (Lovley *et al.*, 2004; Gadd, 2010).

Pencemaran plastik di laut mendorong penelitian terhadap bakteri yang mampu mendegradasi plastik dan mikroplastik. *Ideonella sakaiensis* dilaporkan mampu mendegradasi plastik jenis PET melalui enzim PETase dan MHETase, sementara genus *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, dan *Rhodococcus* juga menunjukkan potensi serupa Yoshida *et al.*(2016). Potensi bakteri pendegradasi plastik ini menjadi alternatif solusi biologis terhadap akumulasi sampah plastik di ekosistem laut. Bakteri laut juga dikenal sebagai penghasil metabolit sekunder bernilai tinggi, seperti antibiotik, senyawa antimikroba, enzim industri, biosurfaktan, pigmen, dan antioksidan. Genus *Streptomyces*, *Bacillus*, *Pseudoalteromonas*, dan *Halomonas* dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dimanfaatkan dalam farmasi, kosmetik, dan pangan (Fenical & Jensen, 2006).

distribusi bakteri laut sangat dipengaruhi oleh parameter lingkungan. Bakteri sensitif terhadap perubahan kondisi fisik dan kimia seperti suhu, salinitas, oksigen terlarut (DO), pH, dan nutrisi. Faktor-faktor ini sangat penting dalam menentukan kelimpahan, keanekaragaman, serta aktivitas



metabolik bakteri laut. Suhu memengaruhi laju pertumbuhan dan aktivitas enzimatik bakteri, sedangkan salinitas menentukan komposisi bakteri yang umumnya bersifat halofilik atau halotoleran Madigan *et al.*(2018). Oksigen terlarut memengaruhi dominasi bakteri aerob atau anaerob, sementara pH berpengaruh terhadap stabilitas enzim dan pertumbuhan bakteri, yang umumnya optimal pada pH netral hingga sedikit basa. Selain itu, ketersediaan nutrisi seperti nitrogen dan fosfor menentukan produktivitas dan aktivitas bakteri heterotrof di perairan laut. Secara keseluruhan, parameter kualitas air berperan penting dalam mengatur fungsi ekologis bakteri laut dan keseimbangan ekosistem perairan (Tortora *et al.*, 2021).

Di lingkungan laut bakteri menempati berbagai habitat, termasuk yang berasosiasi dengan organisme baik hewan maupun tumbuhan. Interaksi asosiasinya mutualisme, komensalisme, parasitisme atau sebagai agen penyakit. Asosiasi bakteri dengan biota laut dilaporkan oleh Massinai (2016) bahwa pada *Acropora branching* disolasi sebanyak 8 sampel didapatkan 3 jenis bakteri yaitu *Cromobacterium sp*, *Pseudomonas sp* dan *Staphylococcus sp*. Hovda *et al.*(2007) mengisolasi bakteri asosiasi dari saluran pencernaan ikan laut Atlantic cod (*Gadus morhua*), yang didominasi oleh *Vibrio spp.*, *Photobacterium spp.*, dan *Shewanella spp*. Ringo *et al.*(2006) melaporkan bakteri asosiasi pada usus ikan laut Atlantic salmon, antara lain *Lactobacillus spp.*, *Carnobacterium spp.*, *Pseudomonas spp.*, dan *Vibrio spp*. Sugita *et al.*(1998) mengisolasi bakteri asosiasi dari ikan laut Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), yang meliputi *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, dan *Bacillus spp*. Karthick & Mohanraju mengisolasi bakteri asosiasi beberapa jenis rumput laut *Gracilaria corticata* (9 isolat), *Ulva lactuca* (14 isolat), *Caulerpa microphysa* (6 isolat), *Sargassum swartzii* (14 isolat), *Turbinaria ornata* (7 isolat). Penelitian sebelumnya mengenai bakteri asosiasi pada rumput laut *kappaphycus sp*. dilaporkan oleh Arisandy *et al.*(2018) mengisolasi bakteri asosiasi dari rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang dibudidayakan di perairan Sulawesi Selatan dan memperoleh 12 isolat bakteri yang didominasi oleh genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Vibrio*. Lestari *et al.*(2017) melaporkan bakteri asosiasi pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berasal dari perairan Lombok, dengan total 10 isolat bakteri yang terdiri atas *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, dan *Micrococcus spp*. Suryati *et al.*(2019) mengisolasi bakteri epifit yang berasosiasi dengan *Kappaphycus striatus* dan mendapatkan 15 isolat bakteri, yang sebagian besar termasuk dalam kelompok *Bacillus spp.* dan *Pseudomonas spp.* yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri.

Rumput laut memiliki hubungan yang erat dengan kehidupan bakteri di perairan karena rumput laut menyediakan habitat yang stabil dan kaya nutrisi, karena organisme ini mensekresikan berbagai senyawa organik seperti karbohidrat dan asam amino yang dapat dimanfaatkan bakteri untuk berkembang. Komunitas bakteri yang hidup berasosiasi dengan rumput laut memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan bakteri yang hidup bebas di perairan laut. Kondisi ini menjadikan rumput laut sebagai objek yang menarik untuk diteliti mengenai keanekaragaman dan dinamika bakteri laut Egan *et al.*



(2013). Interaksi antara rumput laut dan bakteri umumnya bersifat simbiotik. Bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut dapat memberikan manfaat bagi inangnya, seperti membantu sintesis vitamin, melindungi rumput laut dari mikroorganisme patogen melalui produksi senyawa antibakteri, serta berperan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan rumput laut. Sebaliknya, rumput laut menyediakan tempat hidup dan sumber nutrisi yang mendukung kelangsungan hidup bakteri. Hubungan timbal balik ini menunjukkan bahwa rumput laut bukan hanya substrat pasif, melainkan organisme aktif dalam interaksi biologis dengan bakteri Singh & Reddy (2014).

Bakteri ektosimbion merupakan bakteri hidup dan berasosiasi pada permukaan luar inang, seperti permukaan tubuh, lapisan lendir, atau jaringan luar organisme. Pada organisme laut, bakteri ektosimbion umumnya ditemukan pada permukaan rumput laut, karang, dan kulit ikan. Keberadaan bakteri ini dapat memberikan manfaat bagi inang, antara lain melalui perlindungan terhadap mikroorganisme patogen dengan mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi serta produksi senyawa antibakteri. Pada rumput laut, bakteri ektosimbion berperan dalam pertahanan kimia dan menjaga keseimbangan komunitas mikroba permukaan Egan *et al.*(2013). Bakteri endosimbion adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan atau sel inang, seperti pada saluran pencernaan, jaringan internal, atau ruang antar sel. Hubungan endosimbiosis umumnya bersifat mutualisme, di mana bakteri memperoleh nutrisi dan lingkungan yang stabil, sementara inang memperoleh manfaat berupa bantuan pencernaan, sintesis vitamin, serta perlindungan terhadap patogen. Pada organisme laut, bakteri endosimbion ditemukan pada usus ikan, jaringan rumput laut, dan invertebrata laut, serta berperan penting dalam metabolisme dan kesehatan inang (Rosenberg *et al.*, 2007).

Lokasi penelitian berada di Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, yang merupakan salah satu kawasan penghasil rumput laut di wilayah Indonesia bagian timur. Aktivitas budidaya rumput laut di lokasi ini telah berlangsung dalam jangka waktu yang cukup lama dan dilakukan secara intensif. Namun informasi mengenai bakteri yang berasosiasi dengan rumput laut di perairan tersebut masih sangat terbatas, khususnya penelitian komunitas bakteri pada musim hujan dan musim kemarau. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan judul "*Isolasi Bakteri Asosiasi Rumput Laut (Kappaphycus sp.) pada Musim Hujan dan Musim Kemarau di Perairan Kabupaten Takalar*".



inaan

in untuk:

ah bakteri asosiasi rumput laut (*Kappaphycus sp.*) yang airan Kabupaten Takalar pada musim hujan dan musim

2. Membandingkan jumlah bakteri antara musim hujan dan kemarau kemarau di perairan Kabupaten Takalar.
3. Mengetahui karakteristik morfologi koloni dan sel bakteri asosiasi yang diisolasi dari rumput laut (*Kappaphycus* sp.) pada musim hujan dan musim kemarau di perairan Kabupaten Takalar.

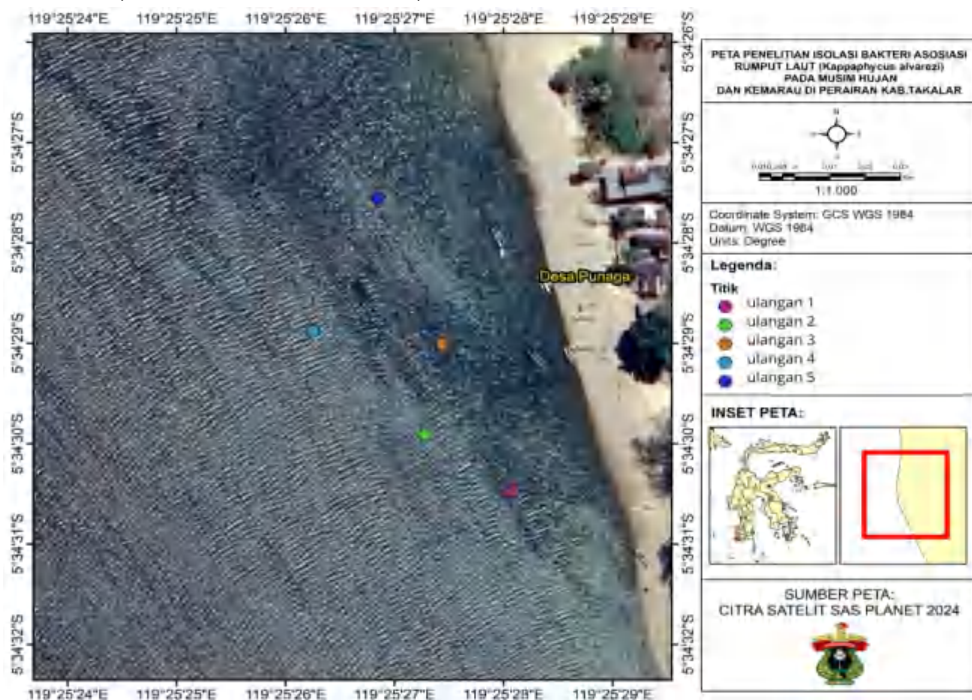
Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dasar dan referensi ilmiah bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan kajian bakteri asosiasi pada rumput laut dan peranannya dalam ekosistem laut.



BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2024 hingga Desember 2024. Pengambilan sampel rumput laut serta pengukuran parameter kualitas air dilakukan dalam dua periode yang berbeda, yaitu pada tanggal 29 September mewakili musim kemarau, serta pada tanggal 16 November 2024 yang mewakili musim hujan. Lokasi penelitian terletak di perairan Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan (**Gambar 1**). Parameter lingkungan yang di ukur secara *in situ*: suhu, salinitas, pH, DO, sedangkan parameter nitrat, fosfat, bahan organik total, di analisis secara *exsitu*. Analisis bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Laut, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel di Desa Punaga, Kabupaten Takalar



n bahan yang digunakan dalam penelitian ini baik untuk n maupun di laboratorium dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Alat-alat, tipe dan satuan yang digunakan di dalam penelitian

Nama Alat	Tipe Alat	Satuan	Kegunaan
Jarum Ose Bulat	Plastik	-	Pengambil Sampel Isolat
Botol Sampel	Plastik	-	Wadah Sampel Air
Plastik Sampel	Plastik	-	Sampel Sedimen
Cool Box	-	-	Wadah Penyimpanan Sampel
<i>Handrefractometer</i>			Pengukur Salinitas
Termometer			Pengukur Suhu
Hp	Elektronik	-	Pengambil Gambar
Gps	-	-	Penentu Titik Koordinat
Mikroskop	Olympus CX 22	-	Pengamat Objek Berukuran Mikro
Oven	Jumo	°C	Pensterilkan Alat Dan Bahan
Cawan Petri	Pyrex	-	Wadah Inokulasi Bakteri
Autoklaf	All American	-	Pensterilisasi alat Dan Bahan
Bunsen	-	-	Pensterilkan Secara Pijar
Gelas Ukur	Pyrex	ml	Wadah Untuk Mengukur
<i>Hot Plate With Strirrer</i>	Labinco	°C	Penghomogen Bahan
Inkubator	Imperial	°C	Penginkubasi Bakteri
Labu Semprot	-	-	Wadah Aquades Dan Alkohol
Mikropipet			Pengambilan Larutan
Ose	Plastik	-	Pengambil Sampel
Pipet Tetes	Plastik	-	Mengambil Larutan Dengan Ukuran Sedikit
Rak Tabung	Kayu	-	Penyimpan Tabung Reaksi
Objek Glass	Pyrex	-	Tempat Pewarnaan Bakteri
	-	-	Wadah Pengenceran Sampel
	-	-	Pengukur Beberapa Paramter



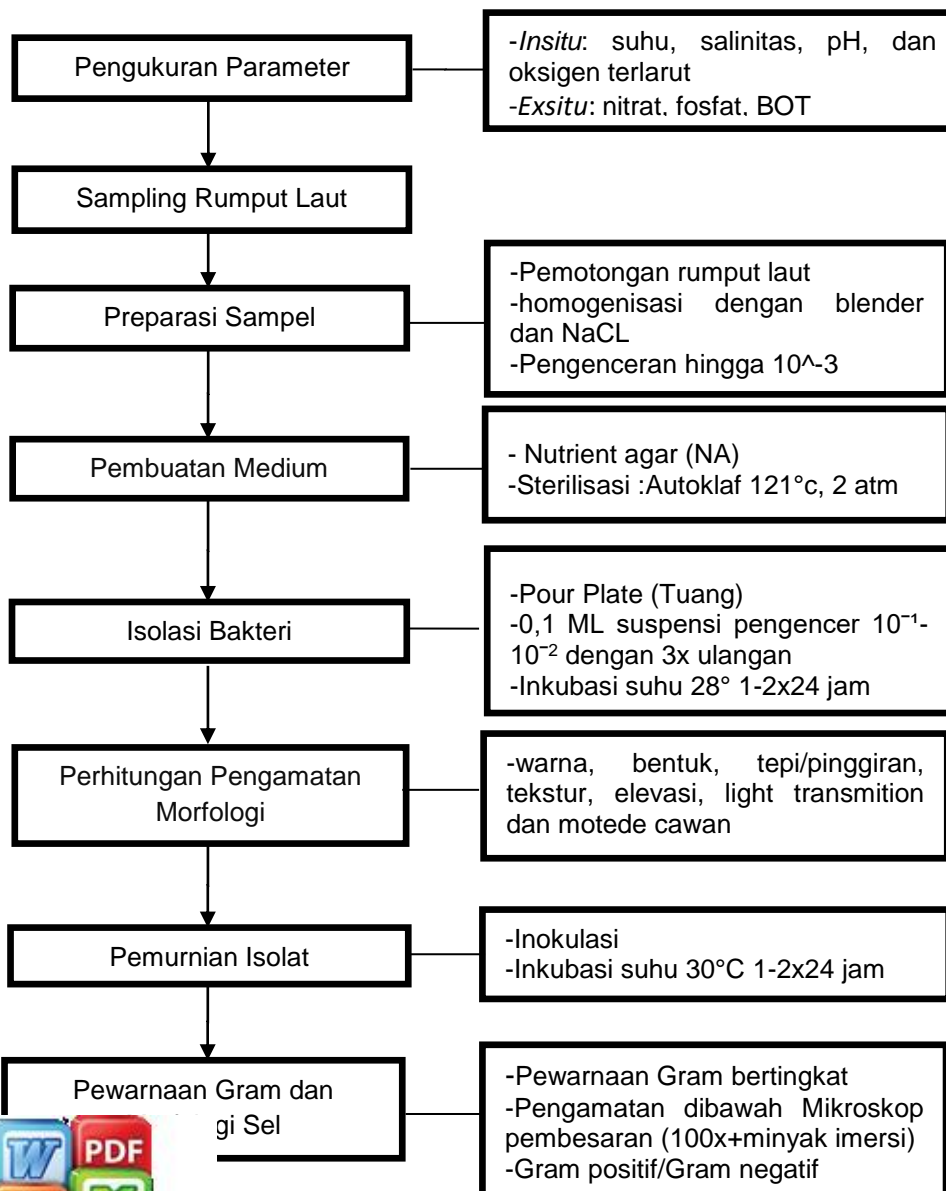
Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam Penelitian

No	Bahan	Kegunaan
1	Sampel rumput laut	Bahan uji
2	Batu es	Pengawet sampel
3	Tissue	Bahan lap
4	Aquades	Belarut
5	Kapas	Penutup tabung reaksi
6	Sarung Tangan	Pelindung tangan
7	Masker	Pelindung dari kontaminasi mikroba
8	Alkohol 70 %	Bahan desinfeksi dan sterilisasi
9	NaCl 0,9%	Bahan preparasi
10	Natrient agar (NA)	Media pertumbuhan bakteri
11	Alat tulis menulis	Pencatat hasil penelitian
12	Iodine	Pereaksi pewarnaan Gram (mordan)
13	Safranin	Pereaksi pewarnaan Gram
14	Kristal violet	Pereaksi pewarnaan Gram
15	Minyak imersi	Perjelas perbesaran objek yang diamati
16	Alkohol 96%	Pereaksi pewarnaan Gram (Dekolizer)
17	Plastik wrap	Pembungkus cawan petri
18	Kalium permanganat 0,01 N	Larutan pereaksi
19	Asam sulfat pekat	Larutan pereaksi
20	Natrium Oksalat 0,01 N	Larutan pereaksi
21	Larutan bruchine	Larutan pereaksi
22	Ascorbit PA	Larutan pereaksi
	septamolibat	Larutan pereaksi
	t	Larutan pereaksi
	foil	Penutup alat
	al	Penanda alat
		Penanda sampel



2.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yaitu: pengukuran parameter, pengambilan sampel, Analisis sampel di laboratorium.



2.3.1 Pengukuran parameter kualitas air

Semua peralatan yang digunakan dalam penelitian ini telah di kalibrasi berdasarkan standar kalibrasi dan sesuai prosedur oprasional masing masing alat.

a. Suhu, Salinitas dan pH

Pengukuran suhu, salinitas, pH menggunakan *Water Quality Tester*. Ketiga parameter tersebut dilakukan dengan probe dimasukkan ke dalam kolom air. Setelah nilai muncul di *display* dan stabil, nilai dicatat.

b. Oksigen Terlarut (DO)

Pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter, dilakukan dengan memasukkan probe ke dalam sampel air laut. ketika pada *display* muncul angka dan nilai tersebut konstan, dicatat

c. Nitrat (NO_3^-)

Kadar nitrat dianalisis menggunakan metode Brucine (SNI 06-2480-1991). Sebanyak 20-60 mL air sampel disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 tetes larutan brucine, diaduk, didiamkan selama 2-4 menit. Setelah itu ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat (H_2SO_4) dan didiamkan hingga larutan menjadi dingin. Konsentrasi nitrat kemudian diukur menggunakan spektrofotometer DREL 2800 pada panjang gelombang 410 nm.

d. Fosfat (PO_4^{3-})

Kadar fosfat dianalisis menggunakan metode molybdate (SNI 06-6989.31-2005). Sebanyak 50 mL air sampel disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42, kemudian 2 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 3 mL larutan pengoksidasi fosfat (campuran asam sulfat 2,5 M, asam askorbat, dan amonium molybdate) serta 2 mL asam borat, kemudian dihomogenkan. Larutan didiamkan selama 1 jam hingga reaksi sempurna, kemudian diukur menggunakan spektrofotometer DREL 2800 pada panjang gelombang 660 nm.

e. Bahan Organik Terlarut (BOT)

Pengukuran BOT menggunakan metode permanganat sebanyak 50 mL air sampel dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan 9,5 mL KMnO_4 0,01 N dan 10 mL nakan buret. larutan dipanaskan hingga mencapai suhu 80°C nit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 25°C . larutan ambahkan Na-oksalat 0,01 N secara perlahan hingga warna t (warna permanganat) hilang. selanjutnya dititrasi dengan ngga larutan berubah menjadi merah muda. Volume titran



Penentuan konsentrasi BOT menggunakan rumus SNI sebagai berikut:

$$BOT \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(Vb - Vs) \times N \times 1000}{V}$$

Keterangan:

Vb = Volume $KMnO_4$ untuk blanko (mL)

Vs = Volume $KMnO_4$ untuk sampel (mL)

N = Normalitas $KMnO_4$

V = Volume sampel air (mL)

1000 = Faktor konversi ke mg/L O_2

2.3.2 Pengambilan sampel rumput laut

Sampel rumput laut diambil pada musim hujan dan musim kemarau yang masa pemeliharannya 45 hari. Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil secara acak pada 5 (lima) bentangan yang berbeda masing-masing 500 gram *thallus* rumput laut dengan kondisi segar, yang terdapat luka atau bercak. Sampel untuk setiap bentangan disatukan, dimasukkan ke dalam plastik sampel, kemudian diletakkan dalam *cool box* yang berisi es batu. Pengukuran parameter kualitas air

2.3.3 Analisis Sampel di Laboratorium

Tahapan-tahapan analisis sampel di Laboratorium sebagai berikut:

a. Preparasi Sampel:

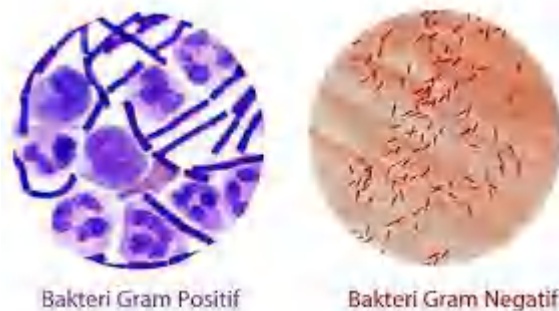
Sampel rumput laut yang telah dicuci menggunakan air laut steril, dipotong potong kecil. Diambil sebanyak 25 gr dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi 225 mL NaCl 0,9%, kemudian haluskan menggunakan blender. Untuk mengantisipasi jumlah koloni yang tumbuh terlalu padat dan berhimpitan, maka dilakukan pengenceran. Sampel untuk isolasi isolat dilakukan pengenceran hingga 10^{-3} . Untuk pengenceran 10^{-1} diambil 25 gr sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 225 mL NaCl 0,9%. Selanjutnya pengenceran 10^{-2} , sampel pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl 0,9%. Pengenceran 10^{-3} , sampel 1 mL diambil dari hasil pengenceran 10^{-2} dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl 0,9% (Cappuccino dan sherman 1987; Waluyo, 2000)

b. Pembuatan Medium:

Medium untuk pertumbuhan bakteri digunakan Nutrient Agar (NA). Pembuatan dengan melarutkan 20 gram NA ke dalam 1 liter air yang telah dididihkan. Medium clorida (mengacu pada ISO 6579, ISO 10273, dan ISO 15845) tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.



preparat ditetesi larutan kristal violet selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Tahap berikutnya ditambahkan larutan iodin (mordan) selama 1 menit dan kembali dibilas. Selanjutnya dilakukan proses dekolorisasi dengan meneteskan alkohol 96% selama ± 20 detik, kemudian dibilas dengan air. Tahap terakhir dilakukan pewarnaan tandingan dengan meneteskan safranin selama 45 detik, kemudian dibilas dan dikeringkan menggunakan kertas serap steril. Preparat yang telah kering diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran lensa objektif 100x. Untuk memperjelas bentuk bakteri ditetesi minyak imersi. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif menunjukkan warna merah muda (Cappuccino & Sherman, 1987; Fitriani, 2022). Contoh hasil reaksi pewarnaan Gram bakteri disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Gram positif dan Gram negatif sel bakteri berdasarkan hasil pewarnaan Gram

Macam-macam bentuk sel pada pengamatan mikroskop disajikan pada Tabel 4.

Tabel 3. Keterangan gambar bentuk sel

Bentuk sel	Keterangan
	<p>Kokus (berbentuk bulat), Diplokokus (kokus yang berpasangan), Streptokokus (kokus yang tersusun memanjang seperti rantai), Stafilokokus (kokus yang berkelompok tidak teratur menyerupai buah anggur), Sarcina/Sersina (kokus yang tersusun dalam bentuk kubus atau paket) dan Basil (berbentuk batang).</p>



atan morfologi koloni dan karakteristik mikroskopis bakteri deskriptif dengan bantuan tabel dan gambar. sedangkan

Perbedaan kelimpahan bakteri musim hujan dan kemarau dianalisis menggunakan uji T dua sampel independen (*Independent Samples t-test*) dengan bantuan perangkat lunak SPSS.

