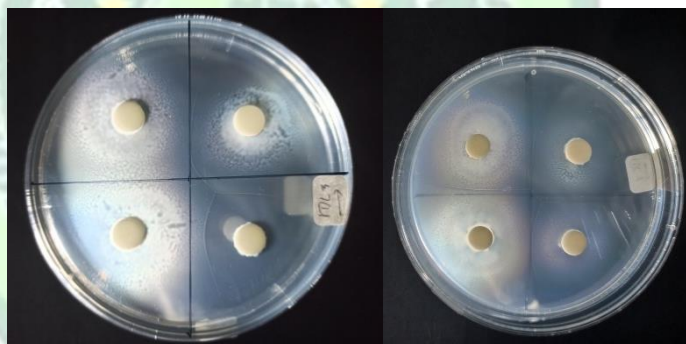


## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil penelitian

#### 4.1.1 Uji antagonis bakteri simbiosis spons terhadap *Vibrio harveyi* menggunakan metode divisi agar

Isolate bakteri dari kawasan Ujung Piring Jepara di lakukan uji aktivitas antivibrio yaitu terhadap, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio alginolyticus*. Seleksi isolat yang memiliki aktivitas antivibrio dilakukan dengan metode divisi agar (Isnansetyo, 2004). Adanya aktivitas antagonis ditunjukkan oleh terbentuknya daerah tanpa pertumbuhan (zona penghambatan) di sekitar paper disk ditunjukkan pada gambar 4.1



Gambar 4.1. Aktivitas Antagonis isolate bakteri spons pada uji divisi.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antivibrio pada 12 isolat tersebut yang memiliki aktifitas antibakteri *Vibrio harveyi* terdapat 7 isolat, 5 isolat menunjukkan aktif antibakteri *Vibrio parahaemolyticus*, dan 4 isolat menunjukkan aktif antibakteri *Vibrio alginolyticus*. Setelah dilakukan uji aktivitas antivibrio ke 12 isolat tersebut dilakukan pengamatan laju pertumbuhan dan uji antagonistik antar isolat. Data hasil pengamatan pada uji divisi dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 4.1. Hasil uji divusi tiap isolat dengan kode UP  
(Ujung Piring)

No	Isolat	Zona hambat (mm)		
		<i>Vibrio harveyi</i>	<i>Vibrio parahemoliticus</i>	<i>Vibrio alginoliticus</i>
1	UP.3	2,50 ± 0,59 <sup>a</sup>	-	5,08 ± 0,20 <sup>b</sup>
2	UP.4	-	3,59 ± 0,79 <sup>a</sup>	2,49 ± 0,48 <sup>a</sup>
3	UP.5	3,39 ± 0,47 <sup>abc</sup>	-	-
4	UP.7	-	-	13,00 ± 0,33 <sup>d</sup>
5	UP.8	2,87 ± 1,16 <sup>ab</sup>	16,70 ± 1,75 <sup>c</sup>	-
6	UP.13	4,96 ± 0,90 <sup>cd</sup>	-	-
7	UP.15	-	5,49 ± 0,75 <sup>a</sup>	-
8	UP.19	-	10,90 ± 1,3 <sup>b</sup>	-
9	UP.20	4,56 ± 0,66 <sup>bcd</sup>	-	-
10	UP.25	-	4,45 ± 0,58 <sup>a</sup>	-
11	UP.28	6,08 ± 0,17 <sup>d</sup>	-	7,37 ± 0,86 <sup>c</sup>
12	UP.29	5,69 ± 0,48 <sup>d</sup>	-	-

Hasil uji divusi dari ke 12 isolat terbentuk aktivitas antibakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahemoliticus*, dan *Vibrio alginoliticus*. Aktivitas antibakteri *Vibrio harveyi* memiliki tingkat aktivitas paling banyak yaitu 7 isolat. Sebanyak 5 Isolate memiliki aktivitas antibakteri *Vibrio parahemoliticus*, Selain itu, 4 isolat terdapat aktivitas antibakteri *Vibrio alginoliticus*. Ketiga isolate hasil seleksi kemudian dilakukan uji optimasi pertumbuhan optimum.

#### 4.1.2 Seleksi Sumber Karbon dan Nitrogen Isolat Bakteri

##### 4.1.2.1. Seleksi Sumber Karbon

Isolate bakteri hasil seleksi dilakukan pememilihan sumber karbon. Sumber karbon yang digunakan yaitu glukosa, fruktosa, dan molase. Tiga isolat hasil seleksi dilakukan pengamatan laju pertumbuhan dengan menggunakan kontrol (-). Data hasil seleksi sumber karbon dapat dilihat pada tabel 2.dibawah ini

Tabel 4.2. Jumlah generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan bakteri simbiosis pada pemilihan sumber C terbaik dalam pengkayaan media kultur.

Isolat	Perlakuan	Regresi		Pertumbuhan		
		Persamaan	R <sup>2</sup>	G	Tg	Kc
UP.7	Kontrol (-)	$y = 0,6568x + 0,1309$	0,9857	$4,884 \pm 0,2080^a$	$8,609 \pm 0,3580^c$	$0,080 \pm 0,0034^a$
	Glukosa	$y = 0,4716x + 0,0821$	0,9571	$4,132 \pm 0,1210^a$	$7,263 \pm 0,2163^b$	$0,095 \pm 0,0027^b$
	Fruktosa	$y = 0,5935x - 0,5728$	0,9615	$4,455 \pm 0,0346^b$	$8,080 \pm 0,0629^c$	$0,085 \pm 0,0006^a$
	Molase	$y = 0,9833x - 0,6873$	0,9669	$5,055 \pm 0,0152^c$	$5,934 \pm 0,0179^a$	$0,116 \pm 0,0003^c$
UP.8	Kontrol (-)	$y = 0,5086x + 0,0542$	0,9718	$4,588 \pm 0,0001^b$	$9,154 \pm 0,0001^d$	$0,075 \pm 0,0001^a$
	Glukosa	$y = 0,6374x - 1,3084$	0,9748	$4,853 \pm 0,0205^c$	$7,417 \pm 0,0314^b$	$0,093 \pm 0,0003^c$
	Fruktosa	$y = 0,4271x + 0,6473$	0,9871	$4,253 \pm 0,0715^a$	$8,464 \pm 0,1423^c$	$0,081 \pm 0,0013^b$
	Molase	$y = 0,868x + 1,4049$	0,9674	$5,040 \pm 0,0586^d$	$5,952 \pm 0,0689^a$	$0,116 \pm 0,0013^d$
UP.28	Kontrol (-)	$y = 0,3072x + 0,445$	0,9659	$3,748 \pm 0,0183^b$	$9,604 \pm 0,0470^d$	$0,072 \pm 0,0003^a$
	Glukosa	$y = 0,5435x - 0,844$	0,9596	$4,201 \pm 0,0460^c$	$7,141 \pm 0,0779^b$	$0,097 \pm 0,0010^c$
	Fruktosa	$y = 0,2478x + 0,2531$	0,9747	$3,300 \pm 0,0409^a$	$9,090 \pm 0,1127^c$	$0,076 \pm 0,0009^b$
	Molase	$y = 1,0705x + 1,5726$	0,9539	$5,226 \pm 0,0555^d$	$5,740 \pm 0,0608^a$	$0,120 \pm 0,0012^d$

Berdasarkan tabel laju pertumbuhan Isolat UP.7 dengan penambahan beberapa sumber karbon diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi pada penambahan sumber karbon molase dengan nilai generasi pertumbuhan ( $5,055 \pm 0,0152^c$ ), dengan waktu generasi  $5,934 \pm 0,0179^a$  jam, dan nilai kecepatan pertumbuhan  $0,116 \pm 0,0003^c$  jam<sup>-1</sup>. Kecepatan pertumbuhan isolate UP.7 berbeda nyata terhadap isolate UP.8 dan UP.28.

#### 4.1.2.2. Seleksi Sumber Nitrogen

Isolate bakteri hasil seleksi dilakukan pemilihan sumber nitrogen. Sumber nitrogen yang digunakan yaitu Amonium chloride, ammonium nitrat, dan urea. Tiga isolate hasil seleksi dilakukan pengamatan laju pertumbuhan dengan menggunakan kontrol (-). Data hasil seleksi sumber nitrogen dapat dilihat pada tabel 3. Sebagai berikut

Tabel 4.3. Jumlah generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan bakteri simbiosis pada pemilihan sumber N terbaik dalam pengkayaan media kultur

isolat	Perlakuan	Regresi		Pertumbuhan		
		Persamaan	R <sup>2</sup>	G	Tg	Kc
UP.7	Kontrol (-)	$y = 0,6568x + 0,1309$	0,9857	$4,884 \pm 0,208^b$	$8,609 \pm 0,358^c$	$0,080 \pm 0,003^a$
	Amonium Clorida	$y = 0,725x - 0,5521$	0,9771	$4,676 \pm 0,245^b$	$6,425 \pm 0,328^a$	$0,108 \pm 0,005^c$
	Amonium Nitrat	$y = 0,6002x - 0,483$	0,9245	$4,518 \pm 0,096^{ab}$	$7,969 \pm 0,169^c$	$0,086 \pm 0,001^{ab}$
	Urea	$y = 0,4966x - 0,0133$	0,9592	$4,114 \pm 0,019^a$	$7,290 \pm 0,034^b$	$0,095 \pm 0,001^b$
UP.8	Kontrol (-)	$y = 0,5086x + 0,0542$	0,9718	$4,588 \pm 3,534^c$	$9,154 \pm 7,051^d$	$0,075 \pm 5,832^a$
	Amonium Clorida	$y = 0,6442x - 0,9519$	0,9693	$4,546 \pm 0,076^c$	$6,599 \pm 0,109^a$	$0,105 \pm 0,001^d$
	Amonium Nitrat	$y = 0,2785x + 0,0506$	0,9635	$3,462 \pm 0,036^a$	$8,664 \pm 0,092^c$	$0,079 \pm 0,001^b$
	Urea	$y = 0,4788x + 0,6007$	0,9603	$4,242 \pm 0,031^b$	$7,071 \pm 0,053^b$	$0,098 \pm 0,001^c$
UP.28	Kontrol (-)	$y = 0,3072x + 0,445$	0,9659	$3,748 \pm 0,018^b$	$9,604 \pm 0,047^d$	$0,072 \pm 0,001^a$
	Amonium Clorida	$y = 0,592x + 0,0074$	0,9807	$4,379 \pm 0,151^c$	$6,855 \pm 0,233^a$	$0,101 \pm 0,003^d$
	Amonium Nitrat	$y = 0,3036x + 0,6955$	0,967	$3,460 \pm 0,032^a$	$8,670 \pm 0,082^c$	$0,079 \pm 0,001^b$
	Urea	$y = 0,3787x - 0,5531$	0,9454	$3,808 \pm 0,064^b$	$7,877 \pm 0,132^b$	$0,087 \pm 0,001^c$

Berdasarkan tabel laju pertumbuhan diatas , isolat UP.7 dengan penambahan beberapa sumber nitrogen diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi pada penambahan sumber nitrogen ammonium chloride yang memiliki nilai generasi pertumbuhan ( $4,518 \pm 0,096^{ab}$ ) dengan waktu pertumbuhan  $7,969 \pm 0,169^c$  jam dan nilai kecepatan pertumbuhan  $0,086 \pm 0,001^{ab}$  jam-1. Kecepatan pertumbuhan pada isolate UP.8 berbeda nyata terhadap isolate UP.8 dan UP.28.

### 4.1.3. Seleksi Konsentrasi Sumber Karbon dan Nitrogen Isolat Bakteri

#### 4.1.3.1. Konsentrasi Sumber Karbon

Pada pengkayaan sumber karbon menggunakan molase dilakukan seleksi konsentrasi 0,5%, 1,5%, dan 2,5%. Data hasil seleksi sumber karbon dapat dilihat pada tabel 4 sebagai berikut

Tabel 4.4. Jumlah generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan bakteri simbiosis pada konsentrasi glukosa sebagai sumber C terbaik dalam pengkayaan media kultur.

Isolat	Molase	Regresi		Pertumbuhan		
		Persamaan	R <sup>2</sup>	G	Tg	Kc
UP.7	0,5%	$y = 0,7625x + 0,6932$	0,9796	$5,040 \pm 0,0370^b$	$7,141 \pm 0,0530^c$	$0,097 \pm 0,0010^a$
	1,5%	$y = 1,1267x + 0,413$	0,9704	$5,283 \pm 0,1130^b$	$5,680 \pm 0,1210^a$	$0,122 \pm 0,0020^c$
	2,5%	$y = 0,6677x + 1,1036$	0,9257	$4,544 \pm 0,1310^a$	$6,604 \pm 0,1930^b$	$0,104 \pm 0,0030^b$
UP.8	0,5%	$y = 0,4335x + 0,9856$	0,9454	$4,188 \pm 0,1720^a$	$7,170 \pm 0,2950^b$	$0,096 \pm 0,0030^a$
	1,5%	$y = 0,9881x + 0,4678$	0,9812	$5,109 \pm 0,0660^c$	$5,872 \pm 0,0760^a$	$0,118 \pm 0,0010^b$
	2,5%	$y = 0,4988x + 1,5584$	0,973	$4,412 \pm 0,1280^b$	$8,162 \pm 0,2410^b$	$0,084 \pm 0,0020^a$
UP.28	0,5%	$y = 0,4057x + 2,4524$	0,8868	$4,936 \pm 0,1060^b$	$7,295 \pm 0,1550^b$	$0,095 \pm 0,0020^b$
	1,5%	$y = 0,8832x - 0,653$	0,9682	$4,933 \pm 0,0370^c$	$6,081 \pm 0,0450^a$	$0,113 \pm 0,0010^c$
	2,5%	$y = 0,3336x + 0,4269$	0,9602	$3,843 \pm 0,0310^a$	$9,367 \pm 0,0770^c$	$0,073 \pm 0,0010^a$



Berdasarkan uraian diatas, kecepatan pertumbuhan setiap penambahan molase dengan nilai konsentrasi 1,5% berbeda nyata terhadap perlakuan 0,5% maupun 2,5%. Perbedaan nyata tiap konsentrasi terlihat pada setiap isolate yang diuji. Oleh karena itu, konsentrasi 1,5% molase merupakan nilai penambahan optimum untuk isolate bakteri.

#### 4.1.3.2. Konsentrasi Sumber Nitrogen

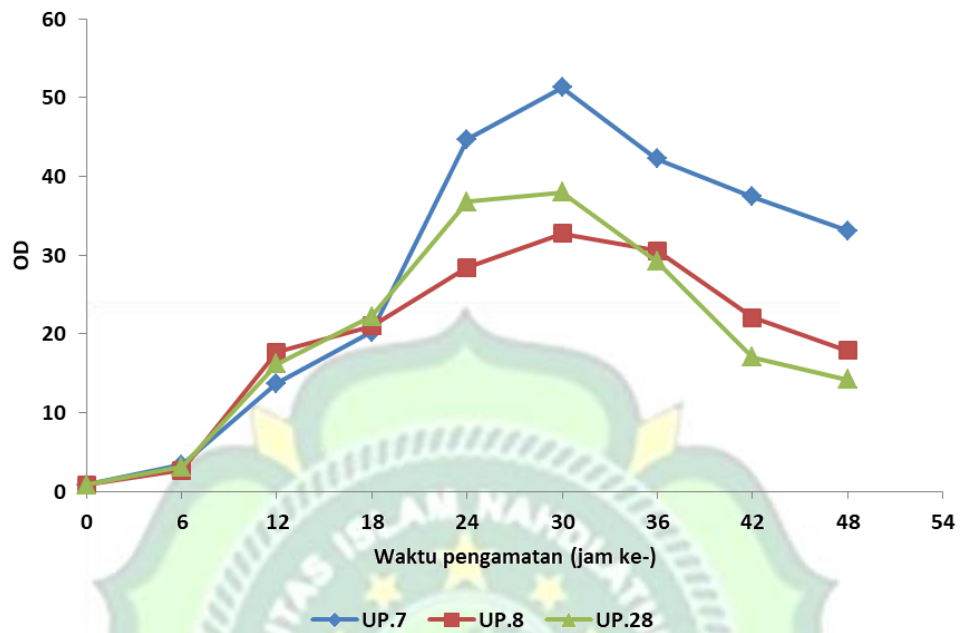
Pada pengkayaan sumber nitrogen menggunakan ammonium chloride dilakukan seleksi konsentrasi 0,05%, 0,15%, dan 0,25%. Data hasil seleksi sumber nitrogen dapat dilihat pada tabel 4.5 sebagai berikut

Tabel 4.5. Jumlah generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan bakteri simbiosis pada konsentrasi Amonium chloride sebagai sumber N terbaik dalam pengkayaan media kultur.

Isolat	Amonium Clorida	Regresi			Pertumbuhan	
		Persamaan	R <sup>2</sup>	G	Tg	Kc
UP.7	0,05%	$y = 0,5344x + 0,3636$	0,9751	$4,411 \pm 0,0370^a$	$8,160 \pm 0,0690^b$	$0,084 \pm 0,0010^a$
	0,15%	$y = 0,8338x - 1,4778$	0,9529	$4,749 \pm 0,1150^b$	$6,318 \pm 0,1540^a$	$0,109 \pm 0,0020^b$
	0,25%	$y = 0,6134x - 1,1223$	0,9394	$4,605 \pm 0,1300^{ab}$	$7,820 \pm 0,2250^b$	$0,088 \pm 0,0020^a$
UP.8	0,05%	$y = 0,4188x + 0,8342$	0,9872	$4,124 \pm 0,0860^a$	$8,731 \pm 0,1790^c$	$0,079 \pm 0,0010^a$
	0,15%	$y = 0,7621x + 0,9068$	0,9256	$4,638 \pm 0,0590^c$	$6,467 \pm 0,0810^a$	$0,107 \pm 0,0010^c$
	0,25%	$y = 0,5104x + 1,4003$	0,9171	$4,388 \pm 0,0760^b$	$8,204 \pm 0,1430^b$	$0,084 \pm 0,0010^b$
UP.28	0,05%	$y = 0,2191x + 1,4362$	0,900	$3,358 \pm 0,0300^a$	$8,933 \pm 0,0810^c$	$0,077 \pm 0,0010^a$
	0,15%	$y = 0,7025x + 0,2308$	0,949	$4,516 \pm 0,0080^c$	$6,642 \pm 0,0130^a$	$0,104 \pm 0,0010^c$
	0,25%	$y = 0,7025x + 0,2308$	0,949	$4,319 \pm 0,0460^b$	$8,335 \pm 0,0890^b$	$0,083 \pm 0,0010^b$

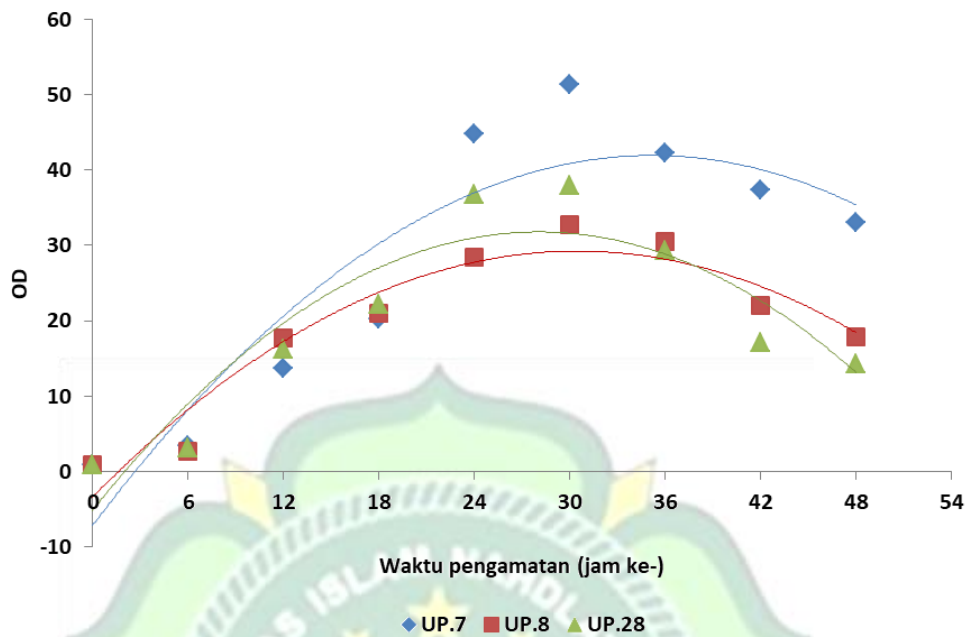
Berdasarkan uraian diatas, kecepatan pertumbuhan setiap penambahan ammonium chloride dengan nilai konsentrasi 0,15% berbeda nyata terhadap perlakuan 0,05% maupun 0,25%. Perbedaan nyata tiap konsentrasi terlihat pada setiap isolate yang diuji. Oleh karena itu, konsentrasi 0,15% ammonium chloride merupakan nilai penambahan optimum untuk isolate bakteri.

#### 4.1.4. Kombinasi Kultur Isolat Bakteri



Gambar 4.2. Fase pertumbuhan bakteri simbios spongs pada kombinasi media kultur.

Berdasarkan data laju pertumbuhan ketiga isolate terbaik dengan kombinasi sumber karbon molase dan nitrogen ammonium chloride yang berbeda terlihat isolat UP.7. fase yang terjadi pada isolat UP.8 dan UP.28 memiliki fase pertemubuhan hampir sama.



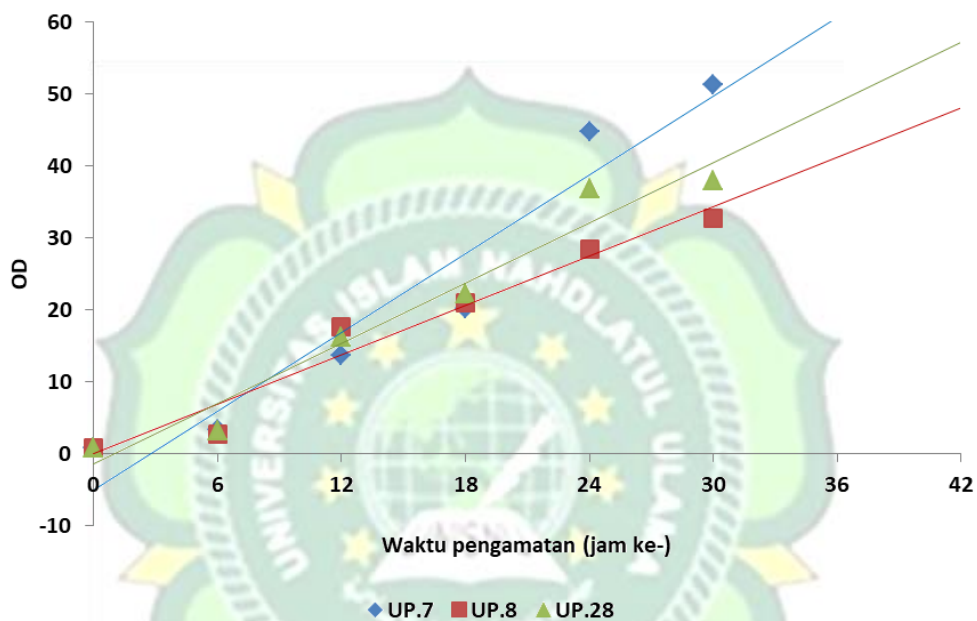
Gambar 4.3. Tren pertumbuhan bakteri simbiosis pada kombinasi media kultur.

Tren pertumbuhan bakteri pada kombinasi media kultur ketiga isolate hasil seleksi berdasarkan data hasil pengamatan terjadi secara eksponensial. Pertumbuhan isolate bakteri UP.7 mengalami kenaikan pertumbuhan mencapai puncak pada pengamatan jam ke-36. Isolate bakteri UP.8 dan UP.28 mengalami kenaikan pertumbuhan puncak pada pengamatan jam ke-30 dan mengalami penurunan pertumbuhan setelahnya.

Tabel 4.6 Kombinasi kultur isolate bakteri pada kombinasi media kultur

Isolat	Polynomial			Puncak	
	Persamaan	R <sup>2</sup>	R	T	OD
UP.7	$y = -0,0397x^2 + 2,7927x - 7,1952$	0,8485	0,921	30	51,247
UP.8	$y = -0,0351x^2 + 2,1419x - 3,4114$	0,9203	0,959	30	32,720
UP.28	$y = -0,0469x^2 + 2,6305x - 5,1445$	0,8489	0,921	30	37,981

Berdasarkan tabel diatas ketiga isolate bakteri memiliki nilai OD yang beragam. Nilai OD isolate bakteri UP.8 dan UP.28 pada pengamatan jam ke-30 masing masing yaitu 32,720 dan 37,981. Isolate bakteri UP.7 pada pengamatan jam ke-30 memiliki nilai OD tertinggi yaitu 51,247.



Gambar 4.4. Tren eksponensial pertumbuhan bakteri simbiosis pada kombinasi media kultur

Berdasarkan data hasil penelitian diatas, tren pertumbuhan bakteri dengan penambahan molase konsentrasi 1,5% dan ammonium chloride 0,15% pada tiap isolate bakteri terlihat secara eksponensial. Nilai OD pada tiap pengamatan mengalami kenaikan secara signifikan. Nilai OD tertinggi pada ketiga isolate bakteri terjadi pada pengamatan jam ke-30. Berdasarkan uraian diatas pengamatan jam ke-30 merupakan puncak kepadatan sel tiap isolate bakteri. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel sebagai berikut



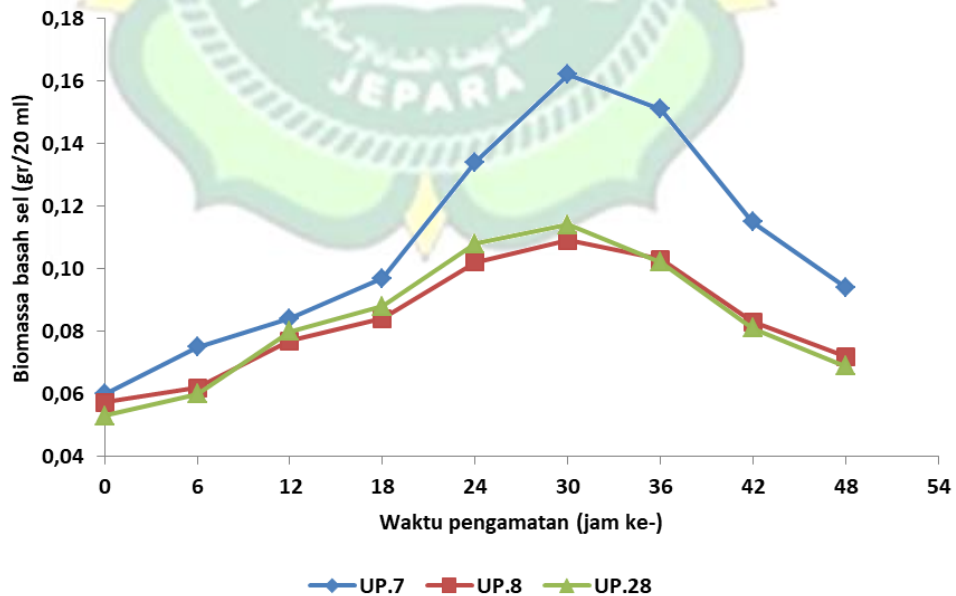
Tabel 4.7. Jumlah generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan bakteri simbiosis pada kombinasi media kultur

Isolat	Regresi		Pertumbuhan		
	Persamaan	R <sup>2</sup>	G	T <sub>g</sub>	K <sub>c</sub>
UP.7	$y = 1,8215x - 4,9739$	0,9345	$5,934 \pm 0,092^c$	$5,056 \pm 0,078^a$	$0,137 \pm 0,002^b$
UP.8	$y = 1,1419x + 0,0922$	0,9561	$5,248 \pm 0,071^a$	$5,716 \pm 0,077^c$	$0,121 \pm 0,001^a$
UP.28	$y = 1,3932x - 1,3715$	0,9601	$5,466 \pm 0,094^b$	$5,488 \pm 0,094^b$	$0,126 \pm 0,002^a$

Berdasarkan tabel laju pertumbuhan kombinasi sumber molase 1,5% dan ammonium chloride 0,15% diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi pada isolate UP.7. sedangkan untuk laju generasi dan waktu generasi isolate UP.8 berbeda nyata terhadap isolate UP.28. pengamatan ini menunjukkan isolate UP.7 dengan nilai pertumbuhan berbeda nyata dengan isolate lainnya menjadi isolate dengan pertumbuhan yang terbaik.

#### 4.1.5 Berat basah dan Berat Kering Isolat bakteri

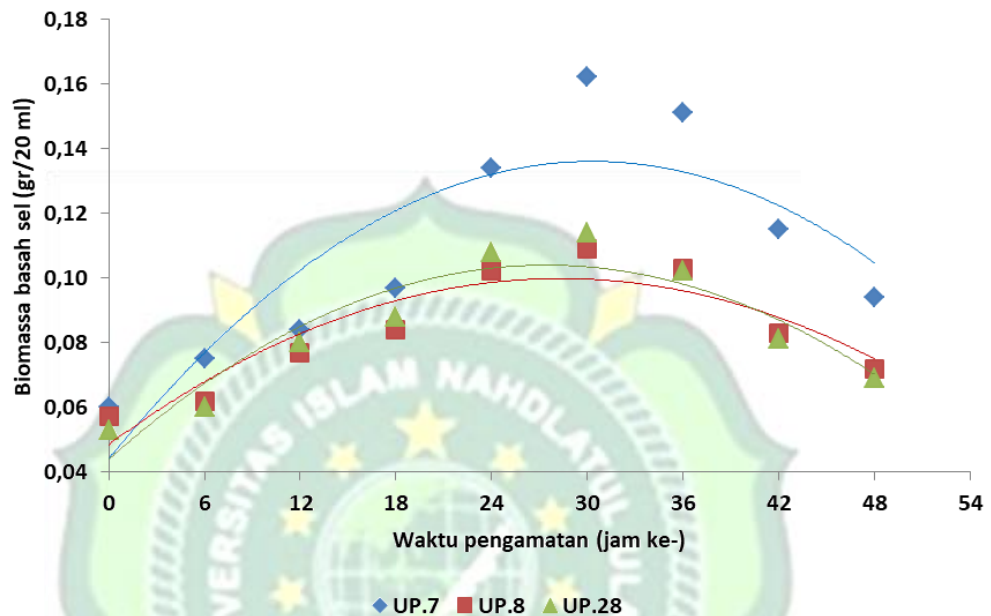
##### 4.1.5.1 Berat basah Isolate Bakteri



Gambar 4.5. Laju biomassa basah sel ketiga isolate bakteri

Berdasarkan data laju biomassa sel ketiga isolate terbaik dengan kombinasi sumber karbon dan nitrogen menunjukkan fase lag

yang sama. Ketiga isolate mengalami penurunan biomassa sel basah setelah jam ke-36 namun, pada isolate UP.8 dan UP.28 mengalami fase penurunan biomassa sel basah yang beriringan.



Gambar 4.6. Tren peningkatan biomassa basah sel ketiga isolate bakteri

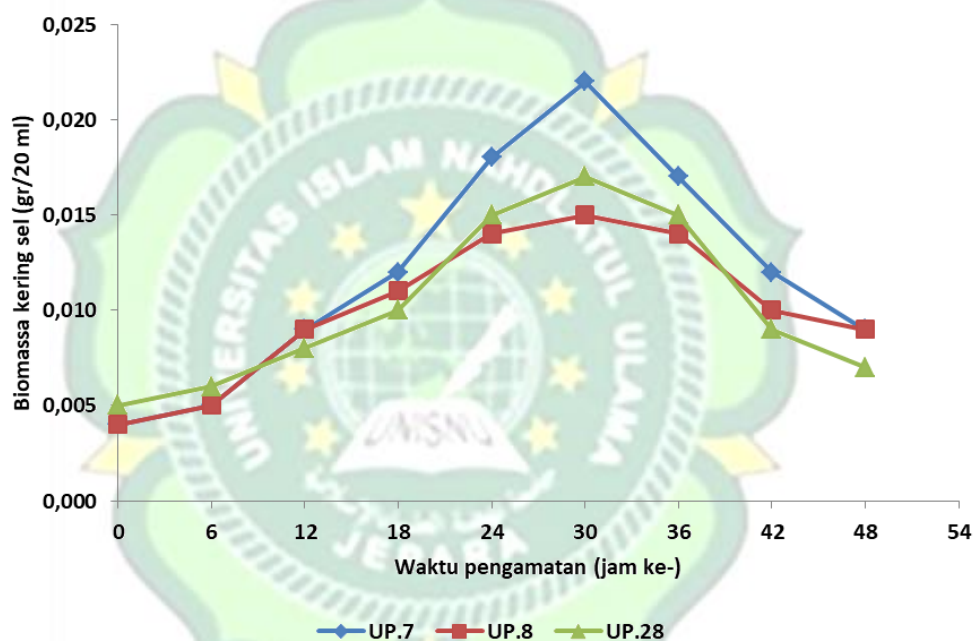
Tren peningkatan biomassa berat basah bakteri pada kombinasi media kultur ketiga isolate hasil seleksi berdasarkan data hasil pengamatan terjadi secara eksponensial. Peningkatan biomassa puncak berada pada pengamatan jam ke-30. Penurunan biomassa basah sel ketiga isolate bakteri terjadi setelah pengamatan jam ke-30. Biomassa basah sel isolate UP.7 memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan kedua isolate lainnya, hal tersebut dapat diketahui dari hasil persamaan pada tabel 4.8 sebagai berikut

Tabel 4.8. berat basah tiap isolat bakteri

Isolat	Polynomial			Puncak	
	Persamaan	R <sup>2</sup>	R	T	BB
UP.7	$y = -1E-04x^2 + 0,0061x + 0,0441$	0,7599	0,872	30	0,162
UP.8	$y = -6E-05x^2 + 0,0036x + 0,0485$	0,8489	0,921	30	0,109
UP.28	$y = -8E-05x^2 + 0,0044x + 0,044$	0,8811	0,939	30	0,114

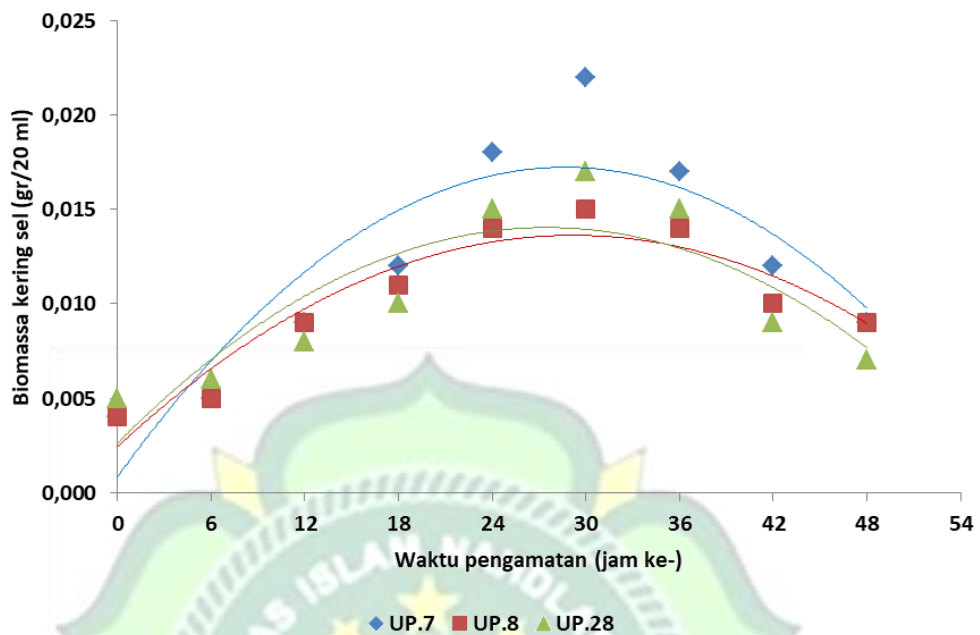
Berdasarkan hasil data pengamatan ketiga isolate bakteri dengan waktu puncak yang sama pada jam ke-30 memiliki nilai berat basah yang berbeda. Isolate UP.7 memiliki nilai berat basah tertinggi sedangkan untuk UP.8 dan UP.28 memiliki nilai berat basah yang tidak terpaut jauh. Hal tersebut menunjukkan isolate UP.7 memiliki nilai berat basah tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya.

#### 4.1.5.2. Berat Kering Isolat Bakteri



Gambar 4.7. Laju biomassa kering sel ketiga isolate bakteri

Berdasarkan data laju biomassa sel basah ketiga isolate terbaik dengan dengan kombinasi sumber karbon dan nitrogen menunjukkan fase lag yang sama pada 6 jam pertama. Kenaikan biomassa sel kering ketiga isolate terjadi setelah jam ke-6 dan terus mengalami kenaikan pada pengamatan jam ke-30. Ketiga isolate mengalami penurunan biomassa sel basah setelah jam ke-30 namun, pada isolate UP.8 dan UP.28 mengalami fase penurunan biomassa sel kering yang beriringan.



Gambar 4.8. Tren pertumbuhan biomassa basah sel ketiga isolate bakteri

Tren peningkatan biomassa berat kering bakteri pada kombinasi media kultur ketiga isolate hasil seleksi berdasarkan data hasil pengamatan terjadi secara eksponensial. Peningkatan biomassa kering fase puncak berada pada pengamatan jam ke-30. Penurunan biomassa basah sel ketiga isolate bakteri terjadi setelah pengamatan jam ke-30. Biomassa basah sel isolate UP.7 memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan kedua isolate lainnya, hal tersebut dapat diketahui dari hasil persamaan pada tabel sebagai berikut

Tabel 4.9 berat kering isolat bakteri

isolat	Polynomial			Puncak	
	Persamaan	R <sup>2</sup>	R	T	BK
UP.7	$y = -2E-05x^2 + 0,0011x + 0,0008$	0,7993	0,894	30	0,022
UP.8	$y = -1E-05x^2 + 0,0008x + 0,0024$	0,9009	0,949	30	0,015
UP.28	$y = -2E-05x^2 + 0,0008x + 0,0026$	0,7488	0,865	30	0,017

Berdasarkan hasil data pengamatan ketiga isolate bakteri dengan waktu puncak yang sama pada jam ke-30 memiliki nilai berat kering yang berbeda. Isolate UP.7 memiliki nilai berat kering tertinggi dibandingkan isolat UP.8 dan UP.28. Dari hasil yang diperoleh bentuk korelasi yang terjadi dapat dilihat dalam tabel 4.10 sebagai berikut

Tabel 4.10. Korelasi antar variabel

Isolat	Variabel	Persamaan	R <sup>2</sup>	R	Bentuk hubungan
UP.7	OD vs BB	$y = 0,0018x + 0,0596$	0,8742	0,935	Korelasi (+)
	OD vs BK	$y = 0,0016x + 0,0531$	0,9263	0,962	Korelasi (+)
	BB vs BK	$y = 0,0003x + 0,0039$	0,9303	0,965	Korelasi (+)
UP.8	OD vs BB	$y = 0,0003x + 0,0038$	0,8421	0,918	Korelasi (+)
	OD vs BK	$y = 0,0003x + 0,0035$	0,9753	0,988	Korelasi (+)
	BB vs BK	$y = 0,0003x + 0,0039$	0,9303	0,965	Korelasi (+)
UP.28	OD vs BB	$y = 0,1678x - 0,0061$	0,9422	0,971	Korelasi (+)
	OD vs BK	$y = 0,2088x - 0,0073$	0,9724	0,986	Korelasi (+)
	BB vs BK	$y = 0,2018x - 0,0067$	0,9559	0,978	Korelasi (+)

Berdasarkan data hasil penelitian ketiga isolate terjadi korelasi positif semua variable pengamatan. Korelasi terlihat antara nilai OD dengan berat basah maupun berat kering tiap sel isolate bakteri. Oleh karena itu, semakin tinggi nilai OD suatu isolate maka akan berpengaruh terhadap nilai berat basah dan berat kering isolate. Oleh karena itu, terbentuk korelasi positif diantara ketiganya.

## 4.2 Pembahasan

### 4.2.1 Isolasi dan uji divusi bakteri simbion spons terhadap vibrio harveyi

Hasil uji divusi dari ke 12 isolat terbentuk aktivitas antibakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio alginolyticus*. Aktivitas antibakteri *Vibrio harveyi* memiliki tingkat aktivitas paling banyak yaitu 7 isolat. Terdapat 4 isolate dari uji vibriosis terhadap *Vibrio harveyi* memiliki multiaktivitas antibakteri vibriosis. Sebanyak 5 Isolate memiliki aktivitas antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang 2 diantaranya memiliki multiaktivitas vibriosis. Selain itu, 4 isolat terdapat



aktivitas antibakteri *Vibrio alginoliticus* yang 3 diantaranya memiliki multiaktivitas vibriosis.

Berdasarkan data hasil uji kemudian isolate di ringking berdasarkan aktivitas tertinggi. Aktivitas tertinggi ini dimiliki oleh isolate bakteri UP.7 dengan diameter zona  $13,00 \pm 0,33d$  mm pada uji antibakteri *Vibrio alginoliticus*, kemudian isolate UP.8 memiliki diameter zona  $2,87 \pm 1,16ab$  mm pada uji antibakteri *Vibrio parahemoliticus*, dan isolate UP.28 memiliki diameter zona  $7,37 \pm 0,86c$  mm pada uji antibakteri *Vibrio alginoliticus*.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri simbiosis spons yang didapatkan memiliki aktivitas antagonis terhadap bakteri vibrio. hal ini diduga bakteri simbiosis tersebut menghasilkan senyawa bioaktif yang di ekskresikan keluar sel dan berdivisi ke media agar. ketiga isolat yang potensial tersebut adalah isolat UP.7, UP.8 dan UP.28. Ketiga isolat tersebut merupakan bakteri dari genus Bacillus. Irina *et al.* (2001) melaporkan bahwa bakteri dari genus Bacillus sp. bisa memproduksi zat antimikrob berupa bakteriosin.

Bakteriosin merupakan zat antimikrob yang merupakan polipeptida, protein atau senyawa yang mirip protein. Bakteriosin disintesis di ribosom oleh bakteri selama masa pertumbuhannya dan umumnya hanya menghambat galur-galur bakteri yang berkerabat dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin (Jack *et al.* 1995, Kone & Fung 1992). Kriteria yang merupakan ciri-ciri bakteriosin adalah (1) memiliki spektra aktivitas yang lebih sempit, (2) senyawa aktif merupakan polipeptida atau protein, (3) bersifat bakterisida, (4) mempunyai reseptor spesifik pada sel sasaran, dan (5) gen determinan terdapat pada plasmid, plasmid rekombinan atau episom, kromosom atau transposon yang berperan pada produksi dan imunitas (Tagg *et al.* 1976).

Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi dan memurnikan bakteriosin yang diproduksi oleh Bacillus sp. gram positif di

antaranya Subtilin dihasilkan oleh *B. subtilis* (Klein *et al.* 1993), Megacin oleh *B. megaterium* (Tagg *et al.* 1976), Coagulin oleh *B. coagulans* I 4 (Hyronimus 1998), Cerein oleh *B. Cereus* (Oscariz & Pisabarro 2000), dan Tochicin oleh *B. thuringiensis* (Paik *et al.* 1997).

Menurut Williams *et al.* (1996) bakteriosin disintesis melalui jalur ribosom sedangkan antibiotik disintesis melalui jalur di luar ribosom dengan melibatkan multienzim. Kebanyakan bakteriosin disintesis dalam bentuk protein yang tidak aktif yang memiliki N-terminal leader sequence dan C-terminal prepeptida. Mekanisme kerja bakteriosin diketahui bergantung pada konsentrasi bakteriosin, kemampuan ionisasi, suhu, pH dan fase pertumbuhan sel target (Sahl & Brandis 1982). Irina *et al.* (2001) melaporkan *Bacillus* sp. Memiliki kemampuan untuk menghasilkan zat antimikrob berupa bakteriosin, seperti Cerein oleh *B. cereus* (Oscariz & Pisabarro 2000).

Rachmaniar (1997) menyatakan bahwa faktor yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat zat antimikrob antara lain adalah aktivitas zat antimikrob gugus fungsi dari substansi sendiri, resistensi dari bakteri terhadap substansi zat antimikrob, kadar substansi aktif serta jumlah inokulum bakteri atau kepadatan bakteri uji. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikrob itu ialah 1) jenis, jumlah, umur dan latar belakang kehidupan bakteri, 2) konsentrasi zat antimikrob, 3) suhu dan waktu kontak dan 4) sifat fisiko-kimia substrat seperti pH, kadar air dan tegangan permukaan.

#### **4.2.2 Seleksi Sumber Karbon dan Nitrogen Isolat Bakteri**

Pertumbuhan isolate bakteri UP.8 dengan penambahan berbagai sumber karbon diperoleh hasil laju pertumbuhan tertinggi pada penambahan sumber karbon molase dengan nilai generasi pertumbuhan ( $5,040 \pm 0,0586d$ ) dengan nilai waktu generasi  $5,952 \pm 0,0586c$  jam dan kecepatan generasi  $0,116 \pm 0,0013d$  jam<sup>-1</sup>. Isolate UP.28 dengan penambahan sumber karbon molase mengalami pertumbuhan dengan

nilai generasi pertumbuhan  $5,226 \pm 0,0555d$  jam, nilai waktu generasi  $5,740 \pm 0,0608a$  jam dan nilai kecepatan pertumbuhan sebesar  $0,120 \pm 0,0012d$  jam-1. Berdasarkan data diatas, Molase menjadi sumber karbon paling optimal untuk pertumbuhan ketiga isolate bakteri.

Molase merupakan golongan monosakarida dengan sebagian besar gula, asam amino, dan mineral. Kandungan pati dan gula didalam molase dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi. Molase juga mengandung glukosa, fruktosa, dan sukrosa yang dapat digunakan sebagai sumber karbohidrat. Kandungan nutrisi molase yang kompleks dimanfaatkan oleh bakteri secara optimum dalam pertumbuhan. Menurut Kuswury (2009), Komposisi yang penting dalam molases adalah TSAI (Total Sugar as Inverti ) yaitu gabungan dari sukrosa dan gula reduksi. Molase memiliki kadar TSAI antara 50 – 65 % yang menguntungkan dalam proses pertumbuhan. Oleh sebab itu, molase mengandung nutrisi cukup tinggi untuk kebutuhan bakteri, sehingga dapat dijadikan sebagai bahan alternatif sumber karbon.

Penambahan sumber nitrogen pada tiap isolat bakteri menghasilkan nilai laju pertumbuhan tertinggi pada penambahan sumber nitrogen isolat UP.8 dengan penambahan ammonium chloride memiliki nilai generasi pertumbuhan ( $4,546 \pm 0,076c$ ) dengan waktu generasi sebesar  $6,599 \pm 0,109a$  jam dan kecepatan generasi  $0,105 \pm 0,001d$  jam-1. Berdasarkan tabel laju pertumbuhan Isolate UP.28 dengan penambahan sumber nitrogen mengalami pertumbuhan tertinggi pada penambahan ammonium chloride dengan nilai generasi pertumbuhan ( $4,379 \pm 0,151c$ ), nilai waktu generasi  $6,855 \pm 0,233a$  jam dan kecepatan pertumbuhan sebesar  $0,101 \pm 0,003d$  jam-1 .

Berdasarkan uraian diatas maka dapat disimpulkan bahwa secara umum pada 20 isolat terbaik memiliki laju pertumbuhan yang lebih baik pada media dengan penambahan sumber nitrogen amonium nitrat. pengkayaan ammonium chloride memiliki nilai pertumbuhan tertinggi dibandingkan dengan ammonium nitrat dan urea. Ammonium chloride

merupakan senyawa dengan rumus kimia  $\text{NH}_4\text{Cl}$  yang mudah larut dalam air. Senyawa ammonium nitrat yang mudah melakukan ionisasi sehingga mampu dimanfaatkan bakteri secara optimum.

#### 4.2.3 Seleksi Konsentrasi Sumber Karbon dan Nitrogen Isolat Bakteri

Bedasarkan data laju pertumbuhan perlakuan konsentrasi sumber C dengan pengkayaan molase berpengaruh terhadap generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan tiap isolat bakteri. Isolate UP.7 dengan konsentrasi 1,5 % diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi dengan nilai generasi  $5,283 \pm 0,1130\text{b}$ , waktu generasi berkisar  $5,680 \pm 0,1210\text{a}$  jam, dan kecepatan generasi berkisar  $0,122 \pm 0,0020\text{c}$  jam-1. Pertumbuhan isolate bakteri UP.8 dengan penambahan molase diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 1,5% dengan nilai generasi berkisar  $5,109 \pm 0,0660\text{c}$ , waktu generasi berkisar  $5,872 \pm 0,0760\text{a}$  jam, dan kecepatan generasi berkisar  $0,118 \pm 0,0010\text{b}$  jam-1. Konsentrasi molase pada isolate UP.28 memiliki nilai tertinggi pada konsentrasi 1,5% dengan nilai generasi  $4,933 \pm 0,0370\text{c}$ , waktu generasi  $6,081 \pm 0,0450\text{a}$  jam, dan kecepatan generasi  $0,113 \pm 0,0010\text{c}$  jam-1.

Bedasarkan data laju pertumbuhan perlakuan konsentrasi sumber Nitrogen dengan pengkayaan ammonium chloride berpengaruh terhadap generasi, waktu generasi, dan kecepatan pertumbuhan tiap isolat bakteri. Isolate UP.7 dengan konsentrasi 0,15 % diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi dengan nilai generasi  $4,749 \pm 0,1150\text{b}$ , nilai waktu generasi  $6,318 \pm 0,1540\text{a}$  jam, dan kecepatan generasi berkisar  $0,109 \pm 0,0020\text{b}$  jam-1. Pertumbuhan isolate bakteri UP.8 dengan penambahan ammonium chloride diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi pada konsentrasi 0,15% dengan nilai generasi  $4,638 \pm 0,0590\text{c}$ , waktu generasi berkisar  $6,467 \pm 0,0810\text{a}$  jam, dan kecepatan generasi berkisar  $0,107 \pm 0,0010\text{c}$  jam-1. Konsentrasi ammonium chloride pada isolate UP.28 memiliki nilai tertinggi pada konsentrasi 0,15% dengan

nilai generasi  $4,516 \pm 0,0080c$ , waktu generasi  $6,642 \pm 0,0130a$  jam, dan kecepatan generasi  $0,104 \pm 0,0010c$  jam-1.

#### **4.2.4. Kombinasi Kultur Isolat Bakteri**

Ketiga isolat tersebut mampu memanfaatkan sumber C dan N tersebut untuk poroses metabolisme lebih baik. berdasarkan hasil penelitian pada gambar fase pertumbuhan menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki fase pertumbuhan yang berbeda. perbedaan tersebut ada pada waktu dan OD puncak pertumbuhan. fase pertumbuhan ketiga isolat tersebut terdiri dari fase lag (adaptasi), log (eksponensial) dan stasioner dan kematian. Fase lag pada pengamatan islat UP.7 terjadi sampai dengan jam ke-6. Fase logaritmik terjadi pada pengamatan setelah jam ke-6 sampai dengan jam ke-30 sedangkan fase kematian terjadi setelah jam ke-30 sampai jam ke-48. Pertumbuhan isolat UP.8 mengalami Fase lag pada pengamatan sampai dengan jam ke-6. Fase logaritmik terjadi pada pengamatan setelah jam ke-6 sampai dengan jam ke-24 sedangkan fase kematian terjadi setelah jam ke-30 sampai jam ke-48. Pertumbuhan Isolat UP.28 dengan kombinasi yang sama mengalami lag fase pada pengamatan sampai dengan jam ke-6, kemudian mengalami fase logaritmik pada pengamatan setelah jam ke-6 sampai jam ke-30 dan mengalami fase kematian setelahnya.

Hal tersebut dikarenakan adanya adaptasi mikroba yang mengalami suatu masa dimana selnya menjadi lebih besar tetapi jumlahnya tetap sama atau sedikit sekali terjadi perkembangan populasi meskipun metabolisme sel terus berlangsung (Fauziah, dkk. 2011). Fase ini merupakan akhir fase lag yang ditandai dengan terus membelahnya sel mikroba. Selama fase log, sel membelah terusmenerus konstan dengan kecepatan pertumbuhan yang tinggi saat angka dan log dari angka kelompok sel terhadap waktu pada garis lurus (Shantharam, 1997 dalam Nurhajati, dkk. 2009),



Pada akhir fase log banyak sel akan mati, sedangkan yang masih ada sudah tidak mampu lagi mengadakan pembelahan (Fauziah dkk, 2011). Habisnya nutrisi dan akumulasi produk inhibitor seperti asam adalah beberapa faktor yang mempengaruhi kematian sel (Shantharam, 1997 dalam Nurhajati dkk, 2009).

Selama pertumbuhannya, jenis mikroorganisme memperbanyak diri dengan cara membelah diri menjadi dua, kemudian masing-masing membelah lagi menjadi dua sehingga pada setiap generasi jumlahnya menjadi dua kali populasi sebelumnya. Waktu yang dibutuhkan untuk terjadinya proses ini disebut waktu generasi. Dengan mengetahui waktu generasi setiap mikroba maka dapat diprediksi populasi setiap mikroba dalam jangka waktu yang sama serta keaktifannya dalam proses metabolisme (Fardiaz, 1992).

Berdasarkan tabel laju pertumbuhan kombinasi sumber molase 1,5% dan ammonium chloride 0,15% diperoleh nilai laju pertumbuhan tertinggi pada isolate UP.7 memiliki nilai generasi  $0,137 \pm 0,002b$ , waktu generasi  $5,934 \pm 0,0179a$  jam dan kecepatan pertumbuhan  $0,126 \pm 0,002a$  jam<sup>-1</sup>. Isolat UP.8 memiliki kecepatan pertumbuhan tidak berbeda nyata terhadap isolate UP.28. sedangkan untuk laju generasi dan waktu generasi isolate UP.8 berbeda nyata terhadap isolate UP.28. pengamatan ini menunjukkan isolate UP.7 dengan nilai pertumbuhan berbeda nyata dengan isolate lainnya menjadi isolate dengan pertumbuhan yang terbaik.

#### **4.2.5 Berat basah dan Berat Kering Isolat bakteri**

Berdasarkan hasil penimbangan berat basah dan berat kering bakteri pada ketiga isolat hasil seleksi diperoleh data peningkatan terjadi secara eksponensial. Peningkatan biomassa puncak berada pada pengamatan jam ke-30. Penurunan biomassa sel ketiga isolate bakteri terjadi setelah pengamatan jam ke-30. Biomassa sel isolate UP.7 memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan kedua isolate lainnya.

Berdasarkan hasil data pengamatan ketiga isolate bakteri diperoleh nilai berat basah basah tertinggi pada UP.7 yaitu 0,162 sedangkan untuk UP.8 dan UP.28 memiliki nilai berat basah berurutan 0,109 dan 0,114. Sedangkan pada penimbangan berat kering sel bakteri diperoleh nilai tertinggi pada Isolate UP.7 memiliki yaitu 0,022 sedangkan untuk UP.8 dan UP.28 memiliki nilai berat kering 0,015 dan 0,017. Peningkatan berat basah maupun berat kering juga berpengaruh terhadap nilai OD masing masing isolat hasil seleksi. Hal tersebut menunjukkan terjadinya korelasi positif antara berat basah, berat kering, maupun nilai OD tiap isolat bakteri.

