

ISOLASI DAN KARAKTERISASI MIKROSIMBION DARI SPONS *Callyspongia vaginalis* dan Uji DAYA HAMBAT TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF SPONGE *Callyspongia vaginalis* and TEST INHIBITORY EFFECT ON *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypi*

Dewi Isnaeni dan Rahmawati

Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi UIT Makassar

ABSTRACT

This study aims to determine the bacteria in the sponge *Callyspongia vaginalis* and inhibition test against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella thypi*. The results of the isolation and characterization of the sponge *Callyspongia microsybion vaginalis* found the bacteria are gram-negative bacilli and biochemical test results in which bacteria inhibition *Klebsiella pneumoniae*. Uji sponge *callyspongia vaginalis* bacterial pathogens (*Staphylococcus aureus*) has no zone of inhibition and control (+) disks chloramfenicol has an inhibitory zone of 25 mm with a sensitive interpretation and control (-) blank disc (without drug compounds) have no inhibitory zone resisten. Uji interpretation inhibition sponge *callyspongia vaginalis* bacterial pathogens (*salmonella thypi*) has no zone of inhibition and control (+) chloramfenicol disk has an inhibitory zone of 35 mm with a sensitive interpretation and control (-) blank disc (without drug compounds) interpretation has no inhibitory zone resistant.

Keywords: *Sponges Callyspongia vaginalis*, *Klebsiella pnemoniae*, *Power Inhibition Test Against Staphylococcus aureus and Salmonella thypi*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui bakteri pada Spons *Callyspongia vaginalis* serta uji daya hambat terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. Hasil dari isolasi dan karakterisasi Mikrosimbion pada Spons *Callyspongia vaginalis* ditemukan bakteri bersifat basil gram negatif dan hasil uji biokimia yaitu bakteri *Klebsiellaa pneumoniae*. Uji daya hambat pada spons *callyspongia vaginalis* pada bakteri patogen (*staphylococcus aureus*) tidak memiliki zona hambatan dan control (+) disk chloramfenicol memilki zona hambat 25 mm dengan interpretasi sensitive dan control (-) disk kosong (tanpa senyawa obat) tidak memiliki zona hambat interpretasi resisten. Uji daya hambat pada spons *callyspongia vaginalis* pada bakteri patogen (*salmonella thypi*) tidak memiliki zona hambatan dan control (+) disk chloramfenicol memilki zona hambat 35 mm dengan interpretasi sensitive dan control (-) disk kosong (tanpa senyawa obat) tidak memiliki zona hambat interpretasi resisten.

Kata Kunci : *Spons Callyspongia Vaginalis*, *Klebsiella pnemoniae*, Uji Daya Hambat Terhadap *staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*"

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara kepulauan terbesar di dunia, memiliki wilayah perairan sangat luas, dua pertiga merupakan wilayah laut, dan memiliki sumberdaya alam hayati laut yang besar. Salah satu sumber daya alam tersebut adalah ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang merupakan bagian dari ekosistem laut yang menjadi sumber kehidupan bagi beraneka ragam biota laut. Di dalam ekosistem terumbu karang dapat hidup lebih dari 300 jenis karang, lebih dari 200 jenis ikan dan berpuluh-puluh jenis moluska, krustasea, spons, alga, lamun, dan biota lainnya (Tarumingkeng., dkk. 2005)

Spons merupakan biota laut yang hidup menetap di dasar perairan, yang memiliki peran yang cukup penting di dalam ekosistem terumbu karang. Selain itu spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentasenya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 1998).

Spons merupakan biota yang tidak memiliki alat gerak sebagai perlindungan diri, sebagai bentuk perlindungannya spons melakukan metabolisme sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun

dari serangan organisme lain, sedangkan substansi yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolisme dasar serta digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan organisme yang bersangkutan disebut dengan metabolit primer. Hingga saat ini, spons dikenal sebagai biota yang paling banyak menghasilkan senyawa bioaktif, seringkali dengan aktivitas bioaktif yang tinggi jika dibandingkan dengan biota laut lainnya, salah satu famili spons yang memiliki senyawa dengan bioaktivitas tinggi berasal dari Famili *Callyspongiidae* (Sorokin, 1993).

Pada penelitian ini, kami mengambil spons *Callyspongia vaginalis*. yang merupakan salah satu genus spons yang banyak diteliti kandungan dan aktivitas senyawa bioaktifnya. Menurut Erhardt dan Moostleiner (1995) spons *Callyspongia vaginalis*. merupakan salah satu jenis bunga karang yang paling banyak ditemukan di perairan Indonesia. Di dalam spons ini mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid 3-alkilpiridin (Voogd, dkk., 2005), akartepin yang merupakan inhibitor dari fosfatidilinositol (Fukami, dkk., 1997), meroterpenoid sulfat dan masih banyak lagi jenis senyawa bioaktif yang dapat ditemukan dalam spesies ini (Gray, dkk., 2006).

Spons ini memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori-pori sehingga ia dimasukkan kedalam filum porifera. Kebanyakan dari spesies spons hidup di air laut, dan tidak mempunyai jaringan atau organ yang sejati. Bentuk dan ukurannya sangat bervariasi. Pola

pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh keadaan substrat (Romimohtarto, 2007).

Secara umum bakteri probiotik hidup didalam saluran pencernaan dan bermutualisme dengan tubuh inangnya, hidup pada pH 2-4, tidak mengakibatkan hal yang negatif pada tubuh, tidak patogen, umumnya tidak membentuk spora, *saccharolytic*, umumnya anaerob, tidak mengganggu ekosistem tubuh, hidup dan tumbuh didalam usus (Fuller, 1989). Asam laktat merupakan senyawa metabolit utama pada fermentasi oleh bakteri asam laktat yang akan menurunkan pH pada sekitar saluran usus menjadi 4–5, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan *E.coli* yang membutuhkan pH optimum 6–8. Sejumlah asam volatil yang dihasilkan selama fermentasi juga memberikan efek antimikroba dalam kondisi redoks potensial yang rendah. Asam asetat dan asam propionat yang dihasilkan melalui fermentasi heterofermentatif, akan berinteraksi dengan sel membran dan mengakibatkan asidifikasi intraseluler dan denaturasi protein, sehingga sangat efektif sebagai antimikroba (Surono, 2004).

Berdasarkan hal tersebut maka masalah yang timbul yaitu Apakah terdapat Mikrosimbion pada Spons *Callyspongia vaginalis* yang berasal dari Pulau Barang Lompo Kabupaten Jeneponto yang memiliki daya hambat terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*?

Tujuan penelitian ini Untuk mengetahui Mikrosimbion yang terdapat pada Spons *Callyspongia vaginalis* yang mampu menghambat

pertumbuhan *Stapylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* sebagai bakteri patogen.

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai jenis dan karakteristik mikrosimbion yang hidup pada bagian dalam Spons *Callyspongia vaginalis* baik yang menghasilkan senyawa antibiotik maupun yang tidak bersifat antibiotik berdasarkan substratnya.

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental, yang merupakan penelitian yang pengujiannya dilaksanakan di laboratorium dengan menggunakan rancangan berbasis eksperimental sederhana.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Timur.

C. Pengambilan Sampel

Sampel diperoleh di sekitar pulau Barang Lompo Sulawesi Selatan. Sampel dibersihkan kemudian dipotong-potong kecil lalu ditimbang sebanyak 500 gr berat segar.

D. Alat dan bahan yang digunakan

1. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Erlenmeyer, inkubator, oven, neraca analitik, pipet tetes, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, mikroskop, gelas objek, *hot plate*, corong, batang pengaduk, tabung durham, lemari pendingin, penjepit tabung, rak tabung reaksi, spoit, termos,

autoklaf, *scalpel*, mortal, pastel, dan jangka sorong.

2. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spons *Callyspongia vaginalis*, alkohol 70%, MHA (Medium Mueller Hinton Agar) medium NA (*Nutrien Agar*), Medium BHIB (Brain Heart Infussion Broth) Medium MCA (Mac Conkey Agar), medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) (MERCK), medium SIM (*Sulfid Indol Motility*), covaks (MERCK), medium MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*) (MERCK), medium Citrat, medium Urea PA, (MERCK), KOH 40%, alfanaftol, metil-red, pewarnaan gram (Kristal Violet, lugol, alkohol-aseton, dan safranin), NaCl fisiologis, HCl 0,1 N, kapas, *paper disk*, kertas lakmus, dan aluminium foil, bakteri patogen (*Salmonella thypi* dan *Staphylococcus aureus*).

E. Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat dan Medium
 - a. Alat-alat gelas berupa tabung reaksi, cawan petri, gelas objek dan pipet tetes disterilkan dengan sterilisasi panas kering (udara panas) pada oven. Sterilisasi dilakukan pada temperatur 170^o- 180^o C selama 1-2 jam (Lay dan Hastowo, 1992).
 - b. Jarum ose disterilkan dengan sterilisasi panas kering dengan nyala api bunsen sampai merah membara (Dwyana dan Gobel, 2011).
 - c. Medium dan alat non-gelas yang digunakan terlebih dahulu disterilkan dengan sterilisasi panas basah yaitu dengan

menggunakan autoklaf. Sterilisasi ini dilakukan selama 15 menit dalam temperatur 121^oC dan tekanan 2 atm (Lay dan Hastowo, 1992).

F. Pembuatan Medium

Pembuatan medium (Dwyana dan Gobel, 2011) :

1. Medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Sebanyak 6,5 g medium TSIA dilarutkan ke dalam 100 mL air suling, dibuat dengan pH 7,4. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Kemudian mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121^oC dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2. Medium SIM (*Sulfid Indol Motility*)

Sebanyak 3 g medium SIM dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dibuat dengan pH 7,3. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121^oC dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

3. Medium MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*)

Sebanyak 1,7 g medium MR-VP dilarutkan ke dalam 100

mL air suling, dibuat dengan pH 6,9. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

4. Medium Urea

Sebanyak 2,1 g medium Urea Base dilarutkan ke dalam 100 ml air suling, kemudian di sterilkan autoclave dengan suhu 40°C, selama 15 menit kemudian tambahkan Urea PA sebanyak 2 g, kemudian di sterilkan pada suhu 121°C.

5. Medium Citrat

Sebanyak 22,5g medium Citrat dilarutkan ke dalam 100 mL air suling. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah Erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121° C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

6. Medium NA (*Nutrien Agar*)

Sebanyak 2,3 g medium NA dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dibuat dengan pH 7,3. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah

Erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121° C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

7. Medium MCA (*Mac Conkey Agar*)

Sebanyak 5,20 g medium Mac Conkey dilarutkan ke dalam 100 mL air suling. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah Erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121° C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

8. Medium BHIB (*Brain Heart Infussion Broth*)

Sebanyak 3,7g medium BHIB dilarutkan ke dalam 100 mL air suling. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah Erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121° C dan tekanan 2 atm selama 15 menit setelah itu dimasukan dalam tabung reaksi steril.

9. Medium MHA (*Multon Hilton Agar*)

Sebanyak 3,7 g medium MHA dilarutkan ke dalam 100 mL air suling. Kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah Erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Selanjutnya mulut masing-masing Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

G. Isolasi Bakteri

Spons dikeluarkan dari *freezer* dan dibiarkan sampai lunak, kemudian secara aseptis, bagian dalam spons dikerok dengan menggunakan *scalpel*. Hasil kerokan tersebut kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortal dan pastel lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril dan diencerkan dengan air suling.

Sebanyak 1 mL sampel diambil kemudian diinokulasikan pada medium NA dan Mac Conkey kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2-3x24 jam.

H. Tahap Pemurnian Kultur Bakteri

Pemurnian dimulai dengan memilih koloni-koloni yang disekitarnya terdapat zona bening. Mensterilkan jarum ose, lalu disentuh pada permukaan koloni bakteri kemudian diinokulasikan pada permukaan medium NA dan Mac Conkey dengan metode gores untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Tahap pemurnian dapat dilakukan 2-3 kali, untuk lebih menyakinkan bahwa

koloni yang terbentuk benar-benar murni atau tidak.

I. Pengamatan Morfologi

Morfologi setiap koloni tunggal yang terbentuk setelah pemurnian kemudian diamati. Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk koloni (*shape*), bentuk tepi (*edge*), warna (*colour*), permukaan koloni (*elevation*), dan bau (*odor*).

1. Pengecatan Gram

Pengamatan morfologi koloni dilakukan dengan teknik pewarnaan gram. Pertama-tama ulasan bakteri dibuat pada gelas objek dan dilakukan fiksasi. Sebanyak 2-3 tetes gram A (kristal violet) ditetaskan pada koloni bakteri, diamkan selama 60 detik. Kemudian preparat dicuci dengan menggunakan air mengalir lalu dikeringanginkan. Sebanyak 2-3 tetes gram B (larutan lugol) ditetaskan di atas preparat dan dibiarkan selama 60 detik. Preparat dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Preparat kemudian ditetesi 2-3 tetes larutan alkohol-aseton 11 dibiarkan selama 60 detik dicuci kembali dan dikeringkan. Selanjutnya preparat ditetesi dengan larutan safranin sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 60 detik, lalu dicuci dan dikeringkan. Setelah itu diamati di bawah mikroskop

J. Pembuatan Stok Bakteri

Setiap koloni tunggal yang berbeda dan terbentuk setelah pemurnian kemudian masing-masing diinokulasikan pada medium NA atau

Mac Conkey miring untuk persiapan pengujian selanjutnya.

K. Uji Daya Hambat

Untuk mengetahui bahwa *Mikrosimensionsponscallyspongia vaginalis* tersebut mempunyai potensi sebagai bakteri antibiotik maka dilakukan uji daya hambat terhadap bakteri patogen. Ada dua jenis bakteri patogen yang digunakan pada pengujian ini antara lain *Staphylococcus aureus* (bakteri gram positif) dan *Salmonella typhi* (bakteri gram negatif).

Dalam pengujian daya hambat langkah awal yang perlu dilakukan adalah suspensi bakteri *salmonella thypi* dan *staphylococcus aureus* pada NaCl 0,9% fisiologis di ukur dengan standar Mag farlan. menginokulasi bakteri patogen menggunakan swab steril dipulaskan kesemua permukaan cawan berisi medium MHA (Multon Hilton Agar) dan disk berisi spons diletakkan diatas permukaan, control (+) antibiotik klorafenicol control (-) disk kosong kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

L. Uji Biokimia

1. Uji TSIA

Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat bakteri diambil dari stok kultur dan diinokulasikan pada medium TSIA kemudian ditusuk bagian tengah TSIA tegak. inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

2. Uji MR (Methyl Red)

Sebanyak 1 ose (ose bulat) isolat bakteri diambil dari stok kultur dan diinokulasikan pada medium MR-VP cair dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 5x24 jam pada suhu 37°C.

Sebanyak 5 tetes methyl-red ditambahkan di atas preparat isolat bakteri. Hasil positif apabila terbentuk kompleks berwarna merah muda sampai merah yang menandakan bahwa mikroba tersebut menghasilkan asam.

3. Uji VP (Voges Proskauer)

Sebanyak 1 ose (ose bulat) isolat bakteri diambil dari stok kultur dan diinokulasikan pada medium MR-VP cair dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 37°C. Medium kemudian ditambahkan 0,2 mL KOH 40% dan 0,6 mL alfa-naftol lalu dikocok selama 30 detik. Hasil positif jika medium berubah warna lembayung.

4. Uji Motilitas

Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat dari stok kultur lalu diinokulasikan dengan cara ditusuk pada medium SIM tegak, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x 24 jam. Hasil positif (motil) apabila terdapat rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (non motil) bila tidak terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum ose pada medium.

5. Uji Citrat

Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat dari stok kultur lalu diinokulasikan dengan cara sirsak kemudian di inkubasi selama 24 jam suhu 37°C

6. Uji Urea

Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat dari stok kultur lalu diinokulasikan dengan cara sirsak kemudian di

inkubasi selama 24 jam suhu 37°C.

7. Uji Katalase

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose (ose bulat) dari masing-masing stok kultur kemudian dicelupkan ke dalam reagen H₂O₂ yang telah diisi ke dalam tabung 12 reaksi. Hasil positif apabila terbentuk gelembung gas pada

ose, dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung gas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian yang diperoleh dari spons *Callyspongia vaginalis* yang kemudian di bawa ke Laboratorium Mikrobiologi Farmasi

UIT untuk di isolasi dan identifikasi mikrosimbion dan uji daya hambat maka di dapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1 : Isolasi dan Karakterisasi Mikrosimbion Spons *Callyspongia vaginalis*

Sampel	Hasil pengamatan pertumbuhan mikrosimbion pada beberapa medium spesifik			Hasil Pewarnaan Gram
	BHIB (Brain Heart Infusion Broth)	NA (Nutrien Agar)	Medium MCA (Mac Conkey Agar)	
Spons <i>Callyspongia vaginalis</i>	Keruh	Ada Pertumbuhan Bakteri	Ada Pertumbuhan Bakteri	Basil gram Negatif

Tabel 2 : Hasil Uji biokimia Mikrosimbion hasil isolat dari Spons *Callyspongia vaginalis*

Mikrosimbion	Hasil pengamatan pada beberapa tes biokimia							Ket
	TSIA	SIM	MR	VP	Urea	Citrat	Katalase	
Basil gram negatif	Acid/ Acid	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	Klebsiella Pneumoniae

Tabel 3 : Uji Daya Hambat Mikrosimbion hasil isolat dari Spons *Callyspongia vaginalis* pada bakteri patogen.

No	Perlakuan	Hasil pengamatan		Ket.
		<i>Salmonella thypi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
1	Mikrosimbion hasil isolat dari Spons <i>Callyspongia vaginalis</i>	8 mm	8 mm	Resisten
		8,5 mm	9 mm	
		8 mm	8,5 mm	
2	Control (+) Chloramfenicol (C-30)	35 mm	25 mm	Sensitive
		34,5 mm	26 mm	
		34 mm	25,5 mm	
3	Control (-) Disk Kosong	8 mm	8 mm	Resisten
		8 mm	8,5 mm	
		8,3 mm	8,5 mm	

B. Pembahasan

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri dan karakterisasi mikrosimbion pada spons *Callyspongia vaginalis*. Sampel spons dipotong kecil dan dikerok dimasukkan dalam medium BHIB(Brain Heart Infussion Broth) di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, terjadi kekeruhan pada media BHIB(Brain Heart Infussion Broth) yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri. kemudian di inokulasi pada medium Nutrient Agar dan Mac Conkey di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, ambil 1 ose koloni yang tumbuh pada isolat kemudian buat sediaan untuk pewarnaan gram atau pengecatan smear.

Pemurnian dimulai dengan memilih koloni-koloni yang disekitarnya. Mensterilkan jarum ose, lalu disentuh pada permukaan koloni bakteri kemudian diinokulasikan pada permukaan medium NA dan Mac Conkey dengan metode gores untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tahap pemurnian dapat dilakukan 2-3 kali, untuk lebih menyakinkan bahwa koloni yang terbentuk benar-benar murni atau tidak.

Klebsiella dapat tumbuh dengan baik pada medium perbenihan seperti medium MCA(Mac Conkey Agar), ciri-ciri pertumbuhan yaitu memiliki koloni besar, smooth, cembung, berwarna merah muda sampai merah bata

bersifat mucoid yaitu pada saat koloni diambil dengan ose akan kelihatan molor seperti tali atau benan (elastic).

Pada media TSIA menunjukkan hasil lereng asam, dasar asam, hidrogen sulfida (H_2S) negatif dan gas positif. TSIA memiliki prinsip untuk menentukan kemampuan organisme menyerang suatu karbohidrat yang tergabung dalam perbenihantanpa pembentukan gas, disertai penentuan kemungkinan bentuknya hidrogen sulfida (H_2S). Pembentukan hidrogen sulfida (H_2S) dari asam amino dimana pepton terdapat dalam media sedangkan pembentukan H_2S dari reaksi anorganik bahan yang mengandung 14 sulfur.

Pada media SIM hasil menunjukkan sulfur negatif, indol negatif dan motilitas negatif. Prinsip dari tes indol adalah menentukan kemampuan organisme untuk menghasilkan indol dari triptofan triptofan akan diubah oleh enzim triptofanase menjadi indol. asam piruvat dan ammonia hasil positif ditandai dengan adanya cincin merah setelah media ditetesi reagen kovaks.

MR (Methyl Red) digunakan untuk menguji kemampuan organisme menghasilkan dan mempertahankan hasil akhir asam yang stabil dari fermentase glukosa dan mengatasi sistem buffer dari perbenihan, hasil MR disebut negatif.

VP (Voges Proskauer) menunjukkan hasil negatif tes VP digunakan untuk Menentukan kemampuan beberapa organisme menghasilkan produk akhir yang netral (asetil metilkarbinol) dari fermentase glukosa, emberikan

reaksi VP (Voges Proskauer) yang positif.

Pada media Simmon Citrat Agar hasil menunjukkan positif karena terjadi perubahan warnamedia dari hijau menjadi biru. tes citrat ini menggunakan prinsip untuk menentukan apakah suatu organisme dapat menggunakan citrat sebagai sumber karbon untuk metabolisme dengan menghasilkan suasana .

Pada tes Urea menunjukkan hasil positif karena terjadi perubahan warna dari kuning menjadi pink. Uji Katalase H_2O_2 (hidrogen peroksida) ditambahkan dengan koloni kemudian dihomogenkan, dinyatakan positif karena terjadinya gelembung udara (O_2), tes katalase ini menggunakan prinsip untuk menentukan apakah suatu organisme mampu mengubah karbon untuk metabolisme dengan menghasilkan suasana. Pengujian Biokimia pada spons *Callyspongia vaginalis* menunjukkan hasil negatif berbentuk batang dan di duga *Klebsiella pneumoniae*.

Berdasarkan hasil penelitian bahwa pada Spons *Callyspongia vaginalis* yang berasal dari pulau Barang Lompo Kabupaten Jeneponto terdapat mikrosimbion jenis *Klebsiella pneumoniae* setelah dilakukan isolasi dan karakterisasi. Hasil uji daya hambat mikrosimbion hasil isolat dari spons *callyspongia vaginalis* dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* sebesar 8 mm, tetapi masih bersifat resisten bila dibandingkan disk chloramfenicol yang memiliki zona hambat 25 mm sebagai kontrol positif.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Pada Spons *Callyspongia vaginalis* yang berasal dari pulau Barang Lompo Kabupaten Jeneponto terdapat mikrosimbion jenis *Klebsiella pneumoniae* setelah dilakukan isolasi dan karakterisasi.
2. Hasil uji daya hambat mikrosimbion hasil isolat dari spons

B. Saran

1. Karakterisasi lebih lanjut untuk mendapatkan strain dapat dilakukan dengan PCR.
2. Untuk melakukan hal yang sama dengan spesies yang lain

Potensinya sebagai Antagonis *Vibrio harveyi* In Vitro, Torani, Vol.18 (3) : 211-216.

Djide, M. N., dan Wahyudin E. 2008. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Air Susu Ibu, dan Potensinya dalam Menurunkan Kadar Kolesterol secara In Vitro. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 12(3)

Dommels, Y.E.M., R.A. Kemperman, Y.E.M.P. Zebregs, and R.B. Draaisma. 2009. Survival of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in the Human gastrointestinal Tract with Daily Consumption of a Low-Fat Probiotic Spread. *Appl. Environ. Microbiol.* 75 (19) : 6198-204.

DAFTAR PUSTAKA

Belviso, S., M. Giordano, P. Dolci and G. Zeppa. 2009. In vitro cholesterol-lowering activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* strains isolated from the Italian Castelmagno PDO cheese. *Dairy Sci. Technol.* 89 : 169-175

Brooks, G.F., Butel, J.S., Morse, S.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran* Jawetz, Melnick dan Adelberg Edisi 23. Terjemahan oleh Huriawati Hartanto. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta

Djide, M. N., dan Sartini, 2008, Isolasi, Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kol *Brassica oleracea* L. dan

Irianto, K. 2014. *Bakteriologi Medis, Mikologi Medis dan Firologi Medis*, Pe 29 Alfa Beta : Bandung.

Khedid, K. dan M. 2006. Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the One Humped Camel Milk Produced in Morocco. *Microbiology Reseach*. Vol. 164: 81-91.

Lee, J., Y. Kim, H. S. Yun, J. G. Kim, S. Oh, and S. H. Kim. 2010. Genetic and Proteomic Analysis of Factors Affecting Serum Cholesterol Reduction by *Lactobacillus acidophilus* A4. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(14): 4829-4835.

- Mahdavi, A.H; H.R. Rahmani dan J. Pourreza. 2005. Effect of Probiotic Supplements on Egg Quality and Laying Hen's Performance. International Journal of Poultry Science. Vol. 4 (7): 488-492. 51
- Oren, M., L., Steindler, and M. Ilan. 2005. Endosymbiotic yeast maternally Transmitted in a marine sponge. Journal Biological Bulletin, vol. 209:94-106
- Prado, F. C., J. L. Parada, A. Pandey, and C. R. Soccol. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. Food Res. Int. 41: 111-123.
- Radji, M. 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- Ruzicka, R., dan Gleason, D.F., 2008, Variasi lintang pada ikan spongivorous dan efektifitas pertahanan kimia spons, Journal Oecologia, vol. 154 (4): 8-11
- Sari, Ramdana. 2012. Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Saluran Pencernaan Ayam Pedaging. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Shitandi, A., M. Alfred, and M. Symon. 2007. Probiotic characteristic of lactococcus strain from local fermented *Amaranthus hybridus* and *Solanum nigrum*. African Crop Science Conference Proceedings 8:1809-1812.
- Sujaya, I N., Y. Ramona, N.P. Widarini, N.P. Suariani, N.M.U. Dwipayanti, K.A. Nocianitri dan N.W. Nursini. 2008b. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. J. Vet. 9 (2) : 52 – 59.
- Tensiska, 2008, Probiotik dan Prebiotik sebagai Pangan Fungsional, Universitas Padjadjaran. Jatinegara.
- Weichselbaum, E. 2009. Probiotics health: a review of the evidence. Nutrition Bulletin. 34:340–373.