

Assesment Zona Inhibisi Bakteri Endosimbion Karang Keras *Porites* sp. di Selat Sempu, Malang Selatan

Muliawati Handayani^{1*}, Muhammad Arif Asadi², Oktiyas Muzaky Lutfi²

¹Jurusan Perikanan dan Kelautan, Politeknik Negeri Lampung

Jl. Soekarno-Hatta No.10, Rajabasa, Bandar Lampung, Lampung 35141 Indonesia

²Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

Jln. Veteran Malang, Jawa Timur, 65145 Indonesia

Corresponding author, e-mail: muliawatihandayani2020@gmail.com

ABSTRAK: *White Syndrome* (WS) merupakan salah satu jenis *coral disease* yang ditemukan di ekosistem terumbu karang di Selat Sempu, Malang Selatan. Pada umumnya WS menginfeksi karang massive, salah satunya adalah *Porites* sp. yang merupakan spesies karang terbanyak di perairan ini. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa zona hambat/ inhibisi yang terbentuk dari uji tantang bakteri endosimbion karang *Porites* sp. yang terinfeksi WS dengan bakteri endosimbion karang sehat. Pengambilan sampel dilakukan secara purposive sampling. Pendekatan mikrobiologi digunakan untuk mendapatkan kultur murni dari isolat bakteri. Kemudian, uji tantang dilakukan dengan metode overlay menggunakan difusi cakram antara bakteri endosimbion yang memiliki potensi antibakteri terhadap WS. Zona inhibisi akan terbentuk ketika bakteri dari karang sehat memiliki antibody untuk melawan bakteri penyebab karang sakit. Pasangan bakteri yang membentuk zona inhibisi terbesar berhasil identifikasi secara molekuler. Hasil BLAST isolat bakteri endosimbion pada karang sehat merujuk pada bakteri *Marinobacter vinifirmus* yang mampu menghambat isolat bakteri *Altererhytrobacter* sp. dengan zona inhibisi 6 mm.

Kata kunci: *Porites* sp.; Selat Sempu; *White Syndrome*; zona inhibisi

Assessment of the Inhibition Zone Endosymbiont Bacterial of *Porites* sp. in the Sempu Strait, South Malang

ABSTRACT: *White Syndrome* (WS) is one of the coral diseases found in the coral ecosystem in the Sempu Strait, South Malang. *Porites* sp. was dominant species in these waters infected WS. This study aims to analyze inhibition zones formed overlay of endosymbiont bacteria *Porites* sp. which are infected by WS and healthy endosymbiont coral bacteria. Specimen was collected by purposive sampling. The microbiological approach was used to obtain pure cultures from bacterial isolates. Then, challenge is using the overlay method. The inhibition zone formed when bacteria from healthy corals have antibodies to fight the bacteria that cause WS. The largest inhibition zone (6 mm) succeeded in molecular identification. The results of BLAST endosymbiont bacteria on healthy corals refers to *Marinobacter vinifirmus*, which is able to inhibit bacterial of *Altererhytrobacter* sp.

Keywords: Inhibition zone; *Porites* sp.; Sempu Strait; *White Syndrome*

PENDAHULUAN

Coral disease, yang juga dikenal sebagai 'penyakit karang', menjadi salah satu aspek yang mengancam terumbu karang dan menyebabkan kerusakan lingkungan. Penyakit karang dapat menyebar dengan sangat cepat, menyebabkan kerusakan jaringan dan menyebar pada koloni karang lainnya, menyebabkan kematian karang. Perubahan iklim yang merujuk pada peningkatan suhu perairan secara global meningkatkan kerentanan terumbu karang (Tanjung *et al.*, 2019). Pamungkas *et al.* (2014) menemukan bahwa sekitar tiga puluh persen ekosistem terumbu karang di dunia telah mengalami degradasi akibat penyakit karang selama tiga puluh tahun terakhir.

Munculnya penyakit karang diakibatkan oleh berbagai faktor, antara lain asosiasi

mikroorganisme bakteri, virus, jamur, dan protozoa. Penyakit akibat asosiasi mikroorganisme ini tidak hanya menyebabkan kerusakan jaringan karang, namun juga mampu mengakibatkan perubahan yang signifikan pada ritme internal organisme dalam proses pertumbuhan, reproduksi, keseimbangan struktur komunitas, kelimpahan organisme karang serta keanekaragamannya di suatu perairan (Wangpraseurt, 2012).

White Syndrome adalah salah satu penyakit karang yang ditemukan di ekosistem terumbu Selat Sempu. Pada umumnya WS menginfeksi karang *massive*, salah satunya adalah *Porites* sp. yang merupakan spesies karang yang paling banyak dijumpai di Perairan Malang Selatan. Menurut Hasrul, (2016), pada dasarnya WS dapat menginfeksi karang *branching* maupun karang *massive*. Ciri-ciri umum karang yang terinfeksi WS adalah munculnya bercak putih pada jaringan karang dan dapat juga membentuk garis putih yang tebal dan tidak beraturan akibat hilangnya jaringan karang. Lebih dari itu, hasil penelitian Raymundo *et al.*, (2008) juga mengungkapkan bahwa jaringan karang yang terinfeksi oleh penyakit ini memiliki ciri gradasi warna putih yang terbentuk secara melingkar.

Sempu merupakan Pulau di seberang daratan Kecamatan Sumbermanjing Wetan, Malang bagian Selatan. Pulau ini dihubungkan oleh perairan Perairan Sendang Biru yang dikenal sebagai Selat Sempu. Pulau Sempu memiliki status sebagai cagar alam, sehingga pemanfaatan pulau dan sekitarnya perlu dikelola dengan baik (Hoek dan Bayoumi, 2017). Tingginya aktivitas wisata dan penyebrangan ke pulau memungkinkan menjadi ancaman bagi ekosistem perairan (Handartoputra *et al.*, 2015). Bentuk Perairan Selat yang menghubungkan daratan kabupaten Malang dengan Pulau Sempu, membuat transportasi penyebrangan menjadi aktivitas utama dan bagian dari kegiatan wisata. Masyarakat setempat menyediakan jasa penyebrangan sebagai alternatif pencahariannya terlebih pada saat tidak musim ikan.

Penelitian Luthfi *et al.*, (2017), mengungkapkan bahwa, kesehatan ekosistem terumbu karang di Perairan Sendang Biru mengalami degradasi berupa kerusakan. Menurunnya tutupan karang di Perairan ini banyak dipengaruhi bahkan disebabkan oleh aktivitas manusia yang tidak ramah lingkungan. Hasil sampling pendahuluan di Perairan Selat Sempu banyak ditemukan karang keras jenis *Porites* sp. Jenis karang ini memiliki keunggulan dalam adaptasi terhadap lingkungan, yaitu mampu bertahan pada lingkungan yang rentan, termasuk ancaman terinfeksi WS. WS dilaporkan telah menginfeksi *Porites* sp. (Rahmi, 2013). *Porites* sp. merupakan karang yang banyak ditemukan di perairan ini. Selain itu, telah dilaporkan WS juga telah menginfeksi *Echinopora lamellosa* di perairan ini (Lutfi *et al.*, 2020).

Analisis penyebab WS pada *Porites* sp. merupakan tahapan yang harus dipenuhi untuk menentukan kajian penanggulangan penyakit ini. Untuk itu, diperlukan suatu pendekatan yang tepat secara mikrobiologi dan molekuler yang dapat menggambarkan dan menilai karakter bakteri endosimbion sebagai penyebab WS dengan melakukan mengkultur bakteri hingga mencapai *pure culture*, regenerasi bakteri dengan peremajaan, Gram staining, ujiantang dan *assessment* terhadap zona inhibisi yang terbentuk.

Karakterisasi bakteri endosimbion pada karang sehat dan karang terinfeksi WS melalui ujiantang dan menganalisis zona inhibisi yang terbentuk untuk mengetahui interaksi antar bakteri (Huda *et al.*, 2018). *Assesment* pembentukan zona hambat/ inhibisi menjadi tahapan awal dalam pengujian antibakteri skala lapangan sebagai upaya perbaikan kerusakan ekosistem karang yang diakibatkan oleh *coral disease*.

MATERI DAN METODE

Sampel dikoleksi mengacu pada metode secara *purposive sampling*. Sarana dan prasarana dalam pengambilan sampel antara lain GPS, alat selam dasar, tатаh, palu dan *coolbox*. Identifikasi karang menggunakan referensi dari Coral Finder dan identifikasi penyakit karang menggunakan *ID Cards of Coral Diseases*.

Selanjutnya alat yang digunakan dalam pendekatan mikrobiologi adalah petri disk, tabung reaksi, jarum ose dan Bunsen, sedangkan alat yang digunakan dalam pendekatan molekuler 16S rRNA meliputi perangkat isolasi, PCR, elektroforesis dan pengolahan data sekuensing dengan bioinformatic (Noer, 2021; Akihary dan Kolondam, 2020).

Material utama yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain sampel karang sakit WS dan karang sehat, air laut steril, alkohol, kertas cakram dan agar Zobell. Pembuatan media Zobell merujuk dari Usman (2015), dengan komposisi terdiri dari 0,5 gr Yeast Extract, 15 gr bubuk agar 2,5 gr Pepton dan 1000 ml air laut steril. Yeast, agar dan pepton dilarutkan dalam air laut steril.

Tahapan pengkoleksian sampel dimulai dengan survey pendahuluan untuk penentuan stasiun. Sampling *Porites* sp. yang terinfeksi WS dan *Porites* sp. yang sehat dilakukan dengan *skin dive* di kedalaman 3 – 8 meters. Sampel di keruk (*scraping*) menggunakan tатаh dan palu, kemudian di preservasi dalam plastik *ziplock* pada suhu dingin yang terkontrol hingga siap dilakukan pengujian laboratorium. Isolasi sampel dilakukan hingga pengenceran 10^{-3} . Isolasi pada dua jenis sampel dilakukan menggunakan metode sebar (*spread plate*) dan diinkubasi hingga 7 hari pada suhu terkontrol 26°C. Selanjutnya pemisahan isolat dan purnian dilakukan dengan metode gores (Putri *et al.*, 2018). *Gram staining* atau pewarnaan Gram dilakukan pada isolat yang telah murni untuk mengetahui karakter dasar bakteri endosimbion (Peter *et al.*, 2018).

Pengujian daya hambat bakteri dilakukan setelah penyetaraan konsentrasi/ kepadatan bakteri yang akan diujikan. Pengecekan dilakukan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm.

Rancang percobaan didesain merujuk pada Rancang Acak Lengkap (Susilawati, 2015), dengan 3 isolat bakteri dominan pada sampel yang sakit, dan 3 isolat bakteri dominan pada sampel yang sehat. Uji daya hambat menggunakan metode difusi kertas cakram. Pengujian dilengkapi dengan kontrol positif dari jenis antibiotik turunan ampicilin dan kontrol negatif berupa air laut steril. Aktivitas uji daya hambat dilakukan selama 1 x 24 jam, 2 x 24 jam dan 3 x 24 jam, kemudian dilakukan *assessment* zona inhibisi yang terbentuk di sekitaran kertas cakram. Pengujian dilakukan dalam dua kali pengulangan (*duplo*). Diameter zona hambat yang terbentuk merupakan rata-rata dua kali pengulangan pada masing-masing periode uji.

Pasangan isolat dari *Porites* yang sehat dan sampel dari *porites* yang terinfeksi WS dengan zona inhibisi terbesar diasumsikan sebagai pasangan sampel yang memiliki aktivitas hambat paling optimal. Pasangan sampel ini ditindaklanjuti dengan analisa secara molecular untuk mengetahui karakternya secara presisi. PCR dilakukan menggunakan primer 16S rRNA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan sampel di Perairan Selat Sempu, tepatnya di site Teluk Semut (8° 26' 22.3" LS dan 112° 40' 55.8" BT) berdasarkan pertimbangan wilayah ini merupakan tempat penyebrangan menuju Pulau Sempu; didominasi oleh karang massive *Porites* sp. dan prevalensi penyakit karang yang terjangkit WS mencapai 55,2 % atau 16 koloni dari 29 koloni karang. Sampel berupa *Porites* sp. yang terinfeksi WS di Perairan Selat Sempu (Gambar 1)



Gambar 1. Koloni karang *Porites* sp. terinfeksi WS

Pengamatan morfologi koloni bakteri menurut Varghese dan Joy (2014), berdasarkan ukuran, bentuk, elevasi, serta warna dari isolat bakteri yang tumbuh pada media agar Zobell 2216E. Isolat murni dengan pengenceran 10^{-3} dipilih berdasarkan dominasinya (Tabel 1).

Kultur isolat bakteri diinkubasi selama 3 x 24 jam dan diasumsikan sebagai masa pertumbuhan dari bakteri. Pengukuran absorbansi ini dilakukan untuk penyetaraan konsentrasi pada isolat yang akan diujiantang. Menurut Seniati, *et al.*, (2019), pengukuran absorbansi pada umumnya dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan rentang panjang gelombang 600 nm memanfaatkan gelombang cahaya tampak untuk mengukur mikroorganisme dalam larutan. Panjang gelombang 600 nm merupakan Panjang gelombang dengan tingkat ketelitian yang tinggi, dengan kekeliruan relatif sebesar 1% - 3%. Rumus menghitung populasi bakteri menggunakan SNI-01-2332-2006. Hasil pengukuran absorbansi (Tabel 2.)

Karakterisasi bakteri dilakukan untuk mengetahui morfologi bakteri dengan perlakuan pewarnaan atau pengecatan pada Gram bakteri (Peter *et al.*, 2018). Pewarnaan adalah yang paling penting pewarnaan dalam mikrobiologi dan merupakan langkah pertama dalam membedakan bakteri. Bakteri Gram positif akan memvisualisasikan warna ungu dan bakteri Gram negatif akan memvisualisasikan warna merah (Paray *et al.*, 2023). Pewarnaan Gram tersaji pada Tabel 3.

Proses uji aktivitas antipatogen ini dilakukan untuk mengetahui nilai rata-rata daya hambat isolat bakteri karang yang terinfeksi WS terhadap bakteri endosimbion karang yang sehat. Hasil pengamatan uji daya hambat selama 1 x 24 jam, 2 x 24 jam dan 3 x 24 jam tersaji pada Tabel 4.

Identifikasi molekuler bakteri dilakukan untuk mengetahui spesies bakteri endosimbion pada karang *Porites* sp. penyebab WS dan karang sehat. Sampel karang yang diambil untuk uji molekuler yaitu sampel karang sehat H-1 dan sampel karang sakit D-c karena memiliki zona inhibisi terbesar di antara sampel lainnya. Amplifikasi DNA memiliki suatu metode untuk mengetahui identitas dari sampel yang diuji, yaitu menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses ini menggunakan Primer 16S rRNA untuk menunjukkan hasil positif dari sampel dengan terbentuknya DNA dari bakteri isolat dengan panjang basa nukleotida >1000 bp.

Tabel 1. Pengamatan Morfologi bakteri endosimbion

Sampel	Ukuran	Bentuk	Elevasi	Margin
H-1	<i>Moderate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Lobate</i>
H-2	<i>Small</i>	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>
H-3	<i>Large</i>	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Lobate</i>
D-a	<i>Large</i>	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>
D-b	<i>Small</i>	<i>Irregular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>
D-c	<i>Pinpoint</i>	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>

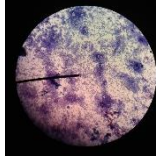
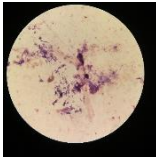
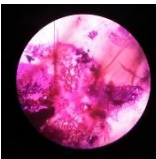
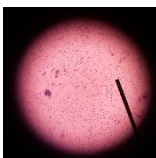
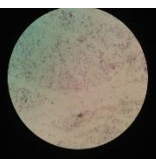
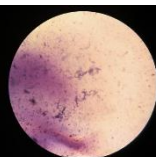
Keterangan: H = *Health* (bakteri endosimbion pada sampel karang sehat); D = *Disease* (bakteri endosimbion pada sampel karang terinfeksi WS)

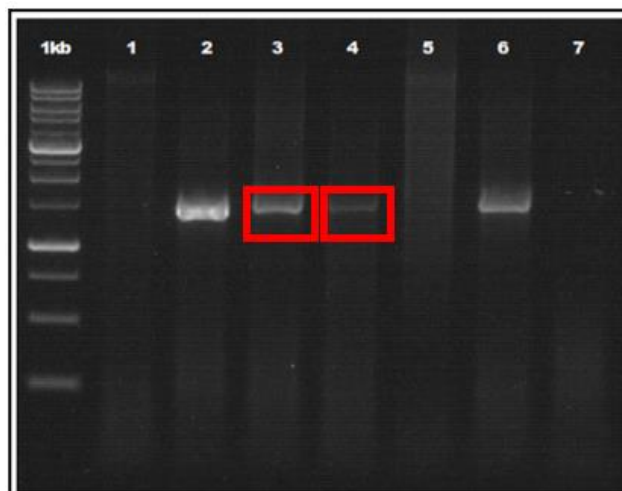
Tabel 2. Nilai absorbansi

Sampel	Nilai rata-rata absorbansi density dengan panjang gelombang 600 nm
H 1	0.670
H 2	0.221
H 3	0.457
D-a	0.552
D-b	0.501
D-c	0.550

Keterangan: H = Isolat bakteri endosimbion pada sampel karang sehat; D = Isolat bakteri endosimbion pada sampel karang terinfeksi WS

Tabel 3. Gram staining sampel bakteri endosimbion

Sampel	Gram Bakteri	Bentuk sel	Bentuk & warna
H-1	Positif		Kokus (Stafilokokkus) ungu
H-2	Positif		Basil ungu
H-3	Positif		Basil ungu
D-a	Positif		Kokus (tunggal) ungu
D-b	Positif		Kokus (Stafilokokkus) ungu
D-c	Positif		Basil ungu



Gambar 2. Elektroforesis sampel teramplifikasi PCR

Tabel 4. Pengukuran daya hambat (dalam milimeter)

Sampel	1 x 24 Jam			2 x 24 Jam			3 x 24 Jam			α	
	1	2	\bar{x}	1	2	\bar{x}	1	2	\bar{x}	a.	μ
D-a	H1	9	9	9	9	10	9.5	10	13	11.5	2
	H2	8	9	8.5	8	8	8	5	5	5	-3
	H3	9	9	9	9	9	9	15	14	14.5	4.5
	K+	15	18	16.5	14	15	14.5	5	15	10	-
	K-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
D-b	H1	9	7	8	8	6	7	5	5	5	-3
	H2	9	7	8	9	6	7.5	5	5	5	-2.5
	H3	9	8	8.5	9	7	8	5	5	5	-3.5
	K+	12	11	11.5	12	13	12.5	15	20	17.5	-
	K-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
D-c	H1	11	7	9	11	8	9.5	16	14	15	6
	H2	10	7	8.5	9	6	7.5	5	5	5	-3.5
	H3	10	8	9	10	9	9.5	13	15	14	5
	K+	13	12	12.5	13	12	12.5	14	14	14	-
	K-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-

Tabel 5. Tabel Hasil Data BLAST

Kode	bp	Bakteri	QC	Ident
H 1	460 bp	<i>Marinobacter vinifirmus</i>	100%	96%
D-c	245 bp	<i>Altererythrobacter</i> sp.	45%	100%

Visualisasi sampel uji dilakukan melalui proses elektroforesis akan ditampilkan pada berupa gambar yang terdapat pita atau *band*. Hasil elektroforesis yang didapat pada sampel H 1 (3), sedangkan pada sampel D-c (4) dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil penelusuran informasi DNA melalui proses BLAST pada situs gene bank NCBI sampel H 1 dan D-c dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. H 1 terbaca sepanjang hanya 460 bp dari panjang nukleotida sekitar 1400 bp, memiliki kekerabatan terdekat dengan bakteri *Marinobacter vinifirmus* (gi|1050996399|LT600519.1) dengan nilai ident sebesar 96%. Menurut Liebgott *et al.*, (2006) bakteri *Marinobacter vinifirmus* merupakan bakteri aerobik yang termasuk dalam genus Gammaproteobacteria. Bakteri ini hidup pada lingkungan hypersaline (perairan dengan kadar garam tinggi) dan dapat berasosiasi dengan organisme perairan salah satunya seperti karang dan ikan. Bakteri ini dapat hidup pada suhu 35°C dengan kadar pH 6 - 5.

Sampel D-c dengan terbaca sepanjang nukleotida 245 bp, memiliki homologi atau kesamaan yang dekat dengan bakteri *Altererythrobacter* sp. (gi|586831253|KF914712.1) dengan nilai ident sebesar 100% dan query coverage sebesar 45%. Menurut Li, Z.Y. *et al.*, (2016), bakteri *Altererythrobacter* sp. merupakan bakteri laut yang bersifat aerobik kuat dan termasuk dalam keluarga Erythrobacteraceae. Bakteri ini mengandung beberapa Bacteriochlorophylls (BChls) sebagai pigmen karena beradaptasi dengan lingkungan yang memiliki nutrisi yang rendah. Bakteri ini dapat ditemukan beradaptasi dengan lingkungan laut seperti sedimen, karang, ikan, dan organisme laut lainnya. Bakteri ini merupakan bakteri patogen yang dapat bersimbiosis secara berkala pada lingkungan laut yang memiliki nutrisi rendah dan kadar minyak yang cukup tinggi (Maeda *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Ditemukan empat isolat bakteri endosimbion dari sampel karang *Porites* sehat memiliki potensi anti bakteri, isolat H1 memiliki potensi anti bakteri terbesar terhadap isolat sampel terinfeksi WS D-

c dengan nilai inhibisi 6 mm. Hasil analisis BLAST isolat bakteri H 1 merujuk pada bakteri *Marinobacter vinifirmus*. Sedangkan isolat bakteri D-c merujuk pada bakteri *Altererhythrobacter* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Akihary, C.V., & Kolondam. B.J., 2020. Pemanfaatan Gen 16S rRNA Sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian-Penelitian di Indonesia. *Jurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat*, 9(1):16-22. DOI: 10.35799/pha.9.2020.27405.
- Handartoputra, Aly., Purwanti, F., & Hendrarto, B., 2015. Penilaian Kerentanan Pantai di Sendang Biru Kabupaten Malang Terhadap Variabel Oceanografi Berdasarkan Metode CVI (Coastal Vulnerability Index). *Diponegoro Journal of Maquares*, 4(1):91-97. DOI: 10.14710/marj.v4i1.7819.
- Hazrul, H., Palupi, R.D., & Ketjulan, R., 2016. Identifikasi penyakit karang (Scleractinia) di Perairan Pulau Saponda Laut, Sulawesi Tenggara. *Jurnal Sapa Laut*, 1(2): 32-41. DOI: 10.33772/jsl.v5i4
- Hoek, L.S.V.D., & Bayoumi, E.K., 2017. Importance, Destruction and Recovery of Coral Reefs. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 12(2):59-63. DOI: 10.9790/3008-1202025963.
- Huda, Fajar Miftachul, Insafitri, Efendy, Makhfud, & Wahyu, A., 2018. Karakteristik Penyakit *White Band Disease* dan *White Syndrome* Secara Visual dan Histologi Pada Karang *Acropora* sp. dari Pulau Gili Labak Sumenep Madura. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 10(3):711-718. DOI: 10.29244/jitkt.v10i3.18382.
- Li, Z.Y., Wu, Y.H., Huo, Y.Y., Cheng, H., Wang, C.S., & Xu, X.W. 2016. Complete Genome Sequence of A Benzo[a]pyrene-Degrading Bacterium *Altererhythrobacter epoxidivorans* CGMCC 1.7731 T. *Marine Genomics*, 25:39-41. DOI: 10.1016/j.margen.2015.11.009.
- Liebgott, P., Casalot, L., Paillard, S., Lorquin, J. & Labat, M., 2006. *Marinobacter vinifirmus* sp. nov., a Moderately Halophilic Bacterium Isolated from A Wine-Barrel-Decalcification Wastewater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56:2511-2516. DOI: 10.1099/ijs.0.64368-0.
- Luthfi, O.M., Handayani, M., Isdianto, A., Asadi, M.A., Atho'illah, T., & Affandi, M., 2020. Pseudomonas Community in White Syndrome Diseases of *Echinopora lamellosa* Coral at Nature Reserve Pulau Sempu, Indonesia. *Ecology Environment and Conservation*, 26(3):1368-1371.
- Luthfi, O.M., Januarsa, I.N., Fajri, H., Muhammad, F., Aji, N.A.T., Jumantry, S., Ramadhan, M.I., Algadri, G.A., Roganda, F., Rizal, M.F.A., Wicaksono, A.S., Bendang, A.S., & Christianda, A.N.P., 2017. Pemantauan Kondisi Substrat Menggunakan Metode Reef Check di Perairan Selat Sempu, Kabupaten Malang. *Jurnal Ilmu - Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 6(1):72-80. DOI: 10.13170/depik.6.1.5840.
- Maeda A.H., Nishi, S., Ishii, S., Shimane, Y., Kobayashi, H., Ichikawa, J., Kurosawa, K., Arai, W., Takami, H., & Ohta, Y., 2018. Complete genome sequence of *Altererhythrobacter* sp. strain B11, an aromatic monomer-degrading bacterium, isolated from deep-sea sediment under the seabed off Kashima, Japan. *Genome Announc*, 6: e00200-18. DOI: 10.1128/genomeA.00200-18.
- Noer, S., 2021. Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia* 1(1):1-6. DOI:10.26539/edubiologia.v1i1.8596.
- Pamungkas, Y.P., Sabdono, A., & Wijayanti, D.P., 2014. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Karang terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Karang Terserang Penyakit Ulcerative White Spots di Perairan Pulau Panjang, Jepara. *Journal of Marine Research*, 3(3):254-264. DOI: 10.14710/jmr.v3i3.5997.
- Paray, Ahmad, A., Singh, M., Mir, M.A., & Kaur, A., 2023. Gram staining: a brief review. *International Journal of Research and Review*, 10(9): 336-341. DOI: 10.52403/ijrr.20230934.
- Peter, J. A, Porotu'o. J., dan Tompodung. L., 2018. Identifikasi Bakteri dengan Menggunakan Metode Pewarnaan Gram pada Sputum Pasien Batuk Berdahak Di Puskesmas Bahu Manado Periode Agustus-Desember 2018. *Jurnal ebiomedik*, 6(2):150-154. DOI: 10.35790/ebm.v6i2.22111.

- Putri, O.L.A., & Kusdiyantini, E. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2):6-12. DOI: 10.14710/jbt.1.2.6-12.
- Rahmi, 2013. Identifikasi Penyakit Karang Pada Karang Keras (Scleractinia) Di Pulau Barrang Lompo. *Octopus Jurnal Ilmu Perikanan*, 2(2):178-183. DOI: 10.26618/octopus.v2i2.533
- Raymundo, L.J., Couch, C.S., & Harvell, C.D. 2008. Coral Disease Handbook: Guidelines for Assessment, Monitoring & Management, Coral Reef Targeted Research and Capacity Building for Management Program. The University of Queensland. Australia.
- Seniati, Marbiah & Irham, A., 2019. Pengukuran Kepadatan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Cepat dengan Menggunakan Spectrofotometer. *Agrokompleks*, 19(2):12-19 DOI: 10.51978/japp.v19i2.137.
- Tanjung, R.H.R., & Hamuna, B., 2019. Assessment of Water Quality and Pollution Index in Coastal Waters of Mimika, Indonesia. *Journal of Ecological Engineerine*, 20(2):87-94. DOI: 10.12911/22998993/95266.
- Usman, W.S., 2015. Bakteri Asosiasi Karang yang Terinfeksi Penyakit *Brown Band* (Brb) di Perairan Pulau Barranglompo Kota Makassar. Jurusan Kelautan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Wangpraseurt, D. 2012. In Situ Oxygen Dynamics in Coral-Algal Interactions. *PLoS ONE*, 7(2):1-8. DOI: 10.1371/journal.pone.0031192.