

ANALISIS BIODIVERSITAS DAN BIOPROSPEKSI BAKTERI SIMBION ANEMON LAUT SEBAGAI *ANTI-QUORUM SENSING VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS*

BASO MANGUNTUNGI



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Analisis Biodiversitas dan Bioprospeksi Bakteri Symbion Anemon Laut sebagai *Anti-Quorum Sensing Vibrio parahaemolyticus*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, April 2025

Baso Manguntungi
G3601211002

@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

BASO MANGUNTUNGI. Analisis Biodiversitas dan Bioprospeksi Bakteri Simbion Anemon Laut Sebagai *Anti-Quorum Sensing Vibrio parahaemolyticus*. Dibimbing oleh IMAN RUSMANA, APON ZAENAL MUSTOPA, dan ANJA MERYANDINI.

Udang adalah salah satu hasil laut yang paling populer dan banyak dikonsumsi di dunia. Pertumbuhan jumlah penduduk mendorong meningkatnya permintaan terhadap produk olahan udang dan sektor akuakultur. Di Asia, budidaya udang menjadi industri strategis dengan kontribusi miliaran dolar setiap tahun dalam ekspor. Di Indonesia sendiri, udang merupakan komoditas akuakultur dengan nilai ekonomi tertinggi dan mendominasi produksi di wilayah perairan payau. Salah satu yang menjadi tantangan adalah wabah penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen dari genus *Vibrio*, terutama *Vibrio parahaemolyticus*. *V. parahaemolyticus* menyebabkan *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* (AHPND) yang dapat menimbulkan kematian pada udang mencapai 100% dalam waktu yang cukup singkat. Berdasarkan hal tersebut, banyak petani menggunakan antibiotik untuk mengatasi permasalahan ini. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dapat menyebabkan resistensi, mengakibatkan masalah kesehatan dan dampak negatif bagi ekosistem perairan. Alternatif yang lebih ramah lingkungan diperlukan untuk mengatasi tantangan ini, salah satunya dengan menerapkan mekanisme *quorum sensing* (QS) dari bakteri *V. parahaemolyticus*. QS adalah sistem komunikasi yang memungkinkan bakteri mengatur perilaku kolektif berdasarkan kepadatan populasi, dan berperan penting dalam mekanisme virulensi *V. parahaemolyticus*. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan eksplorasi bakteri simbion dari anemon laut yang dapat menghasilkan enzim dan senyawa yang dapat mengganggu mekanisme QS dari *V. parahaemolyticus*.

Metode yang dilakukan dalam penelitian ini dimulai dari eksplorasi dan isolasi bakteri simbion anemon laut dari kedalaman yang berbeda. Pengambilan sampel anemon dilakukan di Pulau Samalona, Makassar, Sulawesi Selatan. Adapun spesies anemon yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Entacmaea quadricolor*, *Heteractis magnifica* dan *Stichodactyla gigantea* pada kedalaman 5 m, 10 m dan 15 m. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode sebar yang dimulai dengan teknik pengenceran menggunakan media *Zobell Marine Agar*. Bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi kemudian dilanjutkan skrining penghambatan QS dengan bakteri indikator *Chromobacterium violaceum*. Bakteri yang memiliki penghambatan tinggi diidentifikasi dengan menggunakan primer 16S rRNA dan *Whole Genome Sequencing* (WGS). Pengujian dilanjutkan terhadap uji anti-QS pada bakteri *V. parahaemolyticus*, dengan menggunakan ekstrak protein kasar dengan jenis pemurnian yang berbeda (P1: Supernatan; P2: Pengendapan Amonium Sulfat; P3: Pemurnian AKTA; P4: Pemurnian Kromatografi) dan metabolit dengan konsentrasi yang berbeda (0,4; 0,8; 1,2; 1,6 dan 2,0 mg/mL) dari *Pseudomonas alcaligenes* (bakteri dengan hasil skrining penghambatan QS *C. violaceum* tertinggi). Jenis pengujian anti-QS yang dilakukan adalah (1) penghambatan biofilm (2) penghambatan biomassa biofilm (3) penghambatan *swarming* dan *swimming* dan (4) penghambatan ekspresi gen terkait pembentukan hemolisin, mekanisme QS serta pembentukan flagela dari *V. parahaemolyticus*.

Hasil skrining awal anti-QS pada *C. violaceum* menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri simbion anemon laut menghambat produksi violacein. Penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat SG03 yang hampir sama efektifnya dengan *Bacillus subtilis* dengan nilai penghambatan sebesar 28.00 mm. Berdasarkan hasil identifikasi molekuler, isolat SG03 tersebut memiliki kemiripan 98% dengan bakteri *P. alcaligenes*. Berdasarkan hasil analisis WGS memiliki genom sebesar 6.167.140 bp, dan memiliki dua gen pendegradasi AHL, yaitu *AHL Laktonase (AiiA)* dan *AHL Asilase (pvdQ)*. Pengujian terhadap *V. parahaemolyticus* menunjukkan perlakuan dengan metabolit pada konsentrasi 2,0 mg/mL menghasilkan degradasi AHL tertinggi sebesar 86,70%, perlakuan protein P4 menghasilkan degradasi tertinggi sebesar 64,05%. Pada penghambatan pembentukan biofilm *V. parahaemolyticus*, perlakuan metabolit 2,0 mg/mL dan protein P4 menunjukkan penghambatan biofilm tertinggi masing-masing sebesar 91,06% dan 72,44%. Pada pengujian autoagregasi dan hidrofobisitas *V. parahaemolyticus*, perlakuan metabolit 2,0 mg/mL menunjukkan aktivitas autoagregasi terendah sebesar yaitu 39,92% dan hidrofobisitas terendah sebesar 50,96%. Hasil pengujian penghambatan ekspresi gen *V. parahaemolyticus* yang terkait pembentukan hemolisin, mekanisme QS dan juga pembentukan flagela, menunjukkan bahwa perlakuan metabolit 2,0 mg/mL dan protein P4 mampu menekan ekspresi gen sampai pada tingkat relatif 50%.

Metode uji kandidat probiotik *P. alcaligenes* SG03 terdiri dari uji osmotoleransi, autoagregasi, ketahanan NaCl, ketahanan pH, resistensi antibiotik, aktivitas hemolisis, proteolitik dan lipolitik. Uji osmotoleransi menunjukkan isolat *P. alcaligenes* SG03 memiliki densitas tertinggi pada konsentrasi glukosa 20%, sementara densitas menurun pada konsentrasi glukosa yang lebih tinggi. Pada pengujian autoagregasi, densitas meningkat signifikan dari 0,78 pada 18 jam menjadi 0,91 pada 48 jam. Suhu optimal untuk pertumbuhan terdeteksi pada 30°C, dengan densitas tertinggi mencapai 1,74 setelah 48 jam. Pengujian terhadap ketahanan NaCl, *P. alcaligenes* SG03 menunjukkan CFU tertinggi pada konsentrasi 2% ($20,33 \times 10^{12}$ pada 48 jam), dan pada *bile salt*, CFU tertinggi mencapai $27,00 \times 10^{12}$ pada konsentrasi 0,1%. Uji ketahanan pH menunjukkan optimal pada pH 5, dengan CFU mencapai 20×10^{12} . Uji bioaktivitas, baik antioksidan maupun antiinflamasi, meningkat seiring waktu inkubasi, dengan nilai tertinggi mencapai masing-masing 53,00% dan 60,33% pada 48 jam. Uji resistensi antibiotik menunjukkan bahwa SG03 resisten terhadap terhadap Penicilin, serta menunjukkan sifat proteolitik. Isolat ini tidak memiliki aktivitas lipolitik dan juga hemolisis. Secara keseluruhan, bakteri simbion meningkatkan kesehatan inang dan membantu melawan patogen dengan memproduksi senyawa bioaktif yang dapat mengganggu komunikasi antar bakteri melalui pemecahan molekul sinyal AHL pada *V. parahaemolyticus*. Bakteri simbion dapat mengurangi virulensi patogen dan meminimalkan risiko infeksi, sekaligus menjaga keseimbangan mikrobiota dan mendukung sistem imun inang. Keragaman mikrobiota simbion anemon membuka peluang untuk pengembangan produk probiotik dan alternatif terapeutik yang ramah lingkungan.

Kata kunci: Anemon, Bakteri Simbion, *Pseudomonas alcaligenes* SG03, *Quorum Sensing*, *Vibrio parahaemolyticus*.

SUMMARY

BASO MANGUNTUNGI. Biodiversity Analysis and Bioprospection of Sea Anemone Symbiont Bacteria as Anti-Quorum Sensing *Vibrio parahaemolyticus* Supervised by IMAN RUSMANA, APON ZAENAL MUSTOPA, and ANJA MERYANDINI.

Shrimp is one of the most popular and widely consumed seafood in the world. Population growth is driving the demand for processed shrimp products and the aquaculture sector. In Asia, shrimp farming is a strategic industry contributing billions of dollars annually in exports. In Indonesia alone, shrimp is the highest economic value aquaculture commodity and dominates production in brackish water areas. One of the challenges is disease outbreaks caused by pathogenic bacteria of the *Vibrio* genus, especially *Vibrio parahaemolyticus*. *V. parahaemolyticus* causes Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) which can cause 100% mortality in shrimp in a fairly short time. Based on this, many farmers use antibiotics to overcome this problem. Excessive use of antibiotics can cause resistance, resulting in health problems and negative impacts on aquatic ecosystems. More environmentally friendly alternatives are needed to overcome this challenge, one of which is by applying the quorum sensing (QS) mechanism of the bacterium *V. parahaemolyticus*. QS is a communication system that allows bacteria to regulate collective behavior based on population density, and plays an important role in the virulence mechanism of *V. parahaemolyticus*. This study aims to explore symbiont bacteria from sea anemones that can produce enzymes and compounds that can interfere with the QS mechanism of *V. parahaemolyticus*.

The method used in this study starts from the exploration and isolation of sea anemone symbiont bacteria from different depths. Anemone sampling was conducted in Samalona Island, Makassar, South Sulawesi. The anemone species used in this study were *Entacmaea quadricolor*, *Heteractis magnifica* and *Stichodactyla gigantea* at depths of 5 m, 10 m and 15 m. The bacteria isolation was carried out using the scatter method. Bacterial isolation was carried out using the scatter method starting with a dilution technique using Zobell Marine Agar media. Bacteria obtained from the isolation results were then screened for QS inhibition with the indicator bacterium *Chromobacterium violaceum*. Bacteria that had high inhibition were identified using 16s rRNA primers and *Whole Genome Sequencing* (WGS). The test was continued on the anti-QS test on *V. parahaemolyticus* bacteria, using crude protein extracts with different purification types (P1: Supernatant; P2: Ammonium Sulfate Precipitation; P3: AKTA purification; P4: Chromatographic Purification) and metabolites with different concentrations (0.4; 0.8; 1.2; 1.6 and 2.0 mg/mL) of *Pseudomonas alcaligenes* (bacteria with the highest QS inhibition screening results of *C. violaceum*). The types of anti-QS tests performed were (1) biofilm inhibition (2) inhibition of biofilm biomass (3) inhibition of *swarming* and swimming and (4) inhibition of gene expression related to hemolysin formation, QS mechanism and flagella formation of *V. parahaemolyticus*.

Preliminary anti-QS screening results on *C. violaceum* showed that several isolates of sea anemone symbiont bacteria inhibited violacein production. The highest inhibition was shown by isolate SG03 which was almost as effective as *Bacillus subtilis* with an inhibition value of 28.00 mm. Based on the results of

molecular identification, isolate SG03 has 98% similarity with *P. alcaligenes* bacteria. Based on the results of WGS analysis, it has a genome of 6,167,140 bp, and has two AHL degradation genes, namely AHL Lactonase (AiiA) and AHL acylase (pvdQ). Tests against *V. parahaemolyticus* showed that treatment with metabolites at a concentration of 2.0 mg/mL produced the highest AHL degradation of 86.70%, P4 protein treatment produced the highest degradation of 64.05%. In the inhibition of *V. parahaemolyticus* biofilm formation, metabolite treatment at 2.0 mg/mL and protein P4 showed the highest biofilm inhibition of 91.06% and 72.44%, respectively. In the autoaggregation and hydrophobicity tests of *V. parahaemolyticus*, the metabolite treatment of 2.0 mg/mL showed the lowest autoaggregation activity of 39.92% and the lowest hydrophobicity of 50.96%. The results of testing the inhibition of *V. parahaemolyticus* gene expression related to hemolysin formation, QS mechanism and also flagella formation, showed that the metabolite treatment of 2.0 mg/mL and P4 protein were able to suppress gene expression up to a relative level of 50%.

The test methods of probiotic candidate *P. alcaligenes* SG03 consisted of osmotolerance, autoaggregation, NaCl resistance, pH resistance, antibiotic resistance, hemolysis, proteolytic and lipolytic activities. The osmotolerance test showed that *P. alcaligenes* SG03 isolate had the highest density at 20% glucose concentration, while the density decreased at higher glucose concentrations. In the autoaggregation test, the density increased significantly from 0.78 at 18 hours to 0.91 at 48 hours. The optimal temperature for growth was detected at 30°C, with the highest density reaching 1.74 after 48 hours. Testing NaCl resistance, *P. alcaligenes* SG03 showed the highest CFU at 2% concentration (20.33×10^{12} at 48 hours), and in bile salt, the highest CFU reached 27.00×10^{12} at 0.1% concentration. The pH resistance test showed optimal at pH 5, with CFU reaching 20×10^{12} . Bioactivity tests, both antioxidant and anti-inflammatory, increased with incubation time, with the highest values reaching 53.00% and 60.33% at 48 hours, respectively. Antibiotic resistance tests showed that SG03 was resistant to Penicillin, as well as showing proteolytic properties. This isolate lacked lipolytic activity as well as hemolysis. Overall, symbiont bacteria promote host health and help fight pathogens by producing bioactive compounds that can disrupt communication between bacteria through the breakdown of AHL signaling molecules in *V. parahaemolyticus*. Symbiont bacteria can reduce pathogen virulence and minimize the risk of infection, while maintaining microbiota balance and supporting the host immune system. The diversity of anemone symbiont microbiota opens up opportunities for the development of probiotic products and environmentally friendly therapeutic alternatives.

Keywords: *Anemone, Pseudomonas alcaligenes SG03, Quorum Sensing, Symbiotic Bacteria, Vibrio parahaemolyticus*

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.





@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**ANALISIS BIODIVERSITAS DAN BIOPROSPEKSI BAKTERI
SIMBION ANEMON LAUT SEBAGAI *ANTI-QUORUM
SENSING Vibrio parahaemolyticus***

BASO MANGUNTUNGI

Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor pada
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



Judul Disertasi: Analisis Biodiversitas Dan Bioprospeksi Bakteri Simbion Anemon
Laut Sebagai *Anti-Quorum Sensing Vibrio parahaemolyticus*

Nama : Baso Manguntungi
NIM : G3601211002

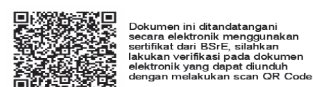
@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si.

Pembimbing 2:
Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si.

Pembimbing 3:
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S.
NIP 196203271987032001

Dekan FMIPA IPB:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP 197807232007011001



Tanggal Ujian: 17 April 2025

Tanggal Lulus: 16 Mei 2025

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada *Allah subhanaahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul **“Analisis Biodiversitas dan Bioprospeksi Bakteri Simbion Anemon Laut Sebagai *Anti-Quorum Sensing Vibrio parahaemolyticus*”**. Penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si. selaku ketua komisi pembimbing yang telah monitoring pelaksanaan penelitian dan memberikan bimbingan dan arahan selama proses penyelesaian disertasi.
2. Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si. dan Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S. selaku anggota komisi pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penelitian dan proses penyelesaian disertasi.
3. Dr. Tri Widiyanto, M.Si. dan Prof. Dr. Munti Yuhana, S.Pi., M.Si. selaku penguji luar komisi pembimbing yang telah memberikan masukan dan arahan pada penulisan disertasi.
4. Prof. Anja Meryandini, M.S. selaku ketua Program Studi Mikrobiologi yang senantiasa monitoring dan mengarahkan serta memberikan motivasi untuk kemajuan studi penulis.
5. Kementerian Keuangan Republik Indonesia yang telah memberikan beasiswa BPI (Beasiswa Pendidikan Indonesia) PUSLAPDIK KEMENDIKBUDRISTEK melalui lembaga pengelola dana pendidikan (LPDP).
6. Staf Laboratorium Pusat Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas semangat dan motivasinya pada penulis selama penelitian.
7. Teman-teman di Laboratorium Pusat Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas semangat dan motivasinya pada penulis selama penelitian.
8. Teman-teman di Program Studi Bioteknologi dan Pendidikan Biologi Universitas Sulawesi Barat serta Tim Pulu Mandoti atas motivasi, dukungan dan banyak bantuan yang diberikan selama penulis menempuh studi S3.
9. Secara khusus kepada kedua orangtua, Alm. Solong dan Ibunda ST. Hukmah, istri tercinta Annisa Suryasetya Salsabila, bapak mertua Alm. Komaruddin Suryana, ibu mertua Endang Setyawati dan saudara-saudara penulis atas doa, dukungan, kasih sayang, dan pengertian yang telah diberikan.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, April 2025

Baso Manguntungi





@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xix
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kebaruan (Novelty)	3
1.6 Ruang Lingkup Penelitian	3
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mekanisme <i>Quorum Sensing</i> dan Patogenisitas <i>V. parahaemolyticus</i> pada Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	5
2.2 Peranan <i>Quorum Sensing</i> pada Patogenisitas dan Resistensi Antibiotik <i>V. parahaemolyticus</i>	7
2.3 Keanekaragaman Bakteri Simbion Anemon	8
2.4 Analisis <i>Whole Genome Sequencing</i> (WGS) Bakteri	9
2.5 Potensi Bakteri Simbion dalam Menghasilkan Senyawa Anti-quorum Sensing (<i>Quorum Quenching</i>)	11
III EKSPLORASI POTENSI ANTI-KUORUM SENSING DARI BAKTERI SIMBION ANEMON LAUT DARI PULAU SAMALONA (KEPULAUAN SPERMONDE) DI SULAWESI SELATAN, INDONESIA	14
3.1 Abstrak	14
3.2 Pendahuluan	14
3.3 Metode	16
3.4 Hasil dan Pembahasan	18
3.5 Simpulan	31
IV POTENSI <i>Pseudomonas alcaligenes</i> 1-A-3 SG03 (SIMBIOSIS <i>Stichodactyla gigantea</i>) SEBAGAI PENGHASIL AGEN ANTI-QUORUM SENSING TERHADAP <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	32
4.1 Abstrak	32
4.2 Pendahuluan	32
4.1 Metode	34
4.4 Hasil dan Pembahasan	40
4.5 Simpulan	57
V ANALISIS DAN KARAKTERISASI GEN SERTA EVALUASI SIFAT PROBIOTIK <i>Pseudomonas alcaligenes</i> SG03	58
5.1 Abstrak	58
5.3 Latar Belakang	58
5.3 Metode Penelitian	60
5.4 Hasil dan Pembahasan	64
5.5 Simpulan	74

VI PEMBAHASAN UMUM	75
VII SIMPULAN SARAN	79
7.1 Simpulan	79
7.2 Saran	79
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN	95
RIWAYAT HIDUP	103



DAFTAR TABEL

1	Distribusi dan keanekaragaman anemon laut di Pulau Samalona	19
2	Hasil uji penghambatan produksi violacein isolat simbion anemon laut dengan menggunakan difusi agar	20
3	Hasil pengujian penghambatan produksi violacein pada <i>C. violaceum</i> oleh isolat simbion <i>S. gigantea</i>	21
4	Hasil pengujian penghambatan produksi violacein pada <i>C. violaceum</i> oleh isolat simbion <i>E. quadricolor</i>	22
5	Hasil pengujian penghambatan produksi violacein pada <i>C. violaceum</i> oleh isolat simbion <i>H. magnifica</i>	23
6	Hasil identifikasi molekuler isolat simbion anemon berdasarkan 16S rRNA	27
7	Daftar primer yang digunakan	39
8	Hasil <i>molecular docking</i> dari jenis AHL yang dipilih dan ligan asli dengan protein target N-asil homoserin lakton Asilase (PDB ID: 2WYC) bersama dengan daftar residu yang berinteraksi	42
9	Hasil <i>molecular docking</i> dari jenis <i>Acyl Homoserine Lactones</i> (AHL) yang dipilih dan ligan asli dengan protein target N-asil homoserin lakton Laktonase (PDB ID: 4G9E) beserta daftar residu yang berinteraksi	44
10	Hasil analisis (<i>Biosynthetic Gene Cluster</i>) BGC metabolit sekunder dari isolat <i>P. alcaligenes</i> sp 1-a-3 (SG03)	46
11	Hasil <i>molecular docking</i> dan interaksi residu protein <i>Acyl-homoserine Lactone synthase</i> , Esal (1KZF) dengan senyawa terpilih.	47
12	Hasil <i>molecular docking</i> dan residu interaksi protein <i>Acyl-homoserine Lactone synthase</i> , LasI (1RO5) dengan senyawa terpilih.	49
13	Hasil Uji degradasi AHL menggunakan metabolit <i>P. Alcaligenes</i> 1-a-3 SG03 terhadap aktifitas QS <i>V. parahaemolyticus</i>	50
14	Hasil Uji degradasi AHL menggunakan protein <i>P. Alcaligenes</i> 1-a-3 SG03 terhadap aktifitas QS <i>V. parahaemolyticus</i>	51
15	Hasil anotasi eggNOG terkait gen karakteristik probiotik <i>P. alcaligenes</i> SG03	65
16	Pengujian resistensi antibiotik, aktivitas proteolitik, lipolitik dan hemolisis <i>P. alcaligenes</i> SG03	70
17	Hasil pengujian aktivitas proteolitik, lipolitik dan hemolisis <i>P. alcaligenes</i> SG03	71

DAFTAR GAMBAR

1	Skema penelitian potensi bakteri simbion anemon sebagai penghasil senyawa anti-QS	4
2	Keanekaragaman Anemon laut di Pulau Samalona.	19
3	Diameter zona non-ungu dari <i>C. violaceum</i> yang diberi supernatan kultur bakteri simbion Anemon Laut	20

- 4 Persen penghambatan pembentukan biofilm pada *C. violaceum* oleh isolat simbion *S. gigantea*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 25
- 5 Persen penghambatan pembentukan biofilm pada *C. violaceum* oleh isolat simbion *E. quadricolor*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 26
- 6 Persen penghambatan pembentukan biofilm pada *C. violaceum* oleh isolat simbion *H. magnifica*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 26
- 7 Pohon filogenetik 6 isolat potensial berdasarkan 16s RNA 28
- 8 Hasil visualisasi isolat potensial simbion anemon menggunakan SEM; (A) EQ30, (B) SG03, (C) HM12, (D) HM19, (E) HM05 dan (F) EQ05 28
- 9 Hasil analisis *Whole Genome Sequencing* *P. alcaligenes* sp. 1-a-3 SG03 (A) dan lokasi gen AHL Laktonase (AiiA) dan gen AHL Asilase (pvdQ) (B) dari *P. alcaligenes* sp 1-a-3 SG03 40
- 10 Hasil analisis SDS dari *P. alcaligenes* sp. 1-a-3 SG03; P1: Supernatan ; P2: Pengendapan Amonium Sulfat ; P3: Pemurnian AKTA ; P4 : Pemurnian Kromatografi 41
- 11 Hasil analisis protein total dari *P. alcaligenes* sp. 1-a-3 SG03 41
- 12 Interaksi antara protein target *N*-asil homoserin lakton Asilase (PDB ID: 2WYC) dan (A) *N*-octanoyl-*L*-homoserine lactone (C8-HSL), (B) *N*-decanoyl-*L*-homoserine lactone (C10 -HSL), (C) *N*-(3-oxooctanoyl) -*L*-homoserine lactone (3-oxo-C8-HSL) dan (D) 3-Oxodod 43
- 13 Hasil penambatan molekuler jenis AHL terpilih dan ligan asli dengan protein target *N*-asil homoserin lakton Lactonase, *N*-heksanoil-*L*-homoserin lakton (C6-HSL) (A), *N*-(3-hidroksibutanoil) -*L*-homoserin lakton (3-OH-C4-HSL) (B), *N*-(3 oksodekanoil) - *L*-homos 45
- 14 Hasil analisis (*Biosynthetic Gene Cluster*) BGC isolat *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 46
- 15 Interaksi residu protein dari Asil-homoserin Lakton sintase, Esal (1KZF) dengan (A). 2,2'-(1,4-Piperazinediil) bis [*N*-(4-metoksifenil) suksinimida], (B). Etanon, 1- (2-klorofenil) -, 2,4-dinitrofenilhidrazon, (C). 1-(4-Acetamidoanilino) -3,7-dimetilbenz 48
- 16 Interaksi residu protein Acyl-homoserine lactone synthase, LasI (1RO5) dengan (A) 2,2'-(1,4-Piperazinediyl) bis [*N*-(4-methoxyphenyl) succinimide], (B). 2 (3H) -Furanone, 5-dodecyldihydro-. (C). 1-(4-Acetamidoanilino) -3,7-dimetilbenzo [4,5] imidazo [1], 49
- 17 Efek pemberian (A) metabolit dan (B) protein *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 terhadap penghambatan pembentukan massa biofilm pada *V. parahaemolyticus* (Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT) 51
- 18 Efek pemberian (A) metabolit dan (B) protein *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 terhadap aktivitas penghambatan metabolit biofilm pada *V. parahaemolyticus*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 52
- 19 Efek pemberian (A) metabolit dan (B) protein *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 terhadap aktivitas penghambatan autoagregasi pada *V. parahaemolyticus*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 52
- 20 Efek pemberian (A) metabolit dan (B) protein *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 terhadap aktivitas penghambatan hidrofobisitas sel pada *V. parahaemolyticus*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT 53
- 21 Efek pemberian (A) metabolit dan (B) protein *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 terhadap aktivitas penghambatan kemampuan swarming pada *V. parahaemolyticus*. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 53
- 22 Efek pemberian (A) metabolit dan (B) protein *P. alcaligenes* 1-a-3 SG03 terhadap aktivitas penghambatan *swimming cell* pada *V. parahaemolyticus* (Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT 54
- 23 Pengaruh pemberian metabolit (SG03-M) dan protein (SG03-P) terhadap ekspresi gen *V. parahaemolyticus*. (A) gen yang berhubungan dengan sintesis flagel dan sekresi hemolisin (B) gen yang berhubungan dengan QS dan (C) gen yang berhubungan dengan EPS dan sintesis protein eksopolisakarida. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 55
- 24 Hasil analisis *Clusters of Orthologous Groups of Proteins* (COGs) *P. alcaligenes* SG03 64
- 25 Hasil analisis *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *P. alcaligenes* SG03 65
- 26 Hasil uji osmo toleransi isolat *P. alcaligenes* SG03 dengan berbagai variasi konsentrasi glukosa. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 67
- 27 Uji anti agregasi isolat *P. alcaligenes* SG03 dengan lama inkubasi. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 67
- 28 Uji ketahanan suhu isolat *P. alcaligenes* SG03 dengan berbagai suhu dan lama inkubasi. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 68
- 29 Uji ketahanan NaCl isolat *P. alcaligenes* SG03 dengan berbagai konsentrasi dan lama inkubasi. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT. 68

30	Uji ketahanan <i>bile salt</i> isolat <i>P. alcaligenes</i> SG03 dengan berbagai konsentrasi dan lama inkubasi. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT.	69
31	Uji ketahanan pH isolat <i>P. alcaligenes</i> SG03 dengan berbagai tingkatan dan lama inkubasi. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT.	69
32	Uji aktivitas antioksidan dan antiinflamasi isolat <i>P. alcaligenes</i> SG03 dengan berbagai lama inkubasi. Nilai rata-rata yang memiliki huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji DMRT.	70

DAFTAR LAMPIRAN

1	Data persebaran anemon dan potensi Anti-QS dari bakteri simbion anemon	97
2	Hasil analisis genomic island dari genom <i>P. alcaligenes</i> SG03	98
3	Similaritas dan Heatmap OrthoANI <i>P. alcaligenes</i> SG03 dengan bakteri lain dalam satu genus	99
4	Hasil protein struktur <i>homology-modelling</i> dengan Swiss model dari protein AHL Laktonase	100
5	Hasil Protein struktur <i>homology-modelling</i> dengan Swiss model dari protein AHL Asilase	101
6	Hasil analisis GC-MS metabolit dan analisis <i>molecular docking</i> AHL sintase	102