

Bidang Fokus/Unggulan : Kemaritiman
Fakultas: Perikanan dan Ilmu Kelautan

LAPORAN AKHIR

(SKEMA RISET TERAPAN UNGGULAN UNSRAT)



**PROTOTIPE-AWAL MEDIUM KULTUR DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER
BAKTERI SIMBION SPONS**

KETUA DAN ANGGOTA TIM

Ir. Elvy Like Ginting, MSi, PhD	(NIDN:0011016802)
Stenly Wullur, SPi, MSc, PhD	(NIDN:0002037409)
Dr. Veibe Warouw S.Pi, MSi	(NIDN:0027027105)

**UNIVERSITAS SAM RATULANGI
OKTOBER 2019**

Dibiayai oleh:
Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Sam Ratulangi
Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi
Nomor: SP DIPA - 042.01.2.400959/2019 tanggal 5 Desember 2018



**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SAM RATULANGI**

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Alamat : Kampus UNSRAT Manado

Telp : (0431) 827560, Fax. (0431) 827560

Email : lppm@unsrat.ac.id Laman : <http://lppm.unsrat.ac.id>

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

RTUU

Judul Kegiatan **PROTOTYPE-AWAL MEDIA KULTUR DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI SIMBION
SPONS**

Ketua Peneliti

Nama Lengkap : ELVY LIKE GINTING
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi
NIP/NIK : 196801111991032001
NIDN : 0011016802
Jab. Fungsional : Lektor Kepala
Unit Kerja : Manajemen Sumberdaya Perairan
Nomor HP : 085241253745
Alamat Email : like.ginting@unsrat.ac.id
Usulan Biaya : 60.000.000
Biaya Maksimum : 51.000.000
Lama Penelitian : 6 bulan

Anggota Peneliti (1)

Nama Lengkap : STENLY WULLUR
NIP : 197403022001121003
NIDN : 0002037409
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

Anggota Peneliti (1)

Nama Lengkap : VEIBE WAROUW
NIP : 197102271995122001
NIDN : 0027027105
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

Mengetahui
Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Prof. Ir. Farnis B. Boneka, M.Sc.
NIP 195712291985031004

Manado, 16 Oktober 2019
Ketua Peneliti

ELVY LIKE GINTING
NIP 196801111991032001

Menyetujui
Ketua LPPM Universitas Sam Ratulangi

Prof. Dr. Ir. Charles L. Kaunang, MS
NIP 195910181986031002

RINGKASAN

Beberapa jenis spons mengandung senyawa bioaktif yang bersifat antitumor, antibakteri, dan antivirus. Juga dapat memproduksi enzim hidrolitik seperti kitinase. Akan tetapi jika spons diekstrak secara besar besaran untuk produksi senyawa bioaktifnya, akan bertentangan dengan kepentingan konservasi. Spons laut hidupnya bersimbiosis dengan beraneka ragam jenis bakteri. Beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan antitumor, antibakteri dan antivirus. juga penghasil enzim hidrolitik. Oleh sebab itu pemanfaatan bakteri simbiosis spons merupakan solusi yang paling baik dalam pencarian senyawa bioaktif baru dan produksi enzim.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan suatu media diperkaya yang dapat digunakan dalam menumbuhkan dan mengisolasi bakteri simbiosis spons. Media diperkaya dibutuhkan agar bakteri simbiosis spons dapat tumbuh dan berkembang secara optimal, karena ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri juga bersifat selektif untuk bakteri tertentu yang tidak diinginkan agar tidak dapat tumbuh. Bakteri simbiosis spons yang berhasil diidentifikasi selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim hidrolitik.

Spons diambil di perairan laut Teluk Manado, Sulawesi Utara. Bakteri simbiosis spons, ditumbuhkan pada beberapa medium bakteri yang diperkaya dengan kaldu spons yang berbeda konsentrasi (0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%). Bakteri yang tumbuh pada setiap media diperkaya kemudian diisolasi berdasarkan karakteristik morfologi dan dihitung jumlah koloni bebas yang tumbuh. Setelah diperoleh koloni murni, bakteri diidentifikasi secara molekuler meliputi tahapan isolasi DNA, amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR dan elektroforesis untuk melihat keberhasilan amplifikasi. Urutan DNA nukleotida dari produk hasil amplifikasi akan disekuens sebagai acuan dasar identifikasi spesies serta dibandingkan homologinya dengan data sekuens spesies bakteri yang telah ada dengan menggunakan software Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) secara online di situs GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

Bakteri simbiosis spons dari Teluk Manado telah ditumbuhkan dan diisolasi dengan menggunakan media yang mengandung 2% kaldu spons yang merupakan media diperkaya.. Isolat bakteri simbiosis telah dikarakterisasi secara morfologi dan gen 16S-rRNA bakteri tersebut berhasil diamplifikasi. Isolat SS1 memiliki kemiripan 100 % dengan *Bacillus subtilis*. Luaran yang telah dicapai dalam penelitian ini yakni telah didaftarkan paten sederhana (HAKI) berupa media pertumbuhan bakteri simbiosis. Selain itu telah diterbitkan sebagian hasil penelitian ini dalam jurnal nasional (Jurnal pesisir dan laut tropis) dan dipresentasikan dalam seminar internasional (Indonesian Operations Research Association (IORA), 2019).

Kata kunci: Bakteri, media diperkaya, simbiosis, spons

PRAKATA

Pemanfaatan bakteri simbion spons merupakan solusi yang paling baik dalam pencarian bahan-bahan bioaktif maupun enzim hidrolitik. Dalam upaya pencarian dan pemanfaatan bakteri simbion diperlukan metode/media yang cocok untuk menumbuhkan, mengisolasi serta mengkarakterisasi bakteri simbion. Di samping itu, bakteri simbion spons dari perairan Teluk Manado belum diisolasi dan diidentifikasi, sehingga identifikasi bakteri simbion dari perairan ini perlu dilakukan untuk dapat dimanfaatkan dalam mencari dan memproduksi bahan bioaktif baru.

Perguruan tinggi merupakan wadah untuk melaksanakan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat. Dan lewat pendanaan penelitian, kegiatan ini dapat terlaksanakan. Oleh sebab itu, Tim Peneliti menyampaikan banyak terima kasih atas dukungan dan bantuan yang telah diberikan oleh;

1. Kementerian Riset, Teknologi dan Perguruan Tinggi
2. Universitas Sam Ratulangi
3. Kepala Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika, FPIK Unsrat

Kiranya hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang bermanfaat dalam memanfaatkan bakteri simbion spons yang sangat potensial.

Manado, Oktober 2019

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN SAMPUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
RINGKASAN	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB. 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang	1
1.2. Perumusan masalah	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	2
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1. Tujuan Penelitian	4
3.2. Manfaat Penelitian	4
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1. Pembuatan media diperkaya	4
4.2. Kultur dan isolasi bakteri simbion	5
4.3. Identifikasi bakteri simbion	6
4.3.1. Isolasi DNA bakteri	6
4.3.2. Amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR	6
4.3.3. Elektroforesis	6
4.3.4. Sekuensing dan analisis bioinformatika	6
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	
5.1 Hasil	
5.1.1. Media dan pertumbuhan bakteri simbion spons	7
5.1.2. Amplifikasi DNA Bakteri	11
5.1.3. Sekuense DNA	13
5.2 Luaran yang Dicapai	16
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1. Kesimpulan	16
6.2. Saran	16.
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN	18

DAFTAR TABEL

Tabel	teks	Halaman
1.	Jumlah Koloni Bakteri dari Setiap Perlakuan Kaldu spons (Media Diperkaya)	8
2.	Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai <i>Drumacidon</i> sp.	9
3.	Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai <i>Cribochalina</i> sp.	11
4.	Hasil penyusunan DNA Consensus	14

DAFTAR GAMBAR

Gambar	teks	Halaman
1.	Spons yang menyerupai genus menyerupai <i>Cribochalina</i> sp dan <i>Dragmacidon</i> sp.	7
2.	Lokasi pengambilan sampel	8
3.	Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai <i>Dragmacidon</i> sp.	10
4.	Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai <i>Cribochalina</i> sp.	11
5.	Hasil Visualisasi DNA melalui UV Transluminator	12
6.	Pohon filogeni isolate bakteri SS1	16

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Spons menjadi fokus yang menarik dikarenakan dua faktor yang utama, yaitu spons mampu membentuk asosiasi dengan berbagai mikroba dan spons merupakan sumber yang kaya metabolit sekunder (Taylor, *dkk.* 2007). Faktor lingkungan laut yang beragam membuat sumber daya alam laut menarik diteliti untuk mendapatkan produk alami. Spons dikenal sebagai penghasil senyawa bioaktif, bakteri yang bersimbiosis dengan spons diduga memiliki peranan besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang telah diisolasi dari spons (Lee, *dkk.* 2001). Akan tetapi jika spons diekstrak untuk dijadikan bahan antibakteri secara besar-besaran, bertentangan dengan kepentingan konservasi spons itu sendiri.

Bakteri banyak dijumpai hidup dengan cara berasosiasi dengan berbagai organisme laut bentik, salah satunya adalah spons (Abubakar *dkk.* 2011). Kemampuan spons menghasilkan senyawa antibakteri dapat dikarenakan spons bersimbiosis dengan bakteri yang membantu proses metabolisme dan pertahanan kimiawi. Bakteri yang bersimbiosis dengan organisme kemungkinan besar banyak melakukan interaksi biokimia dengan organisme inangnya. Interaksi biokimia tersebut memungkinkan bakteri yang bersimbiosis menghasilkan zat bioaktif yang sama dengan inangnya. Sehingga beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons diperkirakan dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri dan lainnya (Pasra *dkk.*, 2011).

Pemanfaatan bakteri simbiosis spons merupakan solusi yang paling baik dalam pemanfaatan bahan bioaktif seperti antibakteri, antivirus atau antitumor tanpa akan merusak kelestarian spons. Dalam memanfaatkan bakteri simbiosis spons, diperlukan media yang cocok untuk pertumbuhan bakteri secara optimum, seperti media diperkaya. Media diperkaya adalah media yang mengandung komponen dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambah komponen kompleks. Media diperkaya juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media ini tidak hanya membutuhkan nutrisi sederhana untuk berkembang biak, tetapi membutuhkan komponen kompleks penunjang lainnya. Beberapa penelitian, menumbuhkan bakteri simbiosis spons dengan menggunakan media umum seperti Zobell 2216 E (Setyati dan Subagiyo 2012; Setyati *dkk.*, 2016), TSA (Andriyono *dkk.*, 2015) dan marine agar (Marine Agar 2216 (MA2216) (Becton Dickinson)) (Montalvo *dkk.*, 2014). Akan tetapi dalam penggunaan media tersebut, tidak mengandung spons sebagai inangnya yang dapat memberikan kontribusi nutrisi dalam pertumbuhan dan perkembangan bakteri simbiosis. Oleh sebab itu, penelitian ini akan menentukan suatu media diperkaya yang dapat menunjang

pertumbuhan dan perkembangan bakteri simbiosis spons dan dapat mengeleminir bakteri kontaminan yang pada dasarnya tidak dapat hidup pada inang spons. Media diperkaya yang dihasilkan ini merupakan prototipe-awal untuk pengembangan media diperkaya bakteri simbiosis yang dapat diproduksi untuk tujuan komersial. Selain itu, jenis bakteri simbiosis spons juga perlu diidentifikasi guna pemanfaatan lanjutan bakteri tersebut sebagai penghasil bahan bioaktif maupun enzim hidrolitik.

1.2. Perumusan Masalah

Pemanfaatan bakteri simbiosis spons merupakan solusi yang paling baik dalam pencarian bahan-bahan bioaktif seperti antibakteri baru yang sangat penting dalam bidang kesehatan/farmasi. Dalam upaya pencarian dan pemanfaatan bakteri simbiosis diperlukan media yang cocok untuk menumbuhkan, mengisolasi serta mengkarakterisasi bakteri simbiosis. Penelitian eksplorasi bakteri simbiosis yang telah dilaksanakan, masih menggunakan media yang umum sehingga bakteri simbiosis diduga belum dapat tumbuh optimal dan mudah terkontaminasi dengan bakteri lain. Agar dapat menumbuhkan bakteri simbiosis dengan optimal, diperlukan media yang diperkaya dengan substrat tempat bakteri tersebut hidup seperti spons. Oleh sebab itu, penentuan media bakteri simbiosis spons diperlukan untuk mengatasi tersebut di atas. Di samping itu, bakteri simbiosis spons dari perairan Teluk Manado belum diisolasi dan diidentifikasi, sehingga identifikasi bakteri simbiosis dari perairan ini perlu dilakukan untuk dapat dimanfaatkan dalam mencari dan memproduksi bahan bioaktif baru serta memproduksi enzim hidrolitik

2. TINJAUAN PUSTAKA

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi (nutrien) yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak pada media tersebut. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen selnya. Dengan media pertumbuhan juga bisa digunakan untuk mengisolasi bakteri, identifikasi dan membuat kultur murni. Komposisi media dapat dimanipulasi untuk tujuan isolasi dan identifikasi bakteri tertentu.

Berdasarkan fungsinya, terdapat media basal atau media dasar (media umum) yang adalah media yang digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media ini dapat mendukung pertumbuhan hampir semua jenis mikroba, contohnya nutrisi broth. Disamping itu, terdapat media diperkaya (enrichment). Media ini merupakan

media yang dirancang untuk mendukung pertumbuhan mikroba tertentu karena memiliki konstituen nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroba tertentu tersebut. Media diperkaya, ditambahkan bahan-bahan tertentu untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang diinginkan (Rakhmawati, 2012).

Guna penelitian dan pemanfaatan mikroorganisme termasuk bakteri, bakteri yang tumbuh di alam harus di kultur. Kultur bakteri adalah suatu metode memperbanyak bakteri pada media kultur /media pertumbuhan bakteri dengan pembiakan di laboratorium yang terkendali. Disisi lain, bakteri di alam umumnya tumbuh dalam populasi yang terdiri dari berbagai spesies. Oleh karena itu, untuk mendapatkan biakan murni, sumber bakteri harus diperlakukan dengan pengenceran agar didapat hanya 100-200 bakteri yang ditransfer ke medium, sehingga dapat tumbuh menjadi koloni tunggal (Pleczar dan Chan, 1986). Proses pemisahan atau pemurnian dari mikroorganisme lain perlu dilakukan karena semua pekerjaan mikrobiologis memerlukan satu populasi yang hanya terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Teknik tersebut dikenal dengan isolasi mikroba.

Biota-biota laut terutama spons, hidupnya bersimbiosis dengan beraneka ragam jenis bakteri laut. Pola makan spons yang khas yaitu *filter feeder* (menghisap dan mentoring) dapat memanfaatkan jasad renik disekitarnya satunya bakteri laut sebagai sumber nutrient yang hidup pada perairan tersebut. Myers *dkk* (2001) melaporkan bahwa terdapat hubungan simbiotik antara spons dan sejumlah bakteri dan spons, dimana spons menyediakan dukungan dan perlindungan bagi simbiannya dan simbion menyediakan makanan bagi spons.

Bakteri laut yang bersimbiosis dengan spons kemungkinan besar banyak melakukan interaksi biokimia dengan organisme inangnya. Interaksi biokimia tersebut memungkinkan bakteri yang bersimbiosis menghasilkan zat bioaktif yang sama dengan inangnya. Sehingga beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons diperkirakan dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri (Pasra *dkk*, 2011)

Bakteri yang bersimbiosis dengan spons dapat terletak di bagian ekstraseluler dan intraseluler. Pada bagian ekstraseluler terdiri atas 2 bagian yaitu ekstraseluler eksosimbiosis dan ekstraseluler endosimbiosis. Dalam memanfaatkan bakteri simbion, terutama ekstraseluler endosimbiosis sebagai penghasil bahan bioatif, bakteri simbion harus dikultur pada suatu media. Media yang dapat menumbuhkan bakteri ini harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri simbion. Keberadaan ini disebabkan karena bakteri hidup pada spons yang juga menyediakan sumber makanan baginya. Lebih lanjut Lee *dkk*, (2001) menyatakan bahwa mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons merupakan sumber makanan spons dan

mikroorganisme memakai tubuh spons yang berpori-pori sebagai inangnya untuk tempat hidup dan perlindungan

3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Dalam pemanfaatan bakteri simbiosis spons, diperlukan media yang dapat menunjang pertumbuhan dan perkembangan bakteri simbiosis secara optimal. Akan tetapi belum ditemukan informasi dan penelitian media diperkaya untuk pertumbuhan bakteri simbiosis. Untuk itu perlu dilakukan penelitian dalam menentukan media kultur bakteri simbiosis spons lewat media diperkaya. Lebih dari itu, diperlukan isolat bakteri simbiosis spons yang teridentifikasi sehingga dapat dieksplorasi dan dimanfaatkan. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan media diperkaya untuk pertumbuhan dan isolasi bakteri simbiosis spons.
2. Mendapatkan dan mengidentifikasi isolat bakteri simbiosis dengan spons.

3.2. Manfaat Penelitian

Eksplorasi dan eksploitasi bakteri simbiosis spons yang berpotensi sangat membutuhkan metode seperti media pertumbuhan yang baik. Penelitian ini bermanfaat dalam menginformasikan metode/media tersebut. Disamping itu, informasi jenis bakteri simbiosis spons sangat dibutuhkan agar nantinya bakteri tersebut dapat dimanfaatkan, seperti sebagai penghasil bahan biotif baru maupun sebagai penghasil enzim hidrolitik.

4. METODE PENELITIAN

4.1. Pembuatan media diperkaya

Spons yang digunakan dalam pembuatan media diperkaya untuk pertumbuhan bakteri diambil di perairan Teluk Manado. Spons kemudian dicuci dengan menggunakan air steril dan diblender. Hasil blender spons tersebut kemudian dimasukkan dalam botol yang bersih dan disimpan dalam kulkas untuk dapat digunakan sebagai stok kaldu spons untuk media diperkaya.

Optimalisasi pembuatan media yang diperkaya untuk pertumbuhan bakteri simbiosis spons dilaksanakan dengan membuat media yang mengandung konsentrasi kaldu spons yang berbeda dengan komposisi bahan seperti di bawah ini:

1. Media Nutrient Agar diperkaya/100mL

	Nutrient Broth	Agar	Kaldu spons	Air Laut
A	1 gr	2 gr	0.5 ml	100mL
B	1 gr	2 gr	1 ml	100m L
C	1 gr	2 gr	1.5 ml	100m L
D	1 gr	2 gr	2 ml	100mL
E	1 gr	2 gr	2.5 ml	100m L

2. Media Zobell 2216E diperkaya /100mL

	Peptone	Ekstrak yeast	Kaldu spons	Agar	Air Laut
A	0.25 gr	0.2 gr	0.5 ml	1.5 gr	100mL
B	0.25 gr	0.2 gr	1 ml	1.5 gr	100mL
C	0.25 gr	0.2 gr	1.5 gr	1.5 gr	100mL
D	0.25 gr	0.2 gr	2.ml	1.5 gr	100mL
E	0.25 gr	0.2 gr	2.5 ml	1.5 gr	100 mL

Semua bahan pada masing-masing media dicampur hingga larut secara merata dan homogen kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 60 menit. Setiap media yang telah steril, dituang secara merata di dalam cawan petri steril secara aseptik. Masing masing media kemudian didinginkan hingga mengeras dan dibungkus, selanjutnya disimpan dalam lemari es sebagai stok media diperkaya yang akan digunakan.

4.2. Kultur dan isolasi bakteri simbion

Sampel spons yang dikultur bakteri simbionnya diambil di beberapa tempat di perairan laut di Sulawesi Utara sesuai dengan keberadaan spons. Bakteri yang bersimbion dengan spons tersebut akan dikultur dengan cara:

Setiap sampel spons dicuci dengan menggunakan air laut steril. Dengan teknik aseptik spons dihomogenisasi dengan air laut steril kemudian digerus. Selanjutnya dilaksanakan pengenceran sampai dengan 10^5 dan setiap pengenceran diinokulasi ke dalam media diperkaya yang telah disiapkan di atas. Diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung dan dikarakterisasi berdasarkan karakter morfologi dan sifat gram.

Setiap koloni bebas yang tumbuh dengan karakter morfologi yang berbeda dalam setiap macam media diperkaya kemudian dibandingkan untuk melihat kesamaan.

4.3. Identifikasi bakteri simbion

4.3.1 Isolasi DNA bakteri

Isolasi DNA terhadap setiap isolat bakteri yang berhasil dikarakterisasi berdasarkan morfologinya, dilakukan dengan menggunakan Innuprep DNA mini kit (Biometra). Larutan DNA genom disimpan pada suhu -20°C untuk selanjutnya digunakan pada tahap amplifikasi gen 16S-rRNA.

4.3.2. Amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR

Primer yang digunakan adalah primer universal untuk domain bakteri berupa forward primer 63f (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') dan reverse primer 1387r (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *dkk.* 1998). Semua komponen reaksi dicampur ke dalam *microtube* dan dimasukkan ke dalam mesin PCR. Tahapan PCR terdiri dari pre-denaturasi 94°C , 2 menit; tahap denaturasi 92°C , 30 detik; tahap annealing 55°C , 30 detik, tahap elongasi 72°C selama 1 menit. Proses PCR terdiri dari 30 siklus. Selanjutnya *post* PCR pada suhu 75°C selama 20 menit dan tahap *stop* PCR pada suhu 4°C . Hasil PCR disimpan pada suhu -20°C atau langsung dielektroforesis.

4.3.3. Elektroforesis

Gel elektroforesis disiapkan dengan 0,8 % agarose dalam 1x buffer TAE (0,24 gr agarose dalam 30 ml 1xTAE) (50x tris-asetat EDTA (TAE):1 l dH₂O, 242 gr Tris-basa, 37,2 gr Na₂EDTA, 57,1 ml asam asetat glasial), dipanaskan dan setelah larut didinginkan sampai 50°C kemudian dituang pada cetakan gel. Wadah yang sudah berisi gel diberi buffer 1x TAE secukupnya kemudian memasukkan sampel hasil digesti pada sumur-sumur gel. Pada waktu elektroforesis diberikan suatu marker atau penanda molekul DNA. Elektroforesis dilakukan pada kondisi 30-40 Volt dan 28 – 29 mA dan diakhiri setelah bromofenol sampai tepi bawah gel (Aris, *dkk.* 2013). Hasil elektroforesis kemudian didokumentasi.

4.3.4. Sekuensing dan analisis bioinformatika

Produk amplifikasi gen target akan dikirim untuk disekuensi di laboratorium pelayanan sekuens DNA. Urutan-urutan nukleotida gen target yang telah disekuensi dalam bentuk chromatogram, akan dianalisa menggunakan program Seq Scanner (<http://www.appliedbiosystems.com>). Pensejajaran urutan-urutan nukleotida dilakukan dengan software Mega 7 (2014, megasoftware.net). Hasil sekuens dibandingkan homologinya dengan

data sekuens spesies bakteri yang telah ada dengan menggunakan software Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) secara online di situs GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) untuk mencari prosentasi kesamaan dengan data sekuens spesies bakteri yang telah ada di situs-situs online tersebut.

5. HASIL DAN LUARAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. HASIL

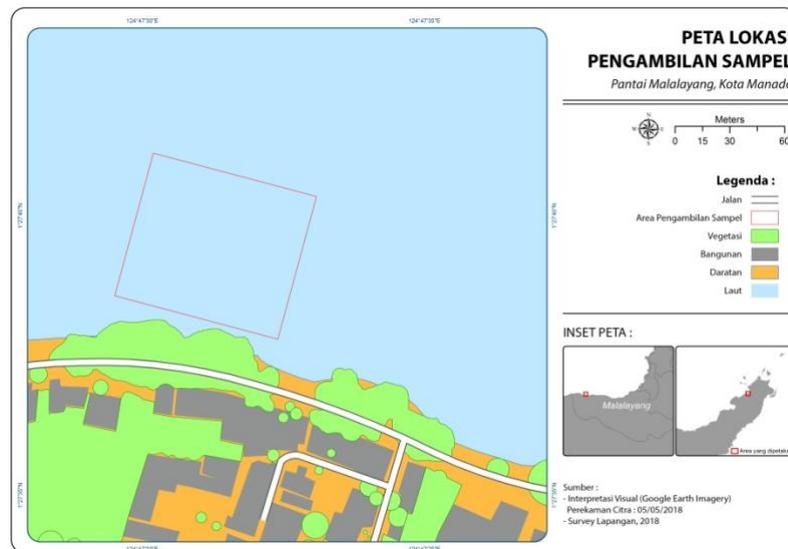
5.1.1. Media dan Pertumbuhan Bakteri simbion Spons

Sampel spons yang diambil saat penelitian ini, adalah spons yang menyerupai genus menyerupai *Cribochalina* sp dan *Dragmacidon* sp. (Gambar 1). Kedua jenis spons ini paling banyak hidup atau dijumpai diperairan teluk Manado (Gambar 2) sehingga dijadikan sampel penelitian.

Bakteri diisolasi dari spons yang menyerupai genus *Cribochalina* sp dan *Dragmacidon* sp. ini dan kaldu spons ini juga yang digunakan sebagai bahan tambahan mineral untuk media diperkaya yang digunakan dalam pertumbuhan bakteri simbion spons. Beberapa konsentrasi kaldu spons telah digunakan untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal bakteri simbion spons. Jumlah dan bentuk koloni bakteri simbion yang tumbuh dari beberapa konsentrasi kaldu spons sebagai bahan pengayaan media ditampilkan pada tabel 1.



Gambar 1. Spons yang menyerupai genus menyerupai *Cribochalina* sp dan *Dragmacidon* sp.



Gambar 2. Lokasi Pengambilan Sampel

Tabel 1. Jumlah Koloni Bakteri dari Setiap Perlakuan Kaldu spons (Media Diperkaya)

	Perlakuan					
	Kontrol	A	B	C	D	E
Jumlah koloni	2 x 10 ⁴	1 x 10 ³	2 x 10 ³	2 x 10 ³	-	-

Terlihat bahwa pertumbuhan bakteri pada media umum tanpa penambahan kaldu spons sangat banyak. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri yang bukan hidup pada tubuh spons juga bertumbuh dalam media ini. Keberdaadaan ini juga terlihat dari koloni bakteri yang tumbuh yang sulit diisolasi untuk mendapatkan koloni bebas.

Oleh sebab itu, berdasarkan hasil di atas, pembuatan media kultur bakteri simbiosis spons menggunakan penambahan kaldu spons sebanyak 2%. Adapun pembuatan media kultur tersebut adalah sebagai berikut :

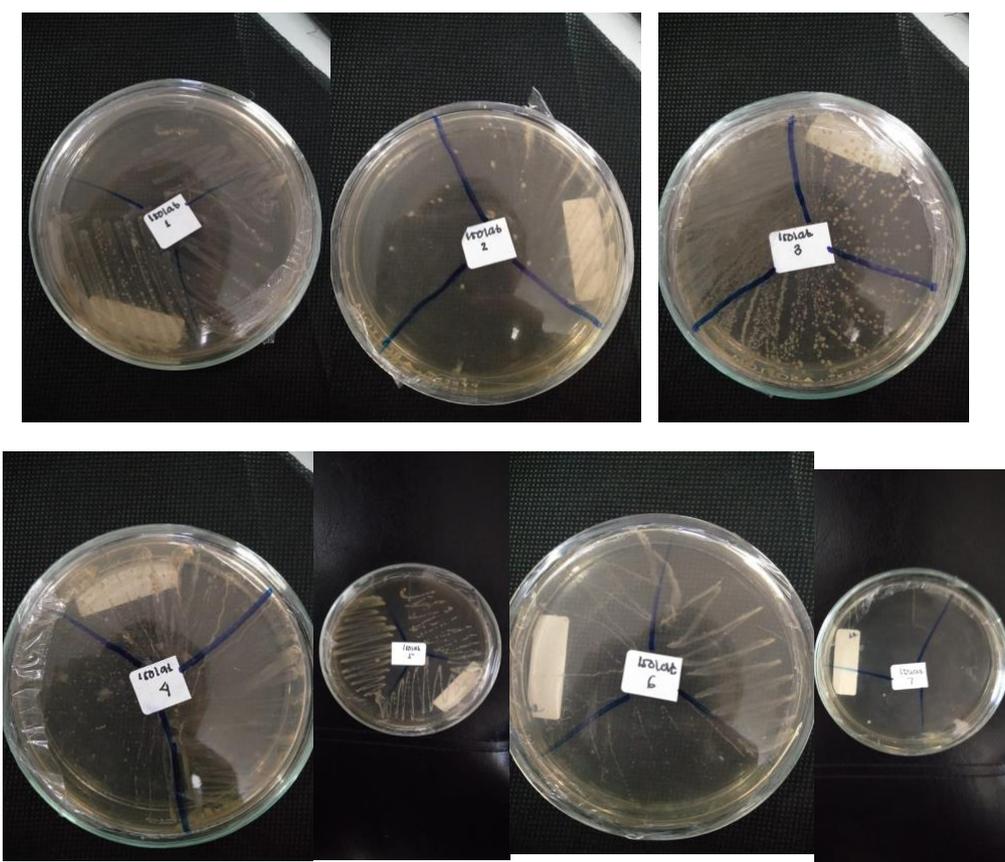
- a) ditimbang 2 gr spons (2%) dan dicuci dengan air laut. (b), digerus spons tersebut sambil menambahkan air laut steril sebanyak 50 ml (50%) (c) disaring dengan menggunakan kertas saring sehingga menghasilkan kaldu spons. (d) ditambahkan 1 gr (0.1%) Nutrient broth dan 2 gr agar (0.2%). (e) dibuat menjadi 100 ml dengan menambahkan aquadest dan

di autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. (f) dituangkan ke dalam cawan petri steril sebanyak ± 20 ml secara aseptik dan didinginkan sampai media mengeras.

Adapun bakteri simbiosis spons yang menyerupai *Cribochalina* sp. yang berhasil tumbuh dalam media diperkaya tersebut terlihat pada tabel 2 dan gambar 3.

Tabel 2. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai *Dragmacidon* sp.

Kode Isolat	Karakteristik Koloni			
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
Isolat 1	Iregular	Putih	Iregular	Convex
Isolat 2	Round	Putih	Smooth	Convex
Isolat 3	Iregular	Putih	Lobate	Flat
Isolat 4	Rhizoid	Putih	Rhizoid	Flat
Isolat 5	Filamentous	Putih	Filamentous	Flat
Isolat 6	Round	Putih	Smooth	Flat
Isolat 7	Iregular	Putih	Iregular	Flat



Gambar 3. Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai *Drasmodon* sp.

Bakteri yang bersimbiosis dengan spons yang menyerupai *Cribochalina* sp berhasil ditumbuhkan pada media NB yang ditandai dengan kekeruhan media setelah media yang diinokulasi dengan sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh juga berhasil ditumbuhkan kembali pada media NA dengan cara goresan sinambung (Gambar 4). Berdasarkan hasil pengamatan morfologi, didapatkan 5 isolat bakteri simbiosis spons yang menyerupai *Cribochalina* sp. (tabel 3).

Tabel 3. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai *Cribochalina* sp.

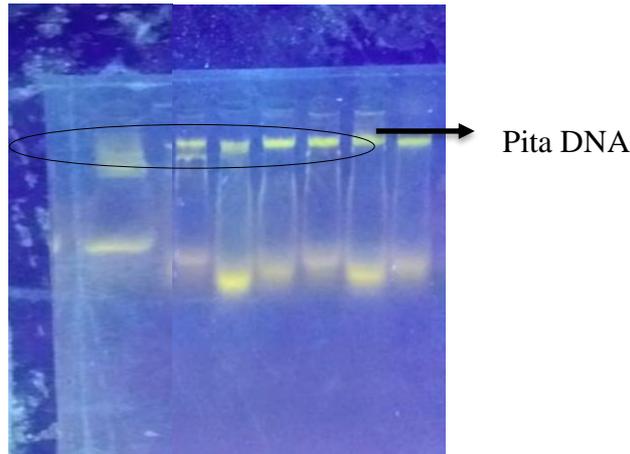
Kode Isolat	Karakteristik Koloni			
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
SS1	Filamentous	Putih	Filiform	Flat
SS2	Circular	Putih	Entire	Raised
SS3	Rhizoid	Putih	Filiform	Flat
SS4	Circular	Coklat	Undulate	Raised
SS5	Circular	Putih	Entire	Flat



Gambar 4. Isolat Bakteri dari Spons yang Menyerupai *Cribochalina* sp.

5.1.2. Amplifikasi DNA Bakteri

Isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons menyerupai *Cribochalina* sp. selanjutnya berhasil diisolasi dan diamplifikasi menggunakan Gen 16S-rRNA dengan primer 8f dan primer 1492 R . keberhasilan hasil amplifikasi telah divisualisasi lewat gel elektroforesis (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil Visualisasi DNA melalui UV Transluminator

Dari hasil visualisasi gel elektroforesis keberadaan DNA pada setiap lintasannya menandakan keberhasilan amplifikasi DNA genom pada masing-masing sampel. Terlihat bahwa pita DNA yang muncul pada masing-masing lintasan gel pada sampel S.S.1, S.S.2, S.S.3, S.S.4, S.S.5. Munculnya pita DNA pada masing-masing Lintasan gel menunjukkan keberhasilan pada masing-masing sampel dalam penelitian ini. Terlihat tampak pita DNA yang muncul pada masing-masing lintasan cukup tebal, tetapi umumnya terdapat pada posisi panjang bp yang sama sekitar 1400 bp. Hal ini menunjukkan bahwa DNA yang berhasil diisolasi adalah DNA genom dari total keseluruhan DNA dan dapat digunakan pada tahap identifikasi molekuler selanjutnya (Aprilia, dkk. 2014).

Pada masing-masing lintasan gel masih terdapat smear yang menunjukkan bahwa sampel DNA belum termurnikan secara sempurna. Hal ini disebabkan oleh polisakarida yang tertinggal dan gagal dibersihkan. Dapat dilihat juga adanya DNA yang masih tertinggal pada sumbu gel. Keberhasilan dalam amplifikasi DNA menggunakan PCR tidak terlepas dari beberapa faktor, diantaranya: kemurnian dan jumlah konsentrasi larutan PCR, primer, faktor kontaminan, dan kemurnian DNA sampel (Purnami, 2009 dalam Napitupulu, 2018).

Hal ini membuktikan bahwa komposisi reagen-reagen pada proses ini dalam kondisi optimal. Hal di atas menunjukkan bahwa proses PCR berjalan dengan baik (Suryani, dkk. 2009). Hasil tampilan pita DNA bakteri simbiosis pada spons yang menyerupai *Cribrochalina* sp yang memiliki aktivitas kitinase yang telah berhasil diamplifikasi ternyata berbeda-beda. Hal ini menandakan bahwa setiap bakteri yang bersimbiosis dengan spons memiliki karakteristik dan jenis yang berbeda.

5.1.3. Sekuensing DNA

Sekuensing DNA merupakan suatu proses pengurutan nukleotida pada suatu fragmen DNA. Hasil sekuensing DNA bakteri simbiosis dengan sponge diperoleh dalam bentuk format kromatogram yang terdiri dari primer forward dan primer reverse. Kromatogram diperoleh dalam bentuk peak yang berwarna-warni dengan nukleotida A (Adenin) berwarna hijau, nukleotida G (Guanin) berwarna hitam, nukleotida C (Citosin) berwarna biru dan nukleotida T (Timin) berwarna merah.

Berdasarkan hasil sekuensing yang dari ke lima sampel DNA bakteri simbiosis sponge, hanya 3 sampel yang berhasil disequense. Ketiga sampel tersebut masing-masing sampel SS1, SS3 dan SS5.

Proses blasting atau uji kemiripan DNA berdasarkan urutan nukleotida yang terdapat pada laman GenBank diawali dengan penyusunan DNA konsensus. DNA konsensus disunting dengan menggunakan program software Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) v6, selain itu digunakan aplikasi FinchTV untuk melihat kualitas DNA sehingga dapat memudahkan dalam proses trimming. Pemotongan basa nukleotida dilakukan untuk memperoleh kualitas nukleotida yang baik, kemudian dilanjutkan dengan proses reverse complement yaitu proses merubah arah sekuens nukleotida dari sekuens forward ke reverse maupun sebaliknya. Sekuens kemudian disejajarkan dan dipadukan dengan menggunakan MUSCLE yang terintegrasi dalam MEGA 7.

Berdasarkan hasil penyusunan DNA konsensus yang telah diubah ke dalam format pasta, diperoleh sejumlah urutan nukleotida yang tersaji pada Tabel 4. SS1 sebanyak 1380 panjang basa, SS3 292 panjang basa dan SS5 590 panjang basa.

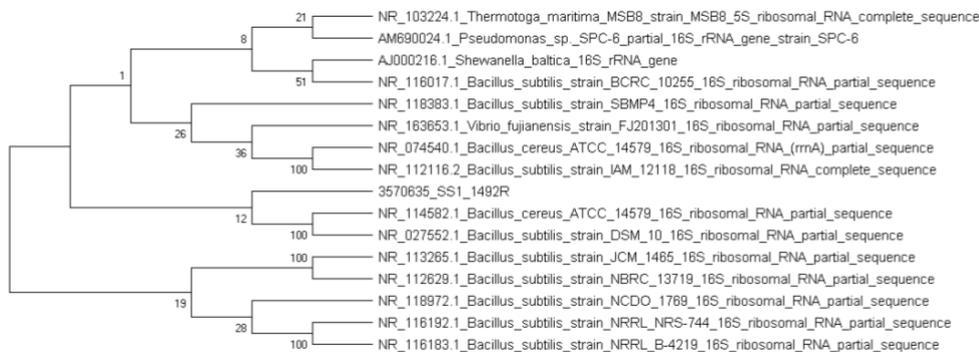
Tabel 4. Hasil penyusunan DNA Consensus

Sampel	Urutan Basa Nukleotid	Jumlah Basa
SS1	<p>ATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTA ACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGG GCTAATACCGGATGGTTGTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTG GCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGT GAGGTAACGGCTACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGT GATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGC AGCAGTAGGGAACTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGC CGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAA GAACAAGTACCGTTTCAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGA AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCA AGCGTTGTCGGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTA AGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCAATTGGAAACT GGGGAACCTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGAATTCCACGTGTAGCGGT GAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGGGACTCTCT GGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGAT TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTAGG GGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGG GGAGTACGGTGCAGAACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGC ACAAGCGGTGAGCATGTGGTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTA CCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCCTTCG GGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGTCTGTGTCGTGAG ATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCTTGATCTTAGTTGCCA GCATTAGTTGGGCACTTAAGGTGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAA GGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACA CGTGCTACAATGGACAGAACAAGGGCAGCGAAACCGCGAGGTTAAGC CAATCCACAAATCTGTTCTCAGTTCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTG CGTGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAAT ACGTTCCCGGGCCTTGACACACCCGCCGTCACACCACGAGAGTTTGA ACACCCGAAGTCGGTGAGGTA</p>	1380
SS3	<p>CCTTCGGGAGGGGGTCCCTAATAACAATGAAATCCAGCGGAAA ACAGGAGCTTGCTCCTTAATGCTACCGCCGACCGGTGATAAACTGGG TAACCTGGCTGGAAGACTGGGATTACTCCGGGGAACCATGGGGCTATAC CGGATGCTTGACTGGATCCCATGGTTCCATTGATAAAAAGAGGGTTTTA GCTGCATTAATGACCCGCTCAGTTCATTAATAATGGTGAGGTA TTGTCCTAATGCGACATGCGTACCAAAACCTGCAGGGTGATCGTCTCTC TGT</p>	292
SS5	<p>CCCATTCATTCTTTTTCTACGTCCGATCTCTTCTGACAGCT GGGGCGTTGATCCCTGCTAATGTGTTATTTAGGTGTGTAAGCGGGGAAT GCCATGAAGGGGGAGGGTGCCTGTTTCATCGGATTTTCAAGGAGA TTCCTATGTA AAAAGTTTCATCCTTACTTGTGCTTCCCAACCGAGTCC ACAAAGTTGGGGTGCCCATCCGAACATTAAGGAAGTTAATCGCTCAAT GCATGTCAAAGCATCCATGGAAAAGATCCTGACTTGCTTTATCTGGACTT TTAAATCGATGGCCGATCGGCTAGAGGAGGTTGTGTCTGGGGCGCTC TTCCGCTTCTCGTCACTGACTCCATACCCTCGGTCTTTCTTCTGCTGGG GCGGTATCACCTCACGATTTGCGGTAATACGGTTATCCTCAGAATCAA GTGATAACGCATGATAATCATGTGATCGAAGAGCCAGTTAACGTTTGA ACCTTATCATGCCGCGTTGCTCACGTTTTTCCATAAATCCGCCTTGCTG AAAAGCACAAAAGAATCTGCGCTCACATCGAACTGATGAAACCTGAC AGT</p>	590

Berdasarkan tabel di atas, terlihat urutan basa sampel SS1 berjumlah 1380, sesuai dengan panjang basa 16SrRNA bakteri yakni sekitar 1400 bp. Sedangkan urutan basa sampel SS3 dan SS5 yang tersekuens dengan baik sangat pendek sehingga belum memenuhi untuk diblast. Sampel SS1 selanjutnya dibandingkan dengan laporan urutan DNA yang

terdokumentasi di genbank NCBI. Proses pencocokan dan analisis kemiripan dilakukan dengan menggunakan laman [www. www. ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov).

Berdasarkan hasil BLAST, SS1 memiliki kemiripan dengan *Bacillus subtilis* (Accession number: MN305772.1) dengan kemiripan 100%. Hasil analisis pohon filogeni dari SS1 dengan menggunakan program MEGA 7 dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Pohon filogeni isolate bakteri SS1

Oleh sebab itu dapat dinyatakan bahwa SS1 teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom: Bacteria
Philum: Firmicutes
Kelas: Bacilli
Ordo: Bacillales
Family: Bacillaceae
Genus: *Bacillus*
Spesies: *B. subtilis*

5. 2. Luaran yang Dicapai

Luaran penelitian yang telah dicapai adalah terdaftarnya Hak Kekayaan Intelektual, dalam bentuk paten sederhana berupa media diperkaya bakteri simbiosis spons dengan nomor SID2019106311. Selain itu telah dipublikasikan dalam jurnal Pesisir dan Laut Tropis, Volume 7 Nomor 3, Tahun 2019 (Jurnal Nasional). Selain itu telah dipresentasikan dalam seminar Internasional, Indonesian Operations Research Association (IORA), 2019.

6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Media diperkaya yang digunakan untuk pertumbuhan dan isolasi bakteri simbiosis spons menggunakan media yang mengandung 2% kaldu spons. Isolat bakteri simbiosis spons yang telah dikarakterisasi secara morfologi dan gen 16S-rRNA bakteri telah berhasil diamplifikasi adalah isolat dengan kode SS1. Berdasarkan analisis hasil sekuens, SS1 memiliki kemiripan 100 % dengan *Bacillus subtilis*.

6.2. Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan lewat analisis nutrisi yang dikandung oleh media diperkaya yang dihasilkan agar dapat mengoptimalkan media diperkaya tersebut. Selain itu, perlu analisis molekuler kembali bagi isolat bakteri yang menghasilkan hasil sekuens yang kurang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, H., Wahyudi A. T., dan Yuhana. M. 2001. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. Sebagai Senyawa Anti Mikroba, Jurnal Ilmu Kelautan, 16(1):32-40.
- Andriyono, S., Jalasena, B., Tjahjaningsih, W., Pramono, H., 2015. Characterisation of symbiotic bacteria isolated from sponge *Haliclona* sp. The first International conference on life sciences and biotechnology.
- Lee, Y.K., Jung H.L., dan Hong K.L., 2001. Microbial Symbiosis in Marine Sponges, The Journal of Microbiology. 254-264 p.
- Maarisit, W., Yamazaki, H., Abdjul, D.B., Kato, H.; Rotinsulu, H., Wewengkang, D.S., Sumilat, D.A., Kapojos, M.M., Ukai, K., Namikoshi, M. 2017. Anti-mycobacterial alkaloids, cyclic 3-alkyl pyridinium dimers, from the Indonesian marine sponge *Haliclona* sp. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 27 (15): 3503–3506. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X17305644> <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.05.067>
- Marchesi, J.R, T. Sato, A.J. Weightman, T.A. Martin, J.C. Fry, S.J. Hiom dan W.G. Wade. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. Appl Environ. Microbiol 64:795-9.
- Meyers, P. 2001. Porifera, Animal Diversity Web. Accessed February 01, 2005 at Http: // Animaldiversity. Ummz. Umich. Edu/ site?accounts/ information/poritera.html.
- Montalvo, N.F., Davis, J., Vicente, J., Pittiglio, R., Ravel, J., Hill R.T. 2014. Integration of Culture-Based and Molecular Analysis of a complex sponge-associated bacterial community. Plos One, 9:1-8.
- Pastra, D. A., Melki, Surbaktii A. 2011. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung, Jurnal Maspari, 4(1): 77-82.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid I*. Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo. UI Press, Jakarta

- Rakhmawati, A. 2012. Penyiapan media mikroorganismenya. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta. 13 hal.
- Setyati, W.A., dan Subagiyo. 2012. Isolasi dan seleksi bakteri penghasil enzim ekstraseluler (proteolitik, aminolitik, lipolitik dan selulolitik) yang berasal dari sedimen kawasan mangrove. *Jurnal Ilmu Kelautan*, 17(3) 164-168.
- Setyati, W.A., Habibi, A.S., Subagiyo, Ridlo, A. Nirwani, S., Pramesti, R. 2016. Skrining dan seleksi bakteri simbiosis spons penghasil enzim ekstraseluler sebagai agen bioremediasi bahan organik dan biokontrol vibriosis pada budidaya udang. *Jurnal kelautan tropis* 19(1):11–20
- Taylor, M. W., R, Radax., D, Steger., dan M, Wagner., 2007. Sponge-Associated microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 71(2):295-347.

LAMPIRAN. Surat Tugas Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SAM RATULANGI
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Alamat : Kampus UNSRAT Manado
Telp. (0431) 827560, Fax. (0431) 827560
Email : lppm@unsrat.ac.id Laman : <http://lppm.unsrat.ac.id>

SURAT TUGAS

Nomor : *1302* /UN12.13/LT/2019

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sam Ratulangi Manado, dengan ini menugaskan kepada :

1. Nama : ELVY LIKE GINTING (Ketua)
NIP : 196801111991032001
Pangkat Gol : Pembina Tkt.I/IVb
Jabatan : Lektor Kepala
2. Nama : STENLY WULLUR (Anggota)
NIP : 197403022001121003
Pangkat Gol : Penata Muda Tkt.I/IIIb
Jabatan : Asisten Ahli
3. Nama : VEIBE WAROUW (Anggota)
NIP : 197102271995122001
Pangkat Gol : Penata Tkt.I/III d
Jabatan : Lektor

Untuk melaksanakan Penelitian Skim RISET TERAPAN UNGGULAN UNSRAT, yang di dani oleh dana Institusi tahun 2019 dengan judul : "PROTOTYPE-AWAL MEDIA KULTUR DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI SIMBION SPONS".

Demikian surat tugas ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Manado, 3 Mei 2019

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian
Kepada Masyarakat



Prof. Dr. Ir. Charles L. Kaunang, MS
NIP : 195910181986031002

Pendaftaran HKI (Paten sederhana)

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN PATEN INDONESIA APPLICATION FORM OF PATENT REGISTRATION OF INDONESIA

Data Permohonan (Application)	
Nomor e-Filing <i>Number of e-Filing</i> : WFP2019106311	Tanggal Permohonan <i>Date of Submission</i> : 2019-07-24
Nomor Permohonan <i>Number of Application</i> : SID201906301	Jumlah Klaim <i>Total Claim</i> : 1
Jenis Permohonan <i>Type of Application</i> : Paten Sederhana UMKM	Jumlah Halaman <i>Total Page</i> : 5
Judul <i>Title</i> : MEDIA DIPERKAYA DALAM KULTUR DAN ISOLASI BAKTERI SIMBION SPONS	
Abstrak <i>Abstract</i> : Invensi ini mengenai suatu metode pembuatan media diperkaya untuk menumbuhkan bakteri simbiosis. Media diperkaya ini mengandung 2 % kaldu spons sebagai nutrisi tambahan yang ditambahkan ke dalam media umum pertumbuhan bakteri (Nutrien broth). Dengan invensi ini, memungkinkan bakteri simbiosis yang potensial dapat tumbuh dengan optimal untuk kemudian dapat dimanfaatkan	

Permohonan PCT (PCT Application)	
Nomor PCT <i>PCT Number</i> :	Nomor Publikasi <i>Publication Number</i> :
Tanggal PCT <i>PCT Date</i> :	Tanggal Publikasi <i>Publication Date</i> :

Pemohon (Applicant)		
Nama (Name)	Alamat (Address)	Surel/Telp. (Email/Phone)
Sentra Kekayaan Intelektual Universitas Sam Ratulangi	Gedung LPPM Unsrat, Lt.1. Jl Kampus Unsrat, Manado, 95111, Indonesia	sentraki@unsrat.ac.id 085341940978

Penemu (Inventor)		
Nama (Name)	Alamat (Address)	Surel/Telp. (Email/Phone)
Ir. Elvy Like Gining, MSi., PhD	Jl. Tonsawang No. 11 Karombasan Utara, Kec. Wanea, Manado, 95116, Indonesia	like.ginting@unsrat.ac.id 085241253745
Stenly Wullur, SPI., MSc., PhD	Desa Dimembe Jaga IV, Kec. Dimembe, Minahasa Utara, 95373, Indonesia	stenlywullur@unsrat.ac.id 085341940978
Mayse S. Siby, SPI	Kelurahan Tanjung Merah, Kec. Matuari, Bitung, -, Indonesia	Sibymasye006@gmail.com 082296811680
Gladys G. Poluan	Kelurahan Matani 1, lingk. 5, Kec. Tomohon Tengah, Tomohon, -, Indonesia	gledyapoluan3@gmail.com 082291502919

Data Prioritas (Priority Data)		
Negara (Country)	Nomor (Number)	Tanggal (Date)

Kuasa/Konsultan KI (Representative/IP Consultant)		
Nama (Name)	Alamat (Address)	Surel/Telp. (Email/Phone)

Lampiran (Attachments)
Fotokopi KTP Klaim Abstrak

Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan

