

KARAKTERISTIK FENOTIP DAN GENOTIP MIKROSIMBION SPONS *NIPHATES SP* SEBAGAI BIOMATERIAL POTENSIAL PENDEGRADASI POLI AROMATIK HIDROKARBON

Ismail Marzuki¹⁾, Sinardi¹⁾, Asmeati²⁾

¹⁾ Dosen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Fajar, Makassar

²⁾ Dosen Teknik Mesin, Fakultas Teknik, Universitas Fajar, Makassar

ABSTRACT

Sponges are often used as a reference for pollutant bioindicators, (pollution of heavy metals and poly aromatic hydrocarbons). Porosity of the sponge body is used as host microorganisms, especially bacteria and fungi. Phenotypic characterization and symbiotic genotypes of *Niphates sp.* molecular rRNA gene 2 of *Nephates sp* as symbionts isolates showed a positive reaction to methyl red (acid producer), VR, citrate (has a genetic carrier enzyme), lactose and catalase (acidic). This data shows that both isolates of *Niphates sp* can make carbon as a nutrient source of energy: Genotypic analysis of 2 isolates of *Nephates sp* in the phases of amplification and alignment of the sample gene homolog series on the Bank gene concluded that the 2 isolates were *Bacillus cohnii* strain DSM 6307 (BC) and *Bacillus pumilus* strain GLB197 (BP). (*Fenantrena*) shows growth cell cells based on parameters of increased optical density, gas bubbles formed, changes in media pH and fermentation odor arises.

Keywords: *sponge, microsymbiont, phenotype, genotype, biodegradation, PAH*

1. PENDAHULUAN

Populasi, sebaran dan jenis spons Indonesia mencapai 65 % dari potensi dunia. Spons salah satu kekayaan laut, harus bermanfaat tinggi untuk kemaslahatan umat manusia terutama sebagai sumber pengetahuan dan penghasil senyawa spesifik berpotensi bahan primer dan sekunder untuk obat dan kosmetik, produsen dan kemampuan symbiosis berbagai macam mikroorganisme yang memiliki dua fungsi utama, yakni sebagai biodegradator PAH dan bioabsorpsi logam berat. Patut disayangkan karena potensi besar kekayaan hayati dalam pemanfaatannya di Indonesia belum maksimal sebagai sumber pengetahuan baru dan pemanfaatan sebagai sumber material tertentu. Eksplorasi dan eksploitasi spons di Indonesia baru tahap identifikasi, karakterisasi, isolasi, serta ekstraksi komponen kimia untuk tujuan tertentu dan sebagai objek pada destinasi wisata.

Beberapa metode yang telah diterapkan dalam penanganan limbah *sludge* minyak bumi termasuk jika terjadi insiden tumpahan minyak bumi akibat kecelakaan kapal tanker, kebocoran pipa distribusi minyak bumi, kegiatan transportasi laut dan darat dan sumber lainnya, seperti metode fisika (hanya memperlambat sebaran limbah, tidak mengurangi sifat racun), kimia (biaya yang mahal dan efek negatif bagi organisme lain sekitarnya) dan biologi (membutuhkan waktu cukup lama, hanya untuk skala kecil dan produk hasil olahan bersifat sementara), sehingga disimpulkan bahwa metode fisika, kimia dan biologi kurang efisien digunakan dalam menangani pencemaran limbah PAH, (Abubakar, 2009; Tam *et al.*, 2008)

Tingkat kehidupan berbagai biota laut dan terumbu karang sebagai bioindikator tingkat pencemaran yang terjadi di laut. Jenis pencemaran yang paling berpengaruh terhadap kelangsungan hidup berbagai biota dan terumbu karang adalah pencemaran logam berat, hidrokarbon khususnya golongan Poli Aromatik Hidrokarbon (PAH) dan akumulasi sampah plastik, gangguan kekeruhan akibat pergerakan arus laut, dasar laut yang berlumpur atau mungkin karena adanya perubahan fisik area laut oleh reklamasi serta masalah penggunaan bahan peledak dalam melakukan penangkapan ikan di laut. Biota seperti spons sangat sangat terganggu oleh kekeruhan dan tumpukan sampah plastik, karena kebanyakan populasi spons pada wilayah laut dangkal. Pencemaran logam berat pada tingkat tertentu dan akumulasi PAH karsinogenik dan mutagenik tetap berdampak buruk terhadap kehidupan spons, meskipun pada tubuh spons diduga mengandung zat menyerupai perilaku enzim yang dapat bertindak sebagai bioabsorpsi beberapa jenis logam berat dan juga mampu sebagai biodegradator komponen kimia hidrokarbon, (Marzuki *et al.* 2014a; Syakti *et al.*, 2013).

Kemampuan spon spon merombak struktur hidrokarbon menimbulkan berbagai pertanyaan kritis ilmiah sebagai bagian dari permasalahan penelitian yang memerlukan pemecahan, diantaranya: 1) spesies spons dan jenis mikrosimbion yang dapat mendegradasi hidrokarbon, 2) bagaimana mekanisme degradasi

¹ Korespondensi penulis: Ismail Marzuki, Telp 081241011873, ismailmz@unifa.ac.id

yang terjadi, 3) kecepatan mikrosymbion tersebut dalam merombak komponen kimia hidrokarbon, 4) kondisi yang dibutuhkan untuk terjadinya proses degradasi spons/mikrosimbion dalam mereduksi sifat toksik hidrokarbon. Permasalahan tersebut dapat dipecahkan dengan melakukan sejumlah analisis sebagai tujuan penelitian yakni: menentukan spesies mikrosimbion, mekanisme degradasi, kecepatan proses degradasi dan parameter yang menentukan degradasi dapat berlangsung maksimal. Kajian degradasi PAH menggunakan mikrosymbion urgen dilakukan mengingat bahwa beberapa jenis PAH bersifat karsinogenik, mutagenik dan toksisitas tinggi, sehingga sangat membahayakan kehidupan terhadap biota laut dan dapat terakumulasi hingga masuk dalam siklus rantai makanan yang akhirnya dapat menjadi masalah kronik terhadap kesehatan manusia. Potensi ancaman yang dapat timbul akibat pencemaran PAH baik dilaut maupun pada daratan, sehingga penelitian ini sangat urgen untuk dilakukan, terlebih lagi bahwa populasi spons Indonesia cukup besar termasuk spons pada Kepulauan Spermonde khususnya sekitar kepulauan Selat Makassar. Degradasi hidrokarbon dengan memanfaatkan mikroorganisme sebelumnya telah dilakukan menggunakan isolat dari mangrove, (Marzuki *et al.*, 2015b; 2015c; Syakti, *et al.*, 2013; Tam N.F.Y., Wong, 2008), sedangkan spons sebagai bioindikator pencemaran banyak dilakukan sebelumnya, (Venkateswara *et al.*, 2009)

2. METODE PENELITIAN

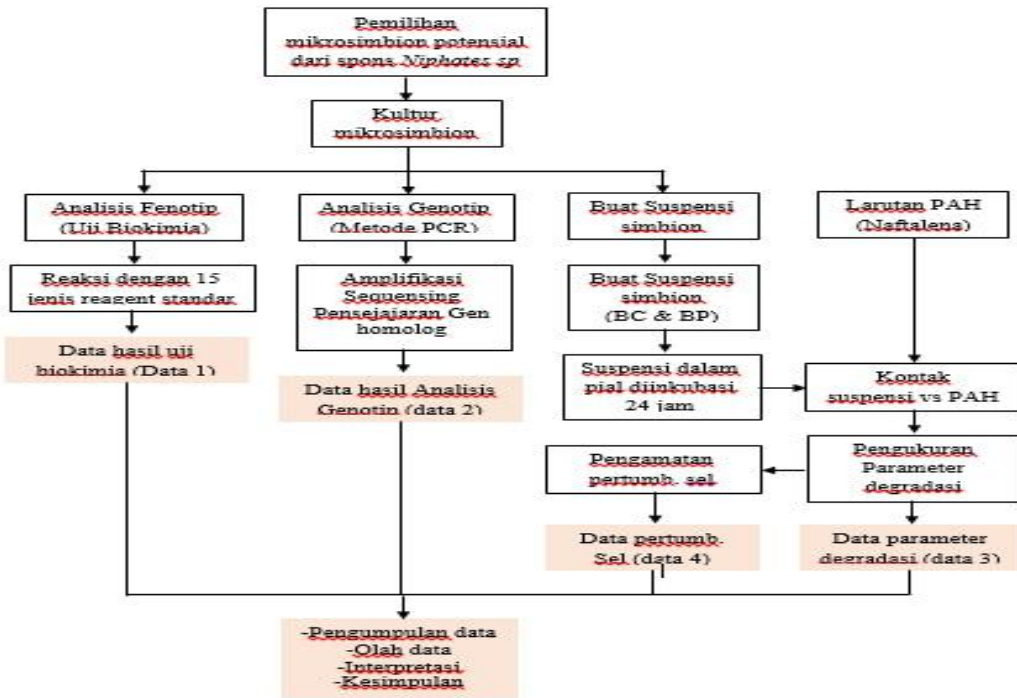
a. Material dan peralatan

Material yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat spons *Niphates sp*, Media NA, reagen uji biokimia standar, CH₃OH pa, air laut steril, Phosphate Buffer Saline (PBS), Sea Water Complit (SWC), marine agar (MA), 25% gliserol, mikro-simbion sponge isolat, formalin 4%, Aquabides, ddH₂O, chelex 20%, sepasang sekuens primer universal gen 16S rRNA *E. coli*: FP-U1 (5'-CCAGCAGCCG CGGTAATACG-3') pada nucleotides 518-537, dan RP-U2 adalah (5'-ATCGG (C/T) TACCTTGT TACGACTTC-3') sesuai dengan nukleotida 1513-1491, DNA template, Taq DNA polymerase (Perkin-Elmer, Norwalk, Conn) , PCR Mix, Triton X-100, Tris, EDTA, HCl, KCl, MgCl₂, parafin, tripofosfat deoxynucleoside, gel poliakrilamida, agarose, Ethidium Bromide, dichloromethana GR merck, methanol, Fenantrena GR, standar iso-oktan konsentrasi 691 µg/mL (CA540-84-1), standar TCL PAH 16 2000 µg/mL, Stone Mineral Salt Solution (SMSS): komposisi 1,8 g K₂HPO₄; 1,2 g KH₂PO₄; 4,0 g NH₄Cl; 0,2 g, MgSO₄.7H₂O; 0,1 g NaCl; 0,01 g FeSO₄.7H₂O; dan 1.000 mL air suling), 0,9% NaCl fisiologis.

Peralatan yang digunakan: pisau bedah, tang, pial, mikroskop haemositometer, cangkir porselen, mortir dan alu, blender, seperangkat gelas, bunsen, keseimbangan analitis, hot plate, hisap karet, Whatman, oven, freezer, botol BOD, termometer, ose bulat, effendorf 1,5 mL tabung, vortex shaker, disentrifugasi 1000 rpm, 4000 rpm dan 10.000 rpm, sendok media, pengaduk, compactor container gel, kertas pH universal, salinometer, stop watch, aliran air laminer (LAF), autoclave, filter 0.2 µm, mesin PCR (Biorad), program Bioedit, MAS-100 (Microbio-logical Air Sampler), mikropipet, filter ujung, pengendara sepeda gen, gel doc, dan elektroforesis.

b. Tahapan Aktivitas Penelitian

Metode yang diterapkan dalam pencapaian tujuan penelitian dengan melakukan tahapan kegiatan pemilihan spons *Niphates sp* hasil analisis fisiologi dan morfologi, isolasi mikrosimbion, analisis morfologi isolat, kultur simbion, analisis genotip, pembuatan suspensi simbion dan kontak suspensi simbion dengan jenis PAH tertentu untuk melihat kinerja simbion dan pengamatan terhadap parameter degradasi yang terjadi, lebih ringkas disajikan dalam Gambar 1. Diagram Alir, sebagai berikut:



Gambar 1. Diagram alir tahapan dan Aktivitas Penelitian

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Analisis Fenotip Mikrosimbion Spons

Pemilihan isolat dari spons didasarkan pada morfologi dilokasi habitatnya yakni spons yang pada bagian tubuhnya tertutup oleh lendir dengan alasan bahwa lendir yang diproduksi oleh spons sebagai bentuk mempertahankan diri dari ancaman predator termasuk pencemaran PAH. *Niphates sp* adalah salah satu spons yang seluruh permukaan tubuhnya tertutup oleh lendir. Jumlah isolat dari *Niphates sp* ada 2 jenis, keduanya merupakan isolat gram negatif berbentuk basil memanjang (isolat 1) dan basil tidak memanjang (isolat 2). Hasil analisis fenotip kedua simbiosis *Niphates sp* yakni bereaksi positif dengan kaldu laktosa dalam media fermentasi menunjukkan bahwa kedua isolat bersifat asam, demikian pula hasil reaksi positif pada uji katalase dalam media NA miring. Reaksi positif pada uji sitrat menggambarkan bahwa isolat tersebut memiliki enzim pembawa sifat genetic. Hal yang sama diperoleh hasil reaksi positif terhadap reagent MR dan VR, yang berarti bahwa kedua isolat bersifat asam, (Marzuki *et al.*, 2014b; 2016; Ismet *et al.*, 2011; Hamzah *et al.*, 2010; Ijah, 2008).

b. Analisis Genotip Mikrosimbion Spons

Analisis genotip isolat *Niphates sp* dilakukan dengan cara amplifikasi sel menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction* (PCR) dimaksudkan melihat susunan dan jumlah gen kedua isolat spons dengan mensejajarkan homolog gen sampel terhadap gen Bank melalui analisa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Ringkasan hasil BLAST disajikan dalam Tabel 1, berikut:

Tabel 1. Hasil BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) Bakteri

No	Sampel	Sekuen Sampel	Sekuen GenBank	Identitas (%)	Signifikansi (%)	Spesies
1	2	3	4	5	6	7
1	Isolat 1	21-910	608.723-609.672 (949)	911/951 (96,90%)	40/951 (4,10%)	Bacillus cohnii strain DSM 6307 (BC)
2	Isolat 2	15-913	541-1477 (936)	922/956 (96,45%)	34/956 (3,55%)	Bacillus pumilus strain GLB197 (BP)

Hasil pensejajaran dengan membandingkan sekuen sampel terhadap sekuen gen bank dengan identitas masing-masing isolat pertama: 911/951(96,90%) dan isolat kedua 922/956 (96,45%),

menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut merupakan golongan basilus dengan spesifikasi dan strain seperti pada Tabel 1 kolom 7, (Marzuki *et al.*, 2015; 2014a; Alamri, 2012; Abubakar, 2011; Cai *et al.*, 2007).

c. Komposisi Media Degradasi Suspensi Simbion *Niphates sp*

Komposisi suspensi isolat simbion *Niphates sp* yang digunakan sebagai media untuk melihat aktivitas pertumbuhan sel dalam media terkontaminasi Fenantrena dapat dilihat dalam Tabel 2, berikut:

Tabel 2. Komposisi dan Kondisi Media Uji Pertumbuhan/aktivitas Sel dalam limbah PAH oleh Mikrosymbion *Niphates sp*

No	Uraian komponen media	Jenis bakteri simbion Spons <i>Niphates sp</i>			
		BC	BP	PS	K. Negatif
1	Media pertumbuhan	SMSS	SMSS	SMSS	SMSS
2	V. media pertumbuhan	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
3	Jumlah sel bakteri	4,8.10 ³ sel/mL	3,3.10 ⁴ sel/mL	1,5.10 ¹ sel/mL	0 sel/mL
4	Volume suspensi	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
5	pH media	7	7	6,5	7
6	Temperatur kerja	Suhu kamar	suhu kamar	suhu kamar	suhu kamar
7	Waktu kontak	25 hari (setiap 5 hari dilakukan pengukuran)			
8	Kondisi kerja	aseptik	aseptik	aseptik	aseptik

Pengamatan aktivitas sel isolat dalam media degradasi terkontaminasi penantrena dilakukan dengan menentukan komposisi dan kondisi awal media degradasi dan penggunaan kontrol positif *Pseudomonas sp* dan control negatif, seperti pada Tabel 2 di atas. Hal ini dimaksudkan untuk memastikan bahwa tidak ada material yang tercampur dalam suspensi kecuali isolat, sehingga perubahan-perubahan yang terjadi hanya disebabkan oleh kerja isolat simbion terhadap degradasi fenantrena, (Marzuki *et al.*, 2015b; Ijah, 2008).

d. Parameter Degradasi PAH

Tabel 3, dan Tabel 4, merupakan hasil pengamatan parameter degradasi oleh simbion spons *Niphates sp* yang di tempatkan dalam media terkontaminasi fenantrena.

Tabel 3. Pembentukan Gelembung Gas dan Bau Fermentasi Media Degradasi Berdasarkan Waktu kontak Suspensi Simbion *Niphates sp* terhadap PAH

No	Suspensi	Perlakuan dan waktu kontak (hari)				Keterangan
		Perl. 1	Perl. 2	Perl. 3	Perl. 4	
1	Isolat BC	10	15	15	20	pembentukan gelembung gas
		15	20	15	25	bau fermentasi
2	Isolat BP	10	10	15	15	pembentukan gelembung gas
		15	20	20	20	bau fermentasi
3	Isolat PS (K. Positif)	10	15	15	15	pembentukan gelembung gas
		15	15	15	20	bau fermentasi

Keterangan:

Perl. 1 = Sampel di Shaker pada suhu kamar

Perl.2 = Sampel tidak di Shaker pada suhu kamar

Perl.3 = Sampel di Shaker pada suhu 25 °C

Perl.4 = Sampel tidak di Shaker dan ditmpatkan pada suhu 25 °C

Pembentukan gelembung gas pada hari ke 10 (perlakuan 1) untuk semua jenis isolat menunjukkan adanya aktivitas sel simbion spons, sedangkan bau fermentasi teridentifikasi dengan waktu yang ada bervariasi antara isolat disebabkan karena kinerja isolat satu terhadap lainnya berbeda dalam proses degradasi fenantrena.

Tabel 4. Perubahan pH Media Degradasi Berdasarkan Waktu Kontak Symbion *Niphates sp* terhadap PAH

No	Suspendi	Waktu kontak (hari)					
		0	5	10	15	20	25
1	Isolat BC	7	7	6	6	6	7
2	Isolat BP	7	6	6	6	7	7
3	Isolat PS (K. Positif)	7	6	6	6	6	7

Tabel 4, di atas terlihat perubahan pH menjadi 6 pada hari ke 5 dan ke 10 masa kontak menunjukkan bahwa ada aktivitas sel simbiosis *Niphates sp*, Aktivitas sel ini berupa penambahan ukuran dan penambahan jumlah sel, sehingga pH media degradasi mengalami perubahan ke sifat lebih asam, Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, (Marzuki et al., 2015b; 2015c; Hamzah et al., 2010).

Tabel 5. Kerapatan Optik Media Degradasi Berdasarkan Waktu Kontak (hari)

No.	Waktu Kontak (hari)	Optical Density (OD)			
		Isolat BC	Isolat BP	PS (K. Positif)	K. Negatif
1	0	0.008	0.007	0.007	0.002
2	5	0.027	0.029	0.031	0.003
3	10	0.089	0.092	0.095	0.003
4	15	0.121	0.120	0.124	0.004
5	20	0.129	0.128	0.126	0.005
6	25	0.133	0.131	0.131	0.006

Berdasarkan Tabel 5, di atas menunjukkan adanya peningkatan kekeruhan media degradasi, dimana kekeruhan tersebut diakibatkan oleh beberapa faktor, diantaranya: 1) bertambahnya ukuran sel isolat; 2) Jumlah sel isolat meningkat karena terjadi pembelahan sel yang diperkirakan terjadi pada masa kontak 10 hari ke atas; 3) terbentuk senyawa organik sederhana seperti gas metana dan CO₂, hasil degradasi perombakan struktur fenantrena oleh isolat. Tabel 5, di atas juga memperlihatkan terjadinya penurunan kerapatan optik pada masa kontak mulai hari ke 20 hingga hari ke 25, diperkirakan terjadi akibat sebagian dari sel isolat mati dan tidak lagi mampu melakukan pembelahan diri, (Meutia et al., 2011; Murniasih et al., 2010; Lin et al., 2008). Matinya sel isolat tersebut karena sel-sel ini tidak mampu bertahan lebih lama akibat toksisitas dari fenantrena, sedangkan sel tidak lagi membelah disebabkan karena media degradasi mengalami perubahan pH atau media tidak berada pada kondisi optimum untuk terjadinya pembelahan sel, Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, (Marzuki et al., 2015c; Acevedo et al., 2011; Komarawidjaja 2009).

4. KESIMPULAN

Karakteristik fenotip, genotip dan data parameter degradasi, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Karakteristik fenotip dua isolat spons *Niphates sp* adalah bereaksi positif dengan reagent katalase, laktase (bersifat asam), methyl merah (penghasil asam), citrate (memiliki enzim sebagai pembawa sifat genetik).
2. Karakteristik genotip berdasarkan data sekuen sampel terhadap pensejajaran homolog sekuen gen bank, kedua isolat merupakan jenis basillus dengan spesies masing-masing isolat pertama adalah *Bacillus cohnii* strain DSM 6307 (BC) dan isolat nomor 2 adalah *Bacillus pumilus* strain GLB197 (BP)
3. Kedua isolat *Niphates sp* tersebut mampu mendegradasi PHA jenis fenantrena yang didasarkan pada data parameter degradasi yakni perubahan pH media, bau fermentasi, kerapatan optik dan gelembung gas.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, H., Wahyudi, T. A., Yuhana, M., 2011. Skrining bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis sp.* sebagai penghasil senyawa antimikroba. *Jurnal Ilmu Kelautan*, vol. 16 (1):35-40
- Acevedo, Francisca, Leticia Pizzul, María del Pilar Castilloc, Raphael Cuevas, María, C. Diez. 2011. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the Chilean white-rot fungus *Anthracozyllum discolor*. *J. of Hazardous Materials*, vol. 185:212-219
- Alamri, A. Saad, 2012. Biodegradation of microcystin-RR by *Bacillus flexus* isolated from a Saudi freshwater lake. Published online- doi:[10.1016/j.sjbs.2012.06.006](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.06.006). *Saudi Journal Biol Sci*, vol. 19 (4):435-440

- Cai, Quan-Ying, Ce-Hui Mo, Qi-Tang Wu, Qiao-Yun Zeng, Athanasios Katsoyiannis, Jean-Francois F'erard, 2007. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated sewage sludge by different composting processes. *Journal of Hazardous Materials*, vol. 142:535-542
- Hamzah, A., Rabu, A., Farzarul, R., Azmy, R.H., 2010. Isolation and characterization of bacteria degrading Sumandak and South Angsi Oils. *Jurnal Sains Malaysiana*, vol. 39 (2):161-168
- Ijah U. J. J., and L. I. Ukpe. 2008. Biodegradation of Crude Oil by Bacillus Strain 28A and 61B Isolated from Oil Spilled Soil. *Waste Management Journal* vol. 12:55-60
- Ismet, S.M., Soedharma, D., Effendi, H., 2011. Morphology and cell biomass of sponge *Aaptos aaptos* and *Petrosia* sp., *J. Ilmu Tek.Kelautan Tropis*. vol. 3 (2): 153-161
- Komarawidjaja, W., 2009. Karakteristik dan pertumbuhan konsorsium mikroba lokal dalam media mengandung minyak bumi, *Jurnal Teknologi Lingkungan*, vol. 10 (1): 114-119
- Lin, Y., and L. X. Cai, 2008. PAH-degrading microbial consortium and its pyrene-degrading plasmids from mangrove sediment samples in Huian, China. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 57:703–706
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2014a. Isolation and Identification on Degradator Bacterial of Petroleum waste which Symbionts with Sponge *Callyspongis* sp from Melawai Beach. *Proceeding: International Confrence on the sciences (ICOS)*, 19-20 Nopember 2014, Makassar, ISBN : 9786027219809, pp. 493-503, DOI: [10.17605/OSF.IO/PZVKC](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/PZVKC)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2014b. Isolation and identification Bacterial Symbionts of sponge as Producer enzyme amylase from Melawai Beach, Balikpapan, *Jurnal dr.Aloei Saboe*, vol.1 (1):11-18, DOI : [10.17605/OSF.IO/R4JYA](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/R4JYA)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2015a, Molecular characterization of gene 16S rRNA micro symbionts in sponge at Melawai Beach, East Kalimantan, *Journal Marina Chimica Acta*, 16 (1):38-46, DOI: [10.17605/OSF.IO/XKP9B](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/XKP9B)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2015b, The potensi biodegradation hydrocarbons of petroleum sludge Waste by cell biomassa sponge *Callyspongia* sp, *Journal Marina Chimica Acta*, 16 (2):11-20, DOI: [10.17605/OSF.IO/RCNDW](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/RCNDW)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2015c, Sponge role in alleviating oil pollution through sludge reduction, a preliminary approach, *Int. Journal of Applied Chemistry*, 11 (4):427-441, DOI: [10.17605/OSF.IO/S9HTG](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/S9HTG)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2016. Microsymbiont and Morphological Phenotype Analysis Marine Sponge Biomass From Melawai Beach, Balikpapan, East Kalimantan, *Journal Marina Chimica Acta*, 17 (1):8-15, DOI: [10.17605/OSF.IO/P73EN](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/P73EN)
- Meutia, S.P., Soedharma, D., Effendi, H., 2011. Morfologi dan biomassa sel spons *Aaptos aaptos* dan *Petrosia* sp. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelutan Tropis*, vol. 3, (2):153-161
- Murniasih. T., dan Rasyid, A., 2010. Potensi bakteri yang berasosiasi dengan spons asal Barrang Lompo-Makassar sebagai sumber bahan anti bakteri, *Jurnal Oseanologi dan Limnologi*, vol. 36 (3):281-292
- Syakti, D. A., Yani, M., Hidayati, V.N., Siregar, S.A. Doumeng, P., I.M. Sudiana, M., 2013. The Bioremediation potential of hydrocarbonoclastic bacteria isolated from a Mangrove Contaminated by Petroleum Hydrocarbons on the Cilacap Coast, Indonesia. *J.Bioremediation*, vol. 17 (1):11–20, online. DOI: 10.1080. 731446
- Tam, N.F.Y and Wong, Y.S., 2008. Effectiveness of bacterial inoculum and mangrove plants on remediation of sediment contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, *Marine Pollution Bulletin*, vol. 57:716-728
- Venkateswara, Rao, J., K. Srikanth., Usman, P.K., 2009. The Use of marine sponge, *haliclona tenuiramosa* as bioindicator to monitor heavy metal pollution in The Coasts of Gulf Mannar, India. *Environ Monit Assess*, *Journal Springer*, vol. 156: 451-459

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kemenristekdikti, yang telah memberikan pendanaan dalam pelaksanaan penelitian ini.