

TEKNIK PENANGANAN SAMPEL UNTUK ANALISIS BAKTERI

Nurjanna, Ahmaddirrahman Fajrihanif, dan Haryani

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau, Maros

ABSTRAK

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana cara penanganan sampel bakteri yang baik dan benar mulai dari pengambilan sampel dari lapangan sampai tiba di laboratorium, sebagai tindakan meminimalkan populasi bakteri yang terdapat dalam sampel yang akan dianalisis. Cara yang digunakan, yaitu pengambilan sampel air ke dalam botol steril lalu disimpan dalam kantong tanpa menggunakan bongkahan batu es, sampel lainnya disimpan dalam *cool box* dengan menggunakan bongkahan batu es. Kedua cara penanganan sampel ini masing-masing ditanam (diinokulasi) pada media agar tumbuh TCBSA (*Tiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*) dan TSA (*Tryptic Soy Agar*). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa cara penanganan sampel menggunakan *cool box* dan bongkahan batu es populasi bakterinya lebih kecil, baik dari populasi total bakteri vibrio (TBV) maupun dari total *plate count* (TPC) dibandingkan dengan menggunakan kantong plastik tanpa menggunakan batu es.

KATA KUNCI: sampel air, populasi bakteri, batu es

PENDAHULUAN

Sampel air maupun sedimen tambak yang akan dianalisis populasi bakteri dapat menggunakan bermacam-macam media tumbuh (Hadioetomo, 1993), tetapi untuk perhitungan populasi bakteri air, sedimen maupun tanah tambak umumnya digunakan media agar tumbuh *Tryptic Soy Agar* (TSA) dan *Tiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA) (Nurjanna, 2004; 2009). Seiring dengan sering munculnya bibit penyakit yang menyerang ikan/udang budidaya di tambak maupun bak-bak tandon yang akan disalurkan ke tambak atau larva dalam bak pemeliharaan larva yang menggunakan alat yang dilengkapi dengan alat membran dan ozon, sebelum penebaran terlebih dahulu dilakukan *sampling* awal untuk melihat populasi bakterinya (Benson, 1985). Beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain suhu, lingkungan, gas beracun (H_2S), pH harus dipertimbangkan di dalam penyediaan spesies bakteri (Michael *et al.*, 1986 dalam Nurjanna, 2010).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan: air, batu es, media TSA, TCBSA, dan NaCl.

Alat yang digunakan: pipet *multi channel* 1.000 μ L & 100 μ L, vortex, bunsen, cawan petri, tip kuning & biru, erlenmeyer, timbangan analitik, nampan, *autoclave*, inkubator.

Metode

Persiapan media tumbuh dan larutan pengencer untuk inokulasi bakteri.

Tryptic Soy Agar

Media agar TSA ditimbang sebanyak 16 g ditambahkan dengan NaCl sebanyak 1,5% masukkan dalam erlenmeyer dilarutkan dengan *aquadest* steril panaskan di atas *hotplate stirrer*. Setelah media larut dan bening angkat dan sterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C, matikan dan keluarkan setelah suhu kurang lebih 50°C tuang ke dalam cawan petridish sebanyak 20 mL/cawan.

Tiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar

Media agar TCBSA ditimbang sebanyak 35,6 g masukkan dalam erlenmeyer dilarutkan dengan *aquadest* steril, panaskan di atas *hotplate stirrer* sampai larut dan mendidih angkat dan dinginkan hingga suhu mencapai kurang lebih 50°C tuang ke masing-masing cawan petridish sebanyak 20 mL/cawan.

Larutan Fisiologis 0,85%

Sebanyak 4,25 g NaCl dilarutkan dalam *aquadest* dipipet ke masing-masing botol volume 30 mL sebanyak 9 mL/botol masukkan dalam kantong tahan panas lalu diikat dengan karet atau ke dalam rak besi sterilkan dalam *autoclave*.

Inokulasi Sampel

Sampel air yang akan diisolasi bakterinya diambil dari tambak Instalasi Percobaan BPPBAP Maranak dan penanganan sampel dilakukan dua cara, yaitu:

1. Penangan sampel dengan menggunakan kantong plastik tanpa menggunakan batu es. Dengan cara sampel air diambil masukkan dalam botol steril lalu ditutup, kemudian dimasukkan dalam kantong tanpa menggunakan es di mana jarak yang ditempuh dari lokasi sampai tiba di laboratorium kurang lebih 15 km. Sampel dari lapangan dikeluarkan, diletakkan di atas nampan, dihomogenkan, diambil sebanyak 1 mL masukkan ke dalam botol volume 50 mL yang berisi 9 mL larutan garam fisiologis dan dihomogenkan selanjutnya dibuat pengenceran berseri 10^0 sampai 10^{-3} , untuk inokulasi pada media TCBSA diinokulasi hanya pengenceran 10^0 sampai 10^{-1} sedang untuk TSA diinokulasi hanya pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-3} masing-masing dibuat duplo kemudian diratakan dengan menggunakan stik kaca yang telah dibengkokkan dan telah disterilkan selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C - 30°C dalam inkubator dengan posisi cawan petridish tertutup dan terbalik. Selanjutnya dilakukan perhitungan terhadap koloni yang tumbuh dengan menggunakan rumus:

$$N_{total} \text{ (CFU/mL)} = \frac{T \times [1/s] \times 1}{Q \quad V}$$

di mana:

- T = Total bakteri yang tumbuh pada media
- Q = Jumlah cawan petri yang digunakan
- s = Tingkat pengenceran yang digunakan
- V = Volume yang diinokulasi ke dalam media agar

2. Sampel dengan menggunakan *cool box* dan menggunakan batu es. Sampel air diambil masukkan dalam botol steril lalu ditutup kemudian dimasukkan dalam *cool box*

dengan menggunakan batu es di mana jarak yang ditempuh dari lokasi sampai tiba di laboratorium kurang lebih 15 km. Inokulasi yang dilakukan sama dengan perlakuan yang dikerjakan pada perlakuan yang tidak menggunakan *cool box* dan batu es yaitu dilakukan pengenceran berseri sesuai dengan kondisi sampel lalu diinokulasi ke dalam media penumbuh, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C - 30°C dalam inkubator dengan posisi cawan petridish tertutup dan terbalik, koloni bakteri yang tumbuh dihitung secara manual selanjutnya menggunakan rumus:

$$N_{total} \text{ (CFU/mL)} = \frac{T \times [1/s] \times 1}{Q \quad V}$$

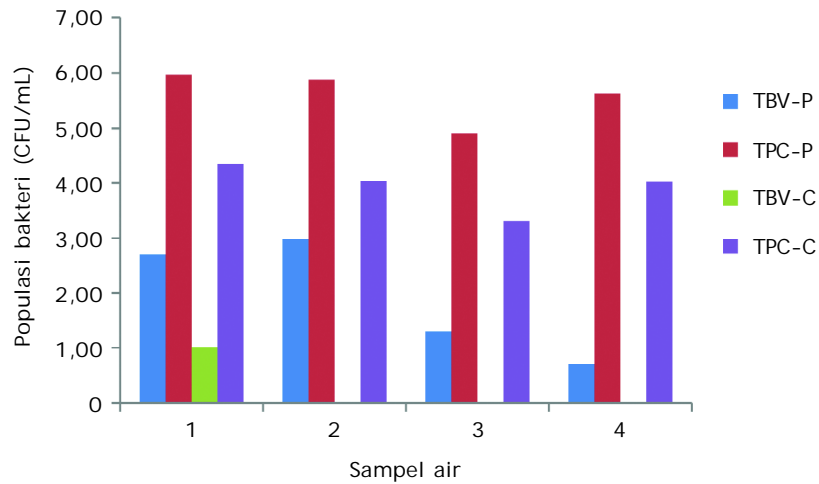
HASIL DAN BAHASAN

Hasil populasi bakteri dengan penanganan sampel terlihat pada Gambar 1.

Populasi bakteri yang terlihat pada Gambar 1 menunjukkan bahwa total bakteri vibrio pada nomor 1 dan 2 yang menggunakan kantong plastik tanpa batu es mencapai 10^2 CFU/mL, total *plate count* 10^5 CFU/mL, tapi sampel yang dibawa dari lapangan dengan menggunakan *cool box* yang berisi bongkahan batu es total bakteri vibrio 10^1 dan 0 CFU/mL, dan total *plate count* hanya 10^4 CFU/mL, sedang sampel 3 dan 4 yang menggunakan kantong plastik tanpa batu es mencapai 10^1 CFU/mL, total *plate count* 10^5 dan 10^4 CFU/mL, sedang sampel yang dibawa dari lapangan dengan menggunakan *cool box* dan bongkahan batu es total bakteri vibrio 3 dan 4 semua menunjukkan angka 0 (tidak terdeteksi) pada pengenceran 0, dan total *plate count* hanya 10^3 dan 10^4 CFU/mL. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa penanganan sampel yang diambil dari lokasi sampai ke laboratorium sangat diperlukan atau diperhatikan karena dalam perjalanan banyak hal-hal yang dapat mempengaruhi perkembangan populasi bakteri sampai tiba di tempat tujuan.

KESIMPULAN

Populasi bakteri yang diambil dari lokasi dengan menggunakan *cool box* dan bongkahan batu es diperoleh hasil TBV dan TPC-nya lebih kecil, dibandingkan dengan menggunakan kantong plastik tanpa menggunakan bongkahan batu es.



Gambar 1. Populasi bakteri pada sampel air (TBV dan TPC C) menggunakan bongkahan batu es, dan (TBV dan TPC P) tidak menggunakan batu es

SARAN

Pengambilan sampel dari lapangan sebaiknya menggunakan bongkahan batu es untuk mempertahankan kondisi sampel tiba di laboratorium untuk analisis selanjutnya.

DAFTAR ACUAN

- Benson, H.J. 1985. Microbiology application a laboratory manual in general microbiology. Complete version Wm. C. Brown Publisher Dubuque, Iowa, 450 pp.
- Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar dalam Laboratorium. PT Gramedia, Jakarta, hlm. 62-68.
- Michael, J. & Pelczar, Jr.E.C.S. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. Diterjemahkan oleh

Hadioetomo, R.S., Imas, S.T., Tjitroso, S., & Lestari, S.A. Penerbit Universitas Indonesia (UI- Press) Jakarta.

- Nurjanna. 2004. Pembuatan media dan pereaksi untuk isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio* sp. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, III(1): 27-31.
- Nurjanna. 2009. Teknik Isolasi Bakteri terhadap Daun Mangrove sebagai Kandidat Probiotik pada Budidaya Udang Windu. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 8(2): 169-172.
- Nurjanna. 2010. Penentuan Bakteri Sulfat Reducing Bacteria (SRB) dan Sulfur Oxidasing Bacteria (SOB) dengan Menggunakan Pelarut yang Berbeda. *Media Akuakultur*, 5(1): 47-50.