

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

UJI KULTUR BERSAMA KANDIDAT BAKTERI DALAM SATU SEDIAAN PROBIOTIK MULTISPESIES

Edy Farid Wadjdy dan Setiadi

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16129
E-mail: pelnisbppbat@yahoo.com

ABSTRAK

Penggunaan probiotik merupakan salah satu metode pengendalian penyakit yang aman dan ramah lingkungan dalam budidaya ikan. Tujuan kegiatan ini adalah melakukan uji kultur bersama beberapa bakteri sebagai kandidat probiotik dalam satu sediaan. Langkah-langkah dalam pengujian kultur bakteri dalam satu sediaan adalah sebagai berikut: pembuatan media TSA, TSB, dan *Phosphate buffer saline* 10%. Setelah pengenceran selesai ditanam ke media TSA plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C untuk penghitungan jumlah koloni dari masing isolat. Setelah diketahui kepadatan bakteri dari ke-4 isolat tadi lalu diambil kembali masing-masing sebanyak 1 mL untuk dikultur lagi pada 100 mL TSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C di dalam inkubator. Bakteri yang tumbuh ditanam pada media TSA dan dihitung koloni yang tumbuh dari masing-masing isolat. Hasil dari kegiatan ini menunjukkan isolate bakteri yang dapat tumbuh secara bersama dalam satu sediaan adalah isolat ND2, P23, dan Lik yaitu *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus lentus*.

KATA KUNCI: probiotik; kultur bersama; sediaan

PENDAHULUAN

Upaya untuk mencegah ikan agar tidak terserang penyakit adalah dengan meningkatkan daya tahan tubuh ikan atau dengan mengontrol lingkungan budidaya. Salah satu cara pengendalian pada budidaya yaitu dengan cara penambahan probiotik.

Mekanisme kerja probiotik adalah memproduksi senyawa inhibitor dan mampu berkompetisi untuk senyawa atau sumber energi yang tersedia. Sementara itu, probiotik *Bacillus subtilis* P23 dan *Bacillus cereus* ND2 produksi Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP), Bogor adalah merupakan kultur segar (Lusiastuti *et al.*, 2011).

Penggunaan probiotik merupakan salah satu metode yang aman dan ramah lingkungan. Penggunaan probiotik dapat mengurangi penggunaan anti-mikroba seperti antibiotik, di mana probiotik bertindak sebagai agen biokontrol yang dapat mengurangi populasi suatu jenis patogen (Cruz *et al.*, 2012).

Hasibuan (2013) menyatakan bahwa pemberian bakteri probiotik dan kombinasi probiotik multispecies jenis *Bacillus* dan *Staphylococcus* dapat meningkatkan respons imun pada ikan nila. Sedangkan (Fuller, 1992) menyatakan bahwa efektivitas probiotik

dipengaruhi oleh jenis probiotik, konsentrasi sel yang digunakan serta frekuensi pemberian probiotik.

Tujuan kegiatan ini adalah melakukan uji kultur bersama beberapa bakteri sebagai kandidat probiotik dalam satu sediaan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah *master seed* (bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus sp.*, *Bacillus cereus*, bakteri nitrifikasi, dan *Staphylococcus lentus*), media TSB (*Tryptone Soya Broth*), TSA (*Tryptone Soya Agar*), molase 4%, (*Phosphat Buffer Saline*), salin 0,85% dan alkohol teknis 96%. Sedangkan alat yang digunakan adalah *laminar flow*, *autoclave*, inkubator, timbangan analitik, botol *schott*, tabung reaksi, cawan petri, jarum *ose*, batang penyebar *L glass*, *stirer*, *magnetic stirer*, dan *vortex*.

Metode

Langkah-langkah dalam pengujian kultur bakteri dalam satu sediaan probiotik multi spesies adalah sebagai berikut:

Pembuatan media

TSA sebanyak 40 gram ditimbang menggunakan timbangan analitik kemudian dilarutkan dalam akuades 1.000 mL diaduk di atas *hotplate stirrer* pada suhu 60°C, setelah bahan tercampur merata lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 ATM. Kemudian TSB sebanyak 47 g ditimbang menggunakan timbangan analitik kemudian dilarutkan dalam akuades 1.000 mL diaduk di atas *hotplate stirrer* pada suhu 60°C, setelah bahan tercampur merata lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 ATM. Sedangkan larutan *Phosphate buffer saline* 10 % yaitu akuades sebanyak 2.000 mL pada tabung *erlenmeyer* lalu ditambahkan NaCl sebanyak 17 g, Na₂HPO₄ 12 g, NaH₂PO₄ 8 g selanjutnya dihomogenkan menggunakan magnetik *stirrer*.

Kultur bakteri monospesies

Benih bakteri dari kelima isolat dikultur pada media TSA dengan cara di *streak* lalu diinkubasi selama 24 jam suhu 28-30°C. Selanjutnya masing-masing diambil 1 koloni dari ke 5 isolat tadi (P23, ND2, DP1, Lik, TS2b) dikultur kembali kedalam tabung 10 mL TSB diinkubasi selama 24 jam, setelah tumbuh dilakukan pengenceran berseri dari keempat isolat tadi dengan cara diambil 1 mL menggunakan pipet lalu diencerkan ke-9 mL PBS (10⁻¹) diaduk menggunakan *vortex* kemudian diambil kembali sebanyak 1 mL dan diencerkan ke 9 mL PBS (10⁻²) pengenceran tersebut dilakukan sampai pada pengenceran ke-9 (10⁻⁹). Setelah pengenceran selesai ditanam ke media TSA diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C untuk penghitungan jumlah koloni dari masing-masing isolat (Gambar 1).

Uji kultur bakteri bersama pada satu sediaan probiotik multispesies

Setelah diketahui kepadatan bakteri dari ke-5 isolat tersebut di atas lalu diambil kembali masing-masing sebanyak 1 mL dikultur kembali pada 100 mL TSB diinkubasi selama 24 jam suhu 28°C pada inkubator, setelah tumbuh ditanam pada media TSA dan dihitung koloni yang tumbuh dari masing-masing isolat (Gambar 2).

HASIL DAN BAHASAN

Hasil uji kultur monospesies pada 10 mL TSB disajikan dalam Tabel 1.

Dari masing masing isolat yang ditumbuhkan pada media TSB dan di sebar pada media TSA yang dapat dihitung jumlah koloni yaitu pada pengenceran 10⁻⁶ dan 10⁻⁷, Adapun yang paling subur pertumbuhannya adalah bakteri *Staphylococcus lentus* sedangkan pada pengenceran 10⁻⁸ tidak ada pertumbuhan koloni selama 24 jam.

Hasil uji kultur bersama multispesies pada media 100 mL TSB disajikan pada Tabel 2.

Dari kelima isolat yang dikultur secara bersamaan pada satu sediaan yaitu 100 mL TSB yang mampu tumbuh hanya 3 isolat yaitu Lik, P23, dan ND2 dengan jenis bakteri *Staphylococcus lentus*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus subtilis*.

Hasil uji kultur bersama pada satu sediaan probiotik multispesies pada media 100 mL TSB disajikan pada Tabel 3.

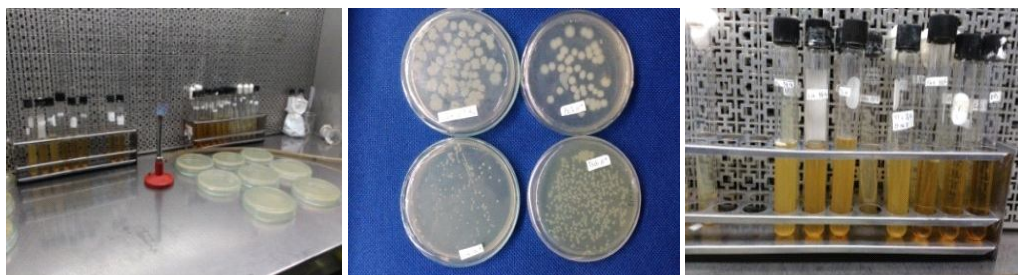
Hasil uji kultur bersama pada satu sediaan probiotik multispesies media 100 mL TSB disajikan pada Tabel 4.

Dari Tabel 1 merupakan hasil uji kultur bakteri monospesies dari masing-masing isolat yang dikultur sebanyak 1 ose pada media 10 mL TSB. Selanjutnya koloni yang tumbuh pada media TSA kemudian dihitung dikalikan dengan faktor pengenceran, hasil pengalihan merupakan bakteri yang hidup dalam satuan *colony forming unit*/ mL (cfu/mL). Perhitungan Angka Lempeng Total sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

di mana:

- ΣC = adalah jumlah koloni pada semua cawan petri yang dihitung
- N1 = adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
- N2 = adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung



Gambar 1. Kultur bakteri tunggal pada media TSB.

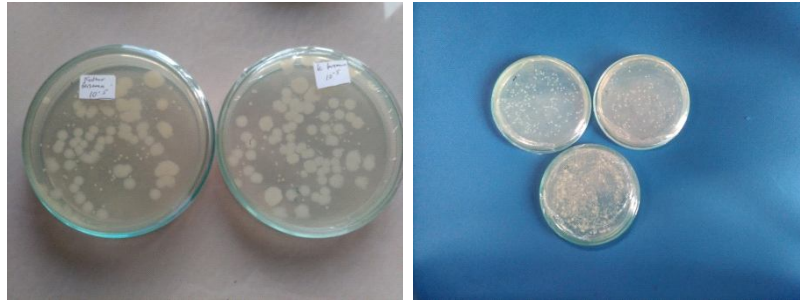
Salah satu contoh dalam penghitungan jumlah koloni yang tersaji pada Tabel 1 adalah sebagai berikut:

$$\frac{180 + 176 + 43 + 42}{(1 \times 2) + (0,1 + 2) \times 10^{-7}} = \frac{441 \times 10^6}{2,2} = 200,45 \times 10^6$$

Jumlah koloni untuk isolat sebanyak $2,00 \times 10^8$ cfu/mL

Jumlah koloni dari hasil uji kultur monospesies dan multispesies pada satu sediaan media 100 mL TSB disajikan pada Tabel 5.

Dari uji kultur bersama menunjukkan kemampuan beberapa bakteri yang mampu tumbuh bersama dalam satu sediaan probiotik multispesies yaitu TSB maupun TSA adalah ND2, Lik, dan P23. Kombinasi isolat



Gambar 2. Koloni yang tumbuh dalam kultur bersama pada media TSA.

Tabel 1. Jumlah koloni kultur monospesies pada media TSB

Kode isolat	Jenis Bakteri	Pertumbuhan	Jumlah koloni pada pengenceran ke-					
			10^{-6}		10^{-7}		10^{-8}	
			1	2	1	2	1	2
ND2	<i>B. subtilis</i>	Tumbuh	180	176	43	42	0	0
Lik	<i>Staphylococcus lentus</i>	Tumbuh	392	TBUD	117	86	0	0
Cb4	Bakteri nitrifikasi	Tumbuh	84	54	9	17	0	0
TS2B	<i>Bacillus</i> sp.	Tumbuh	65	97	12	27	0	0
P23	<i>B. cereus</i>	Tumbuh	43	44	9	11	0	0

Tabel 2. Uji kultur bersama pada sediaan probiotik multispesies

Kode isolat	Jenis bakteri	Pertumbuhan	Jumlah koloni pada pengenceran ke-					
			10^{-6}		10^{-7}		10^{-8}	
			1	2	1	2	1	2
ND2	<i>B. subtilis</i>	Tumbuh	107	116	15	32	0	0
Lik	<i>Staphylococcus lentus</i>	Tumbuh	180	163	16	11	0	0
Cb4	Bakteri nitrifikasi	Tidak tumbuh	0	0	0	0	0	0
Ts2b	<i>Bacillus</i> sp.	Tidak tumbuh	0	0	0	0	0	0
P23	<i>B. cereus</i>	Tumbuh	26	10	0	0	0	0

Tabel 3. Uji kultur bersama pada satu sediaan probiotik multispesies pada media 100 mL TSB

Kode isolat	Jenis bakteri	Pertumbuhan	Jumlah koloni pada pengenceran ke-					
			10^{-6}		10^{-7}		10^{-8}	
			1	2	1	2	1	2
ND2	<i>B. subtilis</i>	Tumbuh	38	55	12	17	0	0
Lik	<i>Staphylococcus lentus</i>	Tumbuh	180	163	42	K	0	0
Cb4	Bakteri nitrifikasi	Tidak tumbuh	0	0	0	0	0	0
P23	<i>B. cereus</i>	Tumbuh	103	122	15	36	0	0

Tabel 4. Uji kultur bersama pada satu sediaan probiotik multispesies media 100 mL TSB

Kode isolat	Jenis bakteri	Pertumbuhan	Jumlah koloni pada pengenceran ke-					
			10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸	
			1	2	1	2	1	2
P23	<i>Bacillus subtilis</i>	Tumbuh	102	98	24	19	4	2
Lik	<i>Staphylococcus lentus</i>	Tumbuh	126	105	46	65	0	0
ND2	<i>Bacillus cereus</i>	Tumbuh	194	177	86	59	12	9

Tabel 5. Jumlah koloni dari hasil uji kultur monospesies dan multispesies pada satu sediaan media 100 mL TSB

Kode isolat	Jenis bakteri	Kultur tunggal	Kultur bersama	Sinergi/Antagonis
ND2	<i>B. cereus</i>	2,00 X 10 ⁸	1,22 X 10 ⁸	Sinergi
Lik	<i>Staphylococcus lentus</i>	0,96 X 10 ⁹	1,6 X 10 ⁸	Sinergi
Cb4	Bakteri nitrifikasi	0,74 X 10 ⁸	0	Antagonis
TS2b	<i>Bacillus</i> sp.	0,91 X 10 ⁸	0	Antagonis
P23	<i>B. subtilis</i>	1,07 X 10 ⁸	1,63 X 10 ⁷	Sinergi

tersebut menunjukkan sinergitas (Kalaiselvi & Panneerselvevam, 2011). Probiotik yang diinokulasikan pada media TSB bertujuan untuk mengetahui aktivitas gabungan antar bakteri yang bersifat antagonis atau sinergi.

KESIMPULAN

Dari hasil uji kultur bersama diperoleh bakteri probiotik yang mampu tumbuh dalam satu sediaan probiotik multispesies yaitu dari isolat ND2, Lik, dan P23 berpotensi sebagai kandidat probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Angela Mariana Lusiastuti peneliti Kesehatan Ikan dan teman-teman teknisi yang telah memberikan dukungan dalam penulisan makalah ini.

DAFTAR ACUAN

Cruz, P.M., Ibanez, L., Hermosillo, O.A.M., & Saad, H.C. (2012). Use of probiotics in aquaculture. International Scholarly Research Network, p. 1-4.

Fuller, R. (1992). History and development of probiotics in probiotics the Scientific basis. Chapman & Hall. London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, p. 1-8.

Hasibuan, U.R. (2013). *Aplikasi probiotik amilolitik Nb21b dan proteolitik L1k melalui pakan untuk pengendalian Streptococcosis pada ikan nila Oreochromis niloticus*. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & William, S.T. (1998). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 565 pp.

Lusiastuti, A.M., Condro Haditomo, A.H., & Sularto. (2011). Seleksi Probiotik Anti *Aeromonas hydrophila* Untuk Sediaan Probiotik Multispesies. Semnaskian UGM Yogyakarta 2011.

Kalaiseselvi, S. & Panneerselvevam, A. (2011). Invitro assessment of antagonistic activity of *Trichoderma* sp., against *Sarocladium oryzae* causing health or disease in paddy. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 2(1), 179-183.