

PENENTUAN BAKTERI SULFAT REDUCING BACTERIA (SRB) DAN SULFUR OXIDAZING BACTERIA (SOB) DENGAN MENGGUNAKAN PELARUT YANG BERBEDA

Nurjanna dan Ahmaddirrahman Fajrihanif

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau
Jl. Makmur Dg. Sitakka 129, Maros, Sulawesi Selatan 90512
E-mail: nugri@yahoo.com

ABSTRAK

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui populasi bakteri pereduksi sulfat dan pengoksidasi sulfur pada sedimen tambak menggunakan larutan pengencer yang berbeda. Sampel sedimen sebanyak 5 g digerus dengan lumpang penggerus yang steril hingga homogen. Dua jenis larutan pengencer yang steril yaitu larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) 9 mL dan larutan *Artificial Sea Water* (ASW) atau larutan air laut buatan 9 mL disiapkan. Selanjutnya masing-masing 1 g sedimen tambak yang telah homogen dimasukkan ke dalam larutan pengencer tersebut, kemudian divortex hingga homogen. Setelah homogen masing-masing diambil 100 μ L, kemudian dimasukkan dalam media penumbuh bakteri SRB dan SOB dalam *microplate* 24 lubang yang telah disiapkan sebelumnya. Biakan tersebut kemudian diinkubasi secara Anaerobik selama 12 hari untuk bakteri SRB dan 14 hari untuk SOB. Pengamatan populasi bakteri SRB dilakukan dengan melihat adanya perubahan warna media dari warna merah muda menjadi warna hitam, sedangkan bakteri SOB dapat dilihat dengan adanya perubahan dari warna biru muda menjadi merah bata setelah penambahan larutan kalium iodid (larutan KI 1%) sebanyak 1 mL/lubang *microplate*. Hasil percobaan menunjukkan bahwa populasi bakteri SRB dengan menggunakan pelarut ASW dan garam fisiologis relatif sama terutama pada percobaan periode II dan IV. Sedangkan populasi bakteri SOB relatif lebih tinggi pada penggunaan pelarut garam fisiologis (NaCl 0,85%) dibanding pelarut ASW.

KATA KUNCI: *sulfat reducing bacteria, sulfur oxidazing bacteria, pelarut garam*

PENDAHULUAN

Populasi bakteri secara umum digunakan untuk bakteri dan mikroorganisme lain dan biasanya mengacu pada perubahan di dalam hasil panel sel dan bukan perubahan individu organisme. Pertumbuhan menyatakan pertambahan jumlah atau massa melebihi inokulum asalnya selama bakteri dalam fase pertumbuhan seimbang. beberapa yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara suhu, lingkungan, gas, dan pH faktor-faktor fisik utama faktor-faktor tersebut harus dipertimbangkan di dalam penyediaan kondisi optimum bagi pertumbuhan kebanyakan spesies bakteri (Michael *et al.*, 1986).

Bakteri *sulfat reducing bacteria* (SRB) merupakan bakteri anaerob dan hasil akhir oksidasinya menghasilkan asam sulfida (H_2S) yang menyebabkan lumpur menjadi berwarna hitam, di mana H_2S sangat beracun bagi ikan dan udang yang dibudidayakan sedang bakteri *sulfur oxidazing bacteria* (SOB) merupakan bakteri aerob dan menggunakan H_2S sebagai elektron aseptor (Gunarto *et al.*, 2008).

Penentuan populasi bakteri dalam satu jenis sampel sangat ditentukan oleh media yang digunakan, selain itu, larutan pengencer atau pelarut yang digunakan juga menentukan keakuratan data populasi dari satu jenis sampel. Penentuan populasi bakteri SRB dapat dilakukan menggunakan media Battersby's sedang untuk SOB digunakan *enrichment* media (Muir & Owens, 1996). Sedangkan untuk larutan pengencer digunakan pelarut *Artificial Sea Water* (ASW) yang terdiri atas ramuan beberapa senyawa garam dan pengencer larutan fisiologis 0,85% (NaCl) yang sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Selain ASW jenis pelarut atau larutan pengencer yang sering digunakan adalah larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%). Dalam penyiapannya larutan garam fisiologis jauh lebih mudah dan sederhana, selain itu lebih ekonomis dibanding ASW. Oleh karena itu, dicoba membandingkan populasi bakteri SRB dan SOB menggunakan kedua larutan pengencer tersebut.

BAHAN DAN TATA CARA

BAHAN

Bahan yang digunakan meliputi: NaCl, KCl, Na₂SO₄, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂·2H₂O, FeSO₄, NH₄Cl, KH₂PO₄, Bacto CasAmino Acid, Rezazaurin, air laut, KNO₃, NaHCO₃, Na₂S₂O₃·5H₂O, Trace metal solution, alkohol 70%, kapas, biakan bakteri *Pseudomonas*, *Nutrien Broth* (NB).

ALAT

Alat yang digunakan meliputi: *microplate* 24 lubang (well), pipet skala 10 mL mikro, *pipet multi channel*, 100 mikron, Bunsen, tip kuning, cawan petri, bunsen, erlemeyer, timbangan analitik, pH meter, *cleanbench*, *shaker*, autoclave, jarum ose.

TATA CARA

Persiapan Media

- Pembuatan media tumbuh *Nutrien Broth* (NB)
Timbang NB sebanyak 0,8 g tambahkan 1,5% NaCl larutkan dengan 100 mL *aquadest*. Sterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C, 1 Atm, selama 15 menit matikan dan keluarkan.
- Pembuatan Media *Tryptic Soy Agar* (TSA)
Timbang TSA sebanyak 4 g, tambahkan 1,5% NaCl, larutkan dengan 100 mL *aquadest*, panaskan di atas *hotplate* sambil diaduk dengan menggunakan stirrer. Setelah media larut dan bening angkat dan sterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C, 1 Atm, selama 15 menit, matikan dan keluarkan.
- Pembuatan Media *Sulfat Reducing Bacteria* (SRB)
Untuk membuat media SRB sebanyak 1.000 mL ditimbang FeSO₄ sebanyak 0,3 mL, NH₄Cl 0,3 g, KH₂PO₄ 0,2 g, Bacto cas Amino Acid 1g, ascorbit acid 1g, lactic Acid 3 mL, rezazaurin 0,001 g, larutkan dengan 500 mL air laut steril yang bersalinitas 28-30 ppt, dan *aquadest* 500 mL atur pHnya sampai 7,5 sterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C, 1 Atm, selama 15 menit, matikan dan keluarkan.
- Pembuatan Media *Sulfur Oxidizing Bacteria* (SOB)
Untuk membuat media SOB sebanyak 1.000 mL ditimbang KNO₃ 2,0 g, NH₄Cl 1,0 g, KH₂PO₄ 2,0 g, NaHCO₃ 2,0 g, Na₂S₂O₃·5H₂O 5,0 g, Trace Metal Solution 1 mL, Resazaurin 0,001 g, air laut 500 mL salinitas 28-30 ppt, *aquadest* 500 mL ukur pH 6,8-7,0 sterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C, 1 Atm selama 15 menit matikan dan keluarkan.

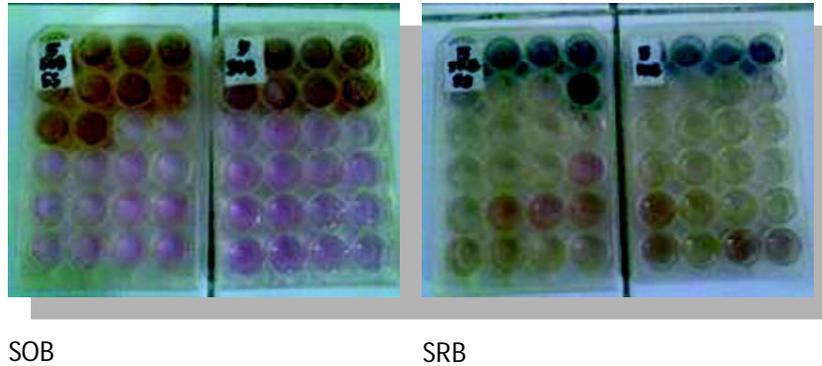
- Pembuatan Stok Larutan *Artificial Sea Water* (ASW)
Untuk membuat larutan stok ASW sebanyak 1.000 mL maka ditimbang NaCl 26,35 g, KCl 1,125 g, Na₂SO₄ 0,428 g, MgCl₂·6H₂O 7,62 g, CaCl₂·2H₂O 0,218 g, larutkan dengan 1.000 mL *aquadest* steril.
- Pembuatan Larutan Garam Fisiologis (NaCl 0,85%)
Untuk membuat larutan NaCl 1.000 mL, timbang NaCl 8,5 g larutkan dengan 1.000 mL *aquadest* steril.
- Peremajaan Bakteri *Pseudomonas* sp.
Stok bakteri diremajakan dengan menginokulasi pada media TSA dalam cawan petri secara aseptik diinkubasi dalam inkubator suhu 28°C-30°C selama 24-48 jam, biakan dipindahkan secara aseptik kedalam larutan NB, homogenkan sambil diseker selama 12 jam untuk memperbanyak sel bakteri dalam larutan.

Cara Menginokulasi Sampel

Sampel tanah dari lapangan ditimbang sebanyak 1 g masukkan ke dalam larutan ASW volume 9 mL dan larutan garam fisiologis volume 9 mL. Media SRB dan media SOB dipipet ke dalam masing-masing lubang *microplate* sebanyak 2 mL tiap lubang. Media SRB sebelum diinokulasi sampel sebelumnya ditambahkan dengan bakteri *Pseudomonas* sp. sebanyak 50 µL inkubasi selama 1 jam, setelah itu, media tersebut diinokulasi sampel sedimen yang sudah dilarutkan sebanyak 100 µL dari masing-masing pelarut yang berbeda, seterusnya diencerkan bertingkat sesuai dengan jumlah *well* pada *microplate*. Selanjutnya diinkubasi pada wadah kedap udara dengan menggunakan gas generating. Inkubasi selama 12 sampai 14 hari. Pengamatan populasi bakteri untuk SRB dilihat dari adanya endapan berwarna hitam pada dasar *microplate*. Sedangkan untuk pengamatan SOB populasi bakteri dapat diketahui dari penambahan larutan kalium jodida sebanyak 1 mL apabila larutan berubah menjadi kuning berarti positif.



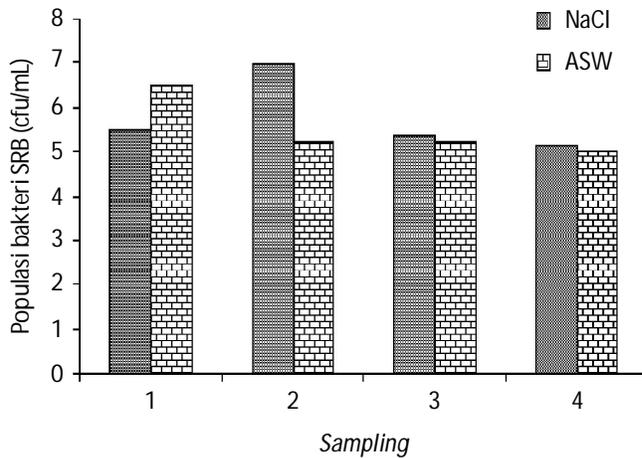
Inkubasi Media SRB dan SOB



Dari hasil perubahan SRB dan SOB populasi masing-masing dapat diketahui dengan menghitung metode MPN (Muir & Owns, 1996).

HASIL DAN BAHASAN

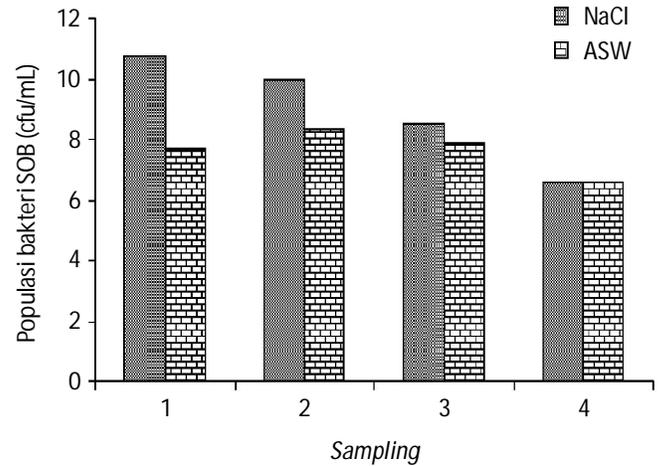
Dari hasil yang didapatkan dengan menggunakan pelarut yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Populasi bakteri *sulfat reducing bacteria* (SRB) dengan menggunakan pelarut yang berbeda (NaCl dan ASW)

Pada Gambar 1 terlihat bahwa dengan menggunakan media pelarut ASW pada percobaan periode pertama populasi bakteri lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan pelarut garam fisiologis, sedangkan pada periode kedua populasi bakteri SRB pada pelarut garam fisiologis lebih tinggi dibandingkan menggunakan pelarut ASW. Pada percobaan periode ketiga dan keempat populasi bakteri cenderung sama pada pelarut NaCl dan pelarut ASW, sehingga dari kedua pelarut ini dapat digunakan dalam penentuan populasi bakteri SRB.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa dalam penentuan populasi SOB dengan menggunakan pelarut yang berbeda terlihat bahwa dengan menggunakan larutan garam



Gambar 2. Populasi bakteri *sulfur oxidazing bacteria* (SOB) dengan menggunakan pelarut yang berbeda (NaCl dan ASW)

fisiologis populasi bakteri SOB lebih tinggi dibanding menggunakan pelarut ASW. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut ASW lebih cepat digunakan dalam penentuan populasi SOB dari satu jenis sampel.

KESIMPULAN

Untuk menentukan populasi bakteri SRB dapat digunakan pelarut ASW dan garam fisiologis, sedangkan untuk menentukan populasi bakteri SOB lebih cocok digunakan pelarut garam fisiologis.

DAFTAR ACUAN

Gunarto. 2006. Apakah Nilai Reduksi dan Oksidasi Potensial Sedimen Tambak Berpengaruh Terhadap Produksi Udang Windu di Tambak. *Media Akuakultur*, 1(3): 91–96.

Muir, P. & Owns, L. 1996. Sampling For Sulphure cycle bacteria of sediment. Departement of Microbiology Biomedical and Tropical Veterinary Sciences. James Cook University of North Queensland, Australia, 7 pp.

Michael J. Pelczar, Jr. & Chan, E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Microbiologi. Diterjemahkan Oleh Hadioetomo, R.S., Imas, S.T., Tjitrosomo, S., & Lestari, S. Angka. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press) Jakarta.