

TEKNIK ISOLASI BAKTERI TERHADAP DAUN MANGROVE SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK PADA BUDIDAYA UDANG WINDU

Nurjanna

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

ABSTRAK

Berbagai terobosan yang dikembangkan dalam hal penanggulangan masalah penyakit dengan menggunakan bahan-bahan alami sebagai pengganti obat-obatan kimia yang tidak ramah lingkungan. Salah satunya adalah dengan menggunakan bakteri probiotik yang diisolasi dari daun atau biasa juga disebut bakteri filosofer yaitu bakteri hidup pada permukaan daun. Isolasi bakteri kandidat probiotik dari daun mangrove menggunakan media TSA, SWC, dan larutan fisiologis, dilakukan dua cara yaitu teknik replika dan teknik perendaman. Koloni yang tumbuh dari kelima *isolate* bentuk dan warna pada umumnya berbeda sedang dari elevasi dan tepian dasarnya sama, diantara yang diisolasi ada beberapa isolate yang dapat menekan pertumbuhan bakteri *V. harveyii* di tambak dan bertujuan untuk mengetahui bentuk koloni warna koloni dan jenis bakteri yang terdapat pada daun mangrove.

KATA KUNCI: isolasi, morfologi, daun mangrove

PENDAHULUAN

Mangrove sebagai sumber daya alam potensial yang terdiri dari dua kata yaitu hutan dan mangrove, menurut undang-undang tahun 1967 tentang ketentuan-ketentuan pokok kehutanan. Hutan mangrove adalah suatu lapangan tetumbuhan pohon-pohonan yang secara keseluruhan merupakan persekutuan hidup dan hayati sedang mangrove merupakan vegetasi hutan yang tidak hanya tumbuh diantara pasang surut, tetapi juga pada pantai karang, dataran koral yang mati yang di atasnya ditumbuhi selapis tipis pasir dan pada pantai yang berlumpur (Darsidi, 1986). Mangrove salah satu tanaman yang sangat besar manfaatnya karena dapat dijadikan pelindung terjadinya erosi pada tepian sungai-sungai juga digunakan sebagai biofilter pada sektor perikanan khususnya pada daerah pertambakan, daun mangrove yang jatuh ke dalam saluran area budi daya merupakan sumber kompos yang dapat terurai menjadi pupuk organik.

Salah satu kegiatan di Balai Riset Budidaya Air Payau (BRPBAP), Maros adalah melakukan isolasi bakteri dari lingkungan seperti tambak, laut mangrove untuk mendapatkan kandidat bakteri probiotik cara penanggulangan

penyakit di tambak (Muliani *et al.*, 2003;2004;2006; Muharijadi *et al.*, 2004). Oleh karena itu, berbagai terobosan yang dikembangkan dalam menanggulangi masalah penyakit dan salah satunya adalah menggunakan bakteri probiotik sebagai pengganti obat-obatan kimia dan anti biotik yang penggunaannya telah dilarang.

Beberapa literatur menjelaskan bahwa daun mangrove adalah salah satu bahan alam yang mengandung bahan aktif yang dapat menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. penyebab penyakit pada udang. Selain itu, di permukaan daun mangrove hidup beberapa jenis bakteri yang kemungkinannya dapat dijadikan sebagai kandidat probiotik untuk budidaya udang mengingat bahwa mangrove tumbuh dilingkungan tambak, oleh karena itu dicoba untuk mengisolasi bakteri kandidat probiotik dari daun mangrove.

BAHAN DAN TATA CARA

Bahan

Bahan yang digunakan adalah: daun mangrove, media agar TSA, media agar SWC, 20 g pepton, glyserol 15 mL, K₂HPO₄ 1,5g, MgSO₄.7H₂O 20g, Aquadest steril, NaCl.

Alat

Alat yang digunakan adalah bunsen, alkohol, jarum ose, kapas, pinset, timbangan elektrik, kertas timbangan, gelas ukur, erlemeyer.

Tata Cara

Pembuatan Media Agar dan Larutan Fisilogis

Media Tryptic Soy Agar

Timbang media agar TSA sebanyak 32 gram dan tambahkan dengan NaCl 1,5% larutkan dengan aquadest steril panaskan diatas hotplate stirrer sampai panas dan memndidih angkat lalu disterilkan dengan autoclove pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit, keluarkan tunggu sampai suhu kurang lebih 60°C tuang ketiap cawan petri sebanyak 20 mL/cawan petri setelah media agar kering simpan pada posisi terbalik, bila media agar secepat mungkin digunakan, media agar dikeringkan pada incubator suhu 37°C selama 6-12 jam media siap digunakan.

Media Sea Water Artipical (SWC)

Timbang 20 g pepton, 15 mL Glycerol, 1,5 g K₂HPO₄, 1,5 g MgSO₄.7H₂O, 20 g agar dilarutkan dengan air laut steri 28 ppt.

Larutan Fisiologis 0,85%

Timbang NaCl sebanyak 12 gram tambahkan dengan aquadest sebanyak 800 mL homogenkan sampai larut, dan pipet kemasing-masing ke dalam botol volume 50 mL sebanyak 9 mL atan kedalam masing tabung volume 20 mL sterilkan pada autoclove sama halnya dengan sterilisasi media agar.

Isolasi Bakteri Filosofer

Bakteri fisolover yang diisolasi dari daun mangrove jenis api-api yang dikoleksi dari

beberapa lokasi di Sulawesi Selatan. Daun mangrove yang masih segar dimasukkan dalam kantong plastik steril dan selanjutnya dibawah kelaboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Riset Perikanan Budidaya Air payau Maros. Isolasi bakteri filosofer dilakukan dengan dua cara yaitu:

1. Teknik "Replika Daun": daun mangrove diambil kemudian diletakkan pelan di atas permukaan agar SWC, dibiarkan sebentar sampai terbentuk replikan daun pada media tersebut. Hal yang sama dilakukan untuk permukaan daun yang berlawanan selanjutnya di inkubasi suhu 28°C selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh dipisahkan dengan media King B (SWC) yang dimiringkan.
2. Teknik "Perendaman": Media yang digunakan adalah media larutan garam fisiologis 0,85%. Daun mangrove dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan garam fisiologis kemudian divorteks selama 5 menit supaya bakterinya terlepas dan tersuspensi. Selanjutnya dibuat pengenceran secara berseri biasanya sampai pengenceran (10²). Setiap pengenceran diambil 0,1 mL dan disebar pada media agar King B dalam cawan petri, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (28°C) selama 24-48 jam pada inkubatar. Koloni bakteri yang tumbuh pada media diidentifikasi berdasarkan bentuk, warna, elevasi, dan ukuran koloni(Austin, 1993; Hadioetomo, 1993 dalam Muliani et al., 2004).

HASIL DAN BAHASAN

Teknik "Replika Daun"

Karakterisasi morfologi dari isolate bakteri filosofifer yang diisolasi dari daun mangrove dengan teknik "replika daun" disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Karakterisasi secara morfologi bakteri filosofifer dari daun mangrove dengan teknik "Replika Daun"

Kode isolat	Asal	Ciri-ciri koloni			
		Warna	Bentuk/ukuran koloni	Elevasi	Tepian
Muliani 1112	Barru	Merah maron	Bundar sedang	cembung	licin



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri filiosfer dari daun mangrove dengan teknik “Replika Daun”

Teknik “Perendaman”

Karakterisasi morfologi dari isolate bakteri filiosfer yang diisolasi dari daun mangrove dengan teknik “Perendaman” disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Dari hasil karakterisasi secara morfologi bakteri dari daun mangrove terlihat bahwa pada dasarnya elevasi dan tepian umumnya sama hanya MR53 yang beda baik dari tepian maupun dari elevasinya, tetapi pada bentuk pada umumnya sama hanya ukuran yang membedakan tetapi pada MR 53 bentuk dan ukurannya berbeda sedangkan dilihat dari warnanya dari keempat isolate bakteri filiosfer ini tidak ada yang sama. Muliani *et al.*, melaporkan hasil uji secara fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa bahwa semua bakteri filiosfer termasuk bakteri gram positif, katalase, positif, motil, dan indol negatif oksidasi negative tidak menghasilkan gas dan

H_2S , uji MR-Vp negatif, king A, dan king B negatif. Di samping itu pula dijelaskan bahwa sedikitnya 1.145 isolat bakteri filiosfer yang diisolasi dari daun mangrove, dari hasil penapisan terhadap ke 1.145 isolat tersebut ada 8 yang potensial sebagai bakteri probiotik dan diantaranya ada 2 isolat diantaranya yang dapat menghambat *V. harveyii* secara invitro, namun demikian dijelaskan (Ahmad *et al.*, 2001 dalam Muliani *et al.*, 2004) bahwa fungsi dari daun mangrove jenis api-api adalah sebagai bioremedasi dan biofilter pada budidaya udang windu.

KESIMPULAN

Dari kelima *isolate* yang diuji secara morfologi dan biokimia dapat dijadikan sebagai bakteri probiotik yang telah diuji secara skala laboratorium yang dapat menekan tumbuhnya bakteri *V. harveyii* sebanyak 30% ditambah budidaya udang windu.

Tabel 2. Karakterisasi secara morfologi bakteri filiosfer dari daun mangrove dengan teknik “Perendaman”

Kode isolate	Asal	Ciri - ciri koloni			
		Warna	Bentuk/ukuran koloni	Elevasi	Tepian
Maros 53	Maros	Putih	Tidak beraturan	Cembung	Bergerigi
Barru 931	Barru	Oranye	Bundar kecil	Cembung	Licin
Pangkep 446	Pangkep	Kuning	Bundar sedang	Cembung	Licin
Bulukumba	Bulukumba	Putih	Bundar besar	Timbul	Licin
Muliani 1112	Barru	Merah maron	Bundar sedang	Cembung	Licin



Gambar 2. Hasil isolasi bakteri filosfer dari daun mangrove dengan teknik "Perendaman"

DAFTAR ACUAN

- Ahmad, T., E. Suryati, & Muliani. 1995. Screening sponge for baktericide to be use in shrimp culture. *Ind. Fish. Res. J.*, p. 1-10.
- Austin, B. 1993. *Methods in Aquatic Bacteriology*. John Wiley and Sons. Chichester. New York. Brisbane Toronto. Singapore, 425 pp.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia, Jakarta, hlm. 62-68.
- Muliani, Suwanto, A., & Hala, Y. 2003. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri asal laut Sulawesi untuk Biokontrol Penyakit Vibriosis pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) *Hayati*, 10: 6-11.
- Muliani, Nurbaya, Atmomarsono, M., & Tompo, A. 2004. Eksplorasi Bakteri Tambak dari Tanaman Mangrove Sebagai Bakteri Probiotik pada Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 10: 47-57.
- Muliani, Nurbaya, & Atmomarsono, M. 2006. Penapisan Bakteri yang diisolasi dari tambak udang sebagai kandidat probiotik pada budidaya udang windu (*Penaeus monodon*). *J. Riset Aquacultre*. 1: 73-85.
- Muharijadi, A., Arifuddin, T., M. Madeali, Muliani, E. Susianingsih, Nurhydayah, Nurbaya, & Nurjanna. 2004. Laporan Teknis Riset Managemen Kesehatan Udang dan Lingkungan. Maros, p. 1-5.