

## TEKNIK ISOLASI BAKTERI DARI RUMPUT LAUT

Nurjanna dan Rifka Pasande

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

### ABSTRAK

Berbagai terobosan yang telah dikembangkan dalam hal penanggulangan penyakit dengan menggunakan bahan-bahan alami sebagai pengganti obat-obatan kimia yang beredar di pasaran dan tidak ramah lingkungan. Salah satu dari bahan tersebut adalah dengan menggunakan bakteri probiotik yang diisolasi dari rumput laut. Isolasi bakteri kandidat probiotik dari rumput laut menggunakan media *tryptic soy agar*, *marine agar*, dan larutan fisiologis, yang dilakukan dengan dua cara yaitu teknik penanaman langsung dipermukaan media tumbuh dan teknik pengenceran, yang bertujuan untuk mengetahui bentuk koloni, warna koloni, dan jenis bakteri yang terdapat pada rumput laut dari hasil uji morfologi dan biokimia, dari ketiga jenis rumput laut *Caulerpa lentillifera*, *Cottoni denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii* yang berasal dari Takalar didapatkan jenis *Bacillus subtilis* yang dapat berpotensi sebagai bakteri probiotik dari rumput laut.

**KATA KUNCI:** isolasi, morfologi, rumput laut

### PENDAHULUAN

Rumput laut merupakan salah satu komoditas hasil laut yang potensial untuk dikembangkan. Potensi rumput laut cukup besar dan tersebar hampir diseluruh perairan nusantara khususnya di pantai Sulawesi Selatan. Keberhasilan budidaya rumput laut selain didukung oleh kondisi alam yang potensial juga meningkatnya permintaan pasar. Di antara jenis rumput laut yang bernilai ekonomis penting *Rhodophyceae* merupakan rumput laut yang penghasil agar-agar dan karaginan (Hambali *et al.*, 2004).

Dalam beberapa tahun terakhir ini salah satu kegiatan yang dikembangkan di Balai Riset Budidaya Air Payau (BRPBAP) Maros adalah melakukan isolasi dan *scrining* untuk mengisolasi bakteri yang akan dijadikan sebagai kandidat bakteri probiotik yang akan digunakan sebagai alternatif pencegahan penyakit pada budidaya udang windu di beberapa pantai Sulawesi Selatan. Bakteri probiotik sendiri merupakan bakteri yang bersifat patogen dan memiliki kemampuan mengurangi koloni bakteri patogen, menghambat pertumbuhan bakteri patogen, menghambat komunikasi antara sel-sel bakteri sehingga tidak terjadi korum *sensing* yang dapat menyebabkan timbulnya sifat patogen,

membunuh bakteri patogen, berfungsi sebagai bakteri pengurai dan menetralkan kualitas air, dan memungkinkan makanan di dalam perairan (Muliani, 2005 *dalam* Nurjanna, 2006). Isolasi/*scrining* untuk mengisolasi bakteri sebagai kandidat probiotik telah dilakukan baik dari media air, sedimen, tumbuhan mangrove dan rumput laut dari beberapa lokasi perairan dan pertambakan di Sulawesi Selatan (Muliani, 2004 *dalam* Nurjanna, 2009). Saat ini alternatif yang dilakukan untuk mengisolasi sebagai kandidat probiotik adalah rumput laut, mengingat rumput laut merupakan salah satu komoditas yang sangat potensial budidayanya dan sangat melimpah di perairan.

### BAHAN DAN METODE

#### Bahan

Bahan yang digunakan berupa: rumput laut, natrium klorida, *tryptic soy agar*, *marine agar*, dan *aquadest*.

#### Alat

Alat yang digunakan adalah; bunsen, alkohol, jarum ose, kapas, pinset, timbangan elektrik, kertas timbangan, gelas ukur, *erlenmeyer*, *autoclave*, dan cawan petri.

## METODE

### Pembuatan Media Agar dan Larutan Fisiologis

#### Media *Tryptic Soy Agar (TSA)*

Timbang media agar TSA sebanyak 32 g tambahkan dengan NaCl 1,5% larutkan dengan *aquadest* steril sebanyak 800 mL panaskan di atas *hotplate stirrer* sampai panas dan mendidih, angkat lalu disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 Atm selama 15 menit, keluarkan di amkan sampai suhu kurang lebih 60°C tuang ke tiap cawan petri sebanyak 20 mL/cawan petri setelah media agar dingin simpan pada posisi terbalik, sebaiknya media agar secepat mungkin digunakan, media agar dikeringkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 6-12 jam media siap digunakan.

#### Media *Marine Agar*

Timbang 5,51 g *marine agar*, larutkan dengan *aquadest* steril 100 mL panaskan di atas *hotplate stirrer* sampai panas dan mendidih angkat lalu sterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 Atm selama 15 menit, keluarkan di amkan sampai suhu kurang lebih 60°C tuang ke tiap cawan petri sebanyak 20 mL/cawan petri setelah media agar dingin simpan pada posisi terbalik, bila media agar secepat mungkin digunakan, media agar dikeringkan pada inkubator suhu 37°C selama 6-12 jam media siap digunakan.

#### Larutan Fisiologis 0,85%

Timbang NaCl sebanyak 8,5 g tambahkan dengan *aquadest* sebanyak 1.000 mL aduk sampai homogen, dan pipet ke masing-masing dalam botol volume 50 mL sebanyak 9 mL atau ke dalam masing-masing tabung reaksi volume 20 mL sterilkan pada *autoclave* sama halnya dengan sterilisasi media agar.

#### Isolasi Rumput laut

Bakteri fisolover rumput laut yang diisolasi adalah jenis rumput laut jenis *Caulerpa lentifera*, *Euchema spinosum*, dan *Kappaphycus alvarezii* yang diperoleh dari perairan Takalar dan Bantaeng, Sulawesi Selatan. Rumput laut yang masih segar dimasukkan dalam kantong plastik steril dan selanjutnya dibawa ke Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Riset Perikanan

Budidaya Air Payau, Maros. Isolasi bakteri filosofer dilakukan dengan dua cara yaitu:

1. Teknik penanaman langsung yaitu rumput laut yang diambil dari lokasi dibilas dengan air laut steril lalu dipotong beberapa bagian kemudian diletakkan secara pelan-pelan di atas permukaan agar *Marine Agar* dan *Tryptic Soy Agar*, diinkubasi dalam inkubator suhu 28°C selama 24-48 jam dengan posisi petri tidak terbalik agar rumput laut tetap menempel di atas permukaan media agar. Koloni yang tumbuh diamati bentuk warna, elevasi, dan tepiannya, selanjutnya yang tumbuh dipindahkan ke dalam media *triptic soy agar* miring untuk uji lanjut.
2. Teknik pengenceran rumput laut yaitu rumput laut yang diambil dari lokasi dibilas dan dibersihkan dengan *aquadest* steril lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik steril. Media yang digunakan adalah media larautan garam fisiologis 0,85%, di mana rumput laut yang diambil dari lokasi dipotong lalu digerus sebanyak 1 g, 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 sesuai dengan pengenceran yang kita inginkan biasanya sampai pengenceran ( $10^6$ ). Setiap pengenceran diinokulasi 0,1 mL ke dalam media *triptic soy agar* dan *marine agar* lalu diratakan dengan stik penyebar, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (28°C) selama 24-48 jam pada inkubator. 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 Penanaman Langsung

Karakterisasi morfologi dari isolat bakteri filosofer yang diisolasi dari rumput laut yang diisolasi secara langsung disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

### Teknik Pengenceran

Karakterisasi morfologi dari isolate bakteri filosofer yang diisolasi dari rumput laut yang disajikan dengan teknik pengenceran disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 1. Karakterisasi secara morfologi bakteri filosofier dari rumput laut dengan penanaman langsung

Kode/jenis	Lokasi	Media	Bentuk, warna, elevasi, tepian, koloni bakteri yang tumbuh	Persentase (%)
<i>Caulerpa lentillifera</i> (lawi-lawi hijau)	Takalar	MA	Tidak beraturan, putih, datar, menyebar tidak beraturan	100
		TSA	Tidak beraturan, putih, datar, menyebar tidak beraturan	100
Pemburu basah ( <i>Cottoni denticulatum</i> )	MA		Bulat, merah putih, cembung, licin	25
			Bulat, putih, cembung, licin	25
			Tidak beraturan, putih, datar, berombak	25
			Bulat, merah tua, cembung, licin	25
	TSA		Bulat, kuning, cembung, licin	20
			Bulat, putih, seperti tombol, di tengah berkerut	20
			Bulat, transparan, datar, agak kering	10
			Bulat, merah muda, cembung, licin	20
		Tidak beraturan, kremkecoklatan, datar	30	
<i>Cottoni</i> hijau ( <i>Kappaphycus alvarezii</i> )	Bantaeng	MA	Bulat, putih, cembung, licin	30
			Bulat, merah kecoklatan, cembung, licin	20
			Bulat, kuning, cembung, licin	30
			Bulat, oranye, cembung, licin	10
			Bulat, putih krem kawah, licin	10
	TSA		Bulat, putih krem kawah, bercelca	20
			Bulat, putih krem seperti tombol, berselia	20
			Bulat, kremkecoklatan, konsentris, berselia	10
			Bulat, putih, kertas timbul, bergelombang	10
			Bulat, kuning krem keriput, licin	20
		Bulat, kuning, cembung, licin	20	

Keterangan:

MA = Marine agar; TSA = Tryptic soy agar

*Kappaphycus alvarezii*

Teknik pengenceran

Gambar 1. Hasil isolasi bakteri filosofier dari daun mangrove dengan teknik penanaman langsung

Tabel 2. Karakterisasi secara morfologi bakteri filosofier dari rumput laut dengan teknik pengenceran

Kode/jenis	Lokasi	Media	Bentuk, warna, elevasi, tepian, koloni bakteri yang tumbuh	Persentase (%)			
<i>Caulerpa lentillifera</i> (lavi-lavi hijau)	Takalar	MA	Bulat sedang, putih, cembung, licin	50			
			Bulat kecil, putih, seperti tetesan air cembung, licin	10			
			Bulat, putih, cembung, konsentris	10			
			Bulat, putih, cembung, licin	20			
			Bulat, oranye, cembung, licin	10			
		TSA	Bulat, kremkecoklatan, cembung, berombak	40			
			Bulat, bening transparan, cembung, licin	10			
			Bulat, merah muda, cembung, licin	10			
			Bulat, kuning muda, cembung, licin	5			
			Tidak beraturan, putih, keriput, agak kering	5			
			Bulat, putih, cekung, ke dalam media agar	10			
			Bulat, oranye, cekung, ke dalam media	10			
			Tidak beraturan, krem rata, tidak beraturan	10			
			Pemburu basah ( <i>Cottoni denticulatum</i> )		MA	Bulat, kuning tua, cembung, licin	10
Bulat, putih, cembung, bercabang	30						
Bulat, putih, cembung, licin	60						
TSA	Bulat, kremkekuningan, cembung, bergerigi	20					
	Bulat, oranye, cembung, licin	10					
	Bulat, kuning, cembung, agak kering licin	10					
	Bulat, merah bata, cembung, licin	10					
	Tidak beraturan, krem keriput berombak	15					
	Bulat, kuning, cembung, agak kering berombak	5					
	Bulat, putih, timbul, licin	15					
	Bulat, putih, cembung, seperti tetesan air licin	15					
	<i>Cottoni hijau</i> ( <i>Kappaphycus alvarezii</i> )	Bantaeng			MA	Bulat, agak putih, cembung, licin	30
						Bulat, oranye, cembung, licin	25
						Bulat, putih transparan, cembung, licin	25
Tidak beraturan, putih agak abu-abu, cembung, berombak			20				
TSA			Bulat, kremkecoklatan, datar, bergerigi	20			
			Bulat, kuning, cembung, licin	20			
			Tidak beraturan, datar, menyebar berombak	40			
			Bulat, kekuningan, tepian timbul	20			

Keterangan:

MA = Marine agar

TSA = Trypic soy agar



*Caulerfa lentillifera*



Hasil teknik pengenceran

Gambar 2. Hasil isolasi bakteri rumput laut dengan teknik pengenceran

Dari hasil karakterisasi secara morfologi pada teknik penanaman langsung bakteri dari rumput laut terlihat bahwa pada jenis *Caulerfa lentillifera* bentuk, elevasi, dan tepiannya umumnya sama baik yang tumbuh pada media *triptyc soy agar*, maupun pada *marine agar*, sedang untuk jenis pemburu basah bentuk pada umumnya sama elevasi dan tepiannya juga relatif sama baik yang tumbuh pada media *triptic soy agar* maupun pada *marine agar* baik itu penanaman secara langsung maupun penanaman dengan teknik pengenceran. Pada penanaman langsung pada rumput laut jenis *Cottoni* hijau bentuknya relatif sama yaitu umumnya bulat tetapi dengan metode pengenceran bentuk sama tapi warna tidak relatif sama antara media *tryptic soy agar* dan *marine agar* sedang elevasi relatif sama, sedang tepiannya pada umumnya penanaman langsung sama yaitu licin, tetapi pada teknik pengenceran tepiannya bervariasi.

## KESIMPULAN

Teknik pengenceran dalam penentuan populasi bakteri dari rumput laut lebih baik digunakan, dibanding dengan menggunakan teknik penanaman langsung.

## DAFTAR ACUAN

- Austin, B. 1993. *Methods in Aquatic Bacteriology*. Jhon Wiley and Sons. Chinhester. New York. New York. Brisbane Toronto. Singapore, 425 pp.
- Hambali, E., Suryani, A., & Wadli. 2004. *Membuat Aneka Olahan Rumput Laut*. Penerbit Penebar Swadaya, Bogor, hlm. 1-10.
- 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
- Nurjanna. 2006. *Pola Pertumbuhan Bakteri Nutrien Broth Pada Media Nutrien Broth*. *Bul. Tek. Litkayasa Akuakultur*, 5(1): 53-55.
- Nurjanna. 2009. *Teknik Isolasi Bakteri Yang diisolasi dari Daun Mangrove Sebagai Kandidat Probiotik*. *Bul. Tek. Litkayasa Akuakultur*, 8(2):169-172.