

PENGAMBILAN SEDIMEN TAMBAK UNTUK KEPERLUAN ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI

Nurjanna

Teknisi Litkayasa pada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

PENDAHULUAN

Sedimen tambak merupakan suatu wadah media penumbuh atau habitat organisme hidup di alam dan di darat untuk budi daya tanaman maupun di dalam tambak untuk kepentingan hidup suatu organisme di dalam air. Sedimen adalah suatu sistem yang terbagi atas beberapa fase yang mengandung air, udara, dan bahan-bahan mineral zat organik serta jasad-jasad renik yang hidup dan berpengaruh langsung kepada lingkungan (Scoder, 1972 dalam Nurhayati *et al.*, 1986).

Dalam sedimen tambak terdapat bahan organik yang didominasi oleh selulosa, hemiselulosa, lignin, dan bahan-bahan humik yang tergolong komponen organik yang relatif sulit diuraikan (Hakim *et al.*, 1986 dalam Mustafa, 2001) sedangkan tanah tambak udang intensif terutama sedimennya didominasi oleh komponen organik protein yang berasal dari sisa pakan dan kotoran udang yang relatif mudah diuraikan (Mustafa *et al.*, 2001). Dalam budi daya, sedimen di tambak merupakan salah satu faktor utama penentu berhasilnya suatu budi daya, sehingga perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri yang terdapat di dalam sedimen baik itu bakteri pengurai maupun bakteri lainnya.

POKOK BAHASAN

Pengambilan Sedimen Tambak

Hal-hal yang perlu diperhatikan

Sebelum dilakukan pengambilan sedimen tambak untuk keperluan analisis bakteriologi, beberapa hal yang perlu diperhatikan di antaranya: luas areal tambak yang akan disampling, tekstur tanah dasar di tambak, dan peralatan yang akan digunakan. Luas tambak yang disampling akan menentukan berapa titik yang akan disampling untuk setiap petakan tambak, sedangkan tekstur tanah dasar tambak berkaitan dengan alat dan cara mengoleksi sampel tanah. Jika luas petakan berkisar 500 m²--1.000 m² maka dua

titik sudah cukup, tetapi jika luas petakan lebih besar dari 1.000 m² diperlukan dua sampai lima titik. Apabila dirasa terlalu banyak titik yang harus disampling maka dapat juga dilakukan secara komposit, yaitu menggabungkan ulangan antar perlakuan yang sama menjadi satu. Jika tekstur tanah tambak liat maka pengambilan sampel tanah dengan menggunakan bor tanah mutlak diperlukan, tapi jika berlumpur pengambilan tanah cukup menggunakan sendok tanah yang telah disterilkan.

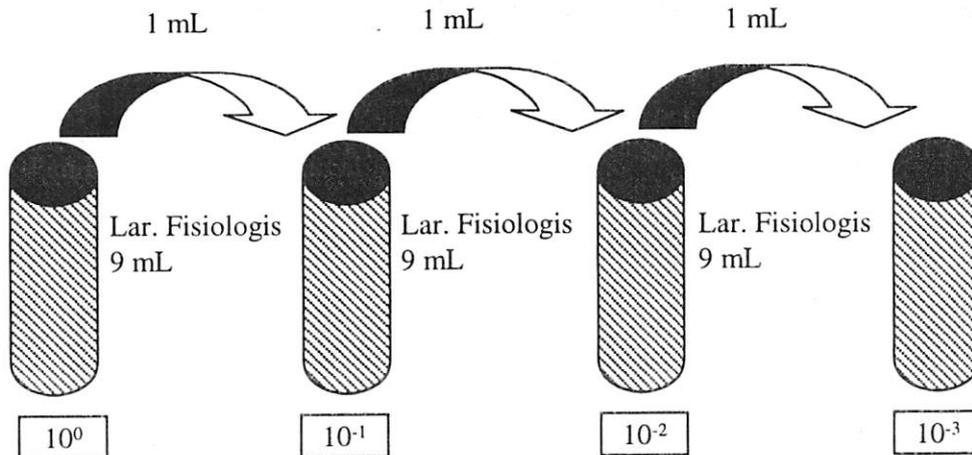
Cara pengambilan

Sedimen tambak yang diambil pada kedalaman 0--5 cm dengan bobot basah 1--5 g/titik dimasukkan ke dalam botol steril. Botol-botol yang telah berisi sampel tanah dimasukkan dalam *cold box* yang berisi bungkahan es untuk mempertahankan kondisi sedimen (Benson, 1985). Sampel-sampel tersebut dibawa ke laboratorium untuk selanjutnya dianalisis.

Isolasi Bakteri

Sedimen ditimbang dengan menggunakan timbangan elektrik sebanyak 1 g bobot basah dengan menggunakan sendok aluminium yang telah disterilisasi terlebih dahulu dengan alkohol 70%, kemudian dimasukkan ke dalam botol volume 50 mL yang berisi larutan fisiologi 0,85% NaCl 9 mL larutan. Selanjutnya divorteks supaya homogen. Setelah homogen dilakukan pengenceran berseri (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, dan seterusnya). Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan sampel dan dimasukkan ke dalam larutan fisiologis 0,85% NaCl 9 mL. Begitu seterusnya untuk pengenceran selanjutnya (Gambar 1).

Dari setiap pengenceran diambil 0,1 mL secara duplo lalu disebar ke media penumbuh. Media penumbuh yang digunakan tergantung tujuan isolasi bakteri, jika yang akan dilihat populasi bakteri *Vibrio* maka digunakan media TCBSA (Thiosulfate Citrate Bile Sucrosa Agar), jika yang akan dilihat bakteri umum maka digunakan TSA (Tryptic Soy Agar), setelah itu diratakan dengan batang penyebar yang



Gambar 1. Proses pengenceran

telah disterilkan, lalu diinkubasi selama 24--48 jam pada suhu 28°C -- 37°C dalam inkubator dengan posisi "petridish" tertutup dan terbalik yang pada akhirnya akan tumbuh koloni bakteri pada media dan selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh secara manual maupun dengan menggunakan "coloni counter".

Pembuatan Kultur Murni

Koloni yang tumbuh pada media TCBSA atau TSA diamati bentuk, warna, pendaran cahaya, elevasi, dan ukuran; kemudian diisolasi ke media TSA yang dimiringkan. Beberapa koloni yang terpisah dari koloni-koloni lainnya, diambil dengan menggunakan jarum ose berbentuk lurus yang sebelumnya dipanaskan di atas api bunsen sampai memerah lalu didinginkan, kemudian ditumbuhkan secara goresan. Biakan bakteri tersebut diinkubasi selama 24--48 jam pada suhu 28°C -- 30°C dalam inkubator untuk selanjutnya dikarakterisasi secara fisiologi dan biokimia berdasarkan Hadioetomo (1993).

Cara Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri sedimen tambak dilakukan dengan berbagai macam kriteria pengamatan, meliputi morfologi bakteri dan uji biokimia. Pada pengamatan morfologi bakteri dilakukan pengenalan warna, sifat tembus cahaya, bentuk pinggiran, sifat permukaan, dan bentuk koloni. Setelah diperoleh koloni yang terpisah dapat dilakukan berbagai uji biokimia. Untuk uji biokimia dilakukan beberapa pengujian. Uji yang dilakukan untuk penentuan spesies *Vibrio* meliputi beberapa tahapan pengujian yaitu swarming, luminiscence, VP test, arginin dehidro, gas from

glucosa, growtat 40°C , lysin decarboxilat, pigmentasi, amylase sucrosa, indol, ornitin decarboxilat, putricine, ethanol, serin, heptanoate, xantine, aminobutyrate, arabinose, cellulose, glucuronate, ketocglutarate, L-alanin, leucin, dan propionate. Identifikasi bakteri sampai spesies dilakukan menurut petunjuk Muir (1996).

Dalam penentuan spesies bakteri dilakukan dengan mentabulasi data fisiologi dan biokimia hasil pengamatan ke dalam Tabel 1.

Langkah selanjutnya dianalisis dengan menggunakan *software* yang dikenal dengan program "fortan computer" yang dimodifikasi oleh Muir (1996). Dari data tersebut di atas didapatkan jenis bakteri spesies *Vibrio harveyii*.

KESIMPULAN

Untuk mendapatkan hasil yang akurat dan teliti, perlu pemahaman mulai dari cara penanganan pengambilan sampel sedimen, penggunaan alat yang tepat di lapangan. Alat dan bahan di laboratorium sebelumnya dilakukan sterilisasi, baik itu sterilisasi kering maupun sterilisasi basah untuk menghindari adanya kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Benson, H.J. 1985. *Microbiological 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 Posedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia, Jakarta. p. 62--68.
- Mustafa, A. 2001. Pemanfaatan bakteri pengurai bahan organik asal tanah gambut pada tanah dari

Tabel 1. Contoh data identifikasi bakteri *Vibrio* yang didapatkan dari sedimen tambak pada penelitian uji vaksinasi dengan aplikasi vitamin C di tambak Maranak, Maros

Uji Biokimia	Nilai	Hasil Pengamatan	
Swarming	4	-	
Luminneccense	2	-	0
VP test	1	-	
Arginine dihydr	4	-	
Gas from	2	-	1
Growthat 40°C	1	+	
Lysine decarb	4	+	
Pigmentation	2	-	5
Amylase	1	+	
Sucrose	4	-	
Indole	2	-	1
Ornithine	1	+	
Putrescine	4	-	
Ethanol	2	-	1
Serine	1	+	
Heptanoat	4	+	
Xantine	2	-	4
Aminobutyrate	1	-	
Arabinose	4	-	
Cellubiose	2	+	2
Glucuronate	1	-	
Ketoglutarate	4	+	
L-alaninine	2	-	4
Leucine	1	-	
Propionate	4	+	4

tambak udang intensif. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia* 7(1):31--40.
 Muir, P. 1996. *Identification of Vibrio and Pseudomonas Bacteria*. Department of Microbiology, Biomed-

cal, and Tropical Veterinary Science. James Cook University of North Queensland. Australia. 6 pp.
 Nurhajati *et al.* 1986. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Penerbit Universitas Lampung.