

TEKNIK ISOLASI BAKTERI PROTEOLITIK DARI SUMBER AIR PANAS CIWIDEY, BANDUNG

Mikdarullah dan Aditiya Nugraha

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan

Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154

E-mail: pelnisbppbat@yahoo.com

ABSTRAK

Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya di media buatan sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Pengambilan sampel dilakukan di beberapa lokasi sumber air panas kawah putih dan kawah Rengganis, Ciwidey, Bandung. Kegiatan ini bertujuan mendapatkan kandidat bakteri proteolitik hasil isolasi dari air dan lumpur yang diambil dari beberapa titik di lokasi sumber air panas. Pengambilan sampel air dan lumpur menggunakan tabung plastik 25 mL, selanjutnya sebanyak 1 mL sampel diinokulasi dalam tabung yang berisi 9 mL media TSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 40°C. Hasil kultur di TSB diambil 1 mL selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan salin 0,85% dan diaduk sampai homogen, kemudian diambil sebanyak 100 µL dikultur dengan cara disebar atau *spread plate* di media TSA, kemudian cawan petri diinkubasi selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dimurnikan dengan metode penggoresan kuadran berulang sampai didapatkan koloni bakteri yang tunggal dan seragam. Isolat-isolat koloni tunggal yang sudah murni selanjutnya masing-masing dikultur di media TSA tabung miring dengan pengkodean sesuai sampel yang didapat. Dari kegiatan ini didapatkan sebanyak sembilan isolat dari titik sumber air panas, yaitu dua isolat dari daerah kawah putih Ciwidey, dan tujuh isolat dari sumber air panas Rengganis, Ciwidey, Bandung.

Kata kunci: isolasi mikroba; sumber air panas; bakteri proteolitik

PENDAHULUAN

Isolasi mikroba ialah memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan alamiahnya dan menumbuhkannya pada media buatan sehingga diperoleh kultur murni. Kultur murni adalah kultur yang sel-sel mikrobaanya berasal dari pembelahan dari satu sel tunggal. Kultur murni sangat berguna di dalam mikrobiologi yaitu untuk menelaah dan mengidentifikasi mikroorganisme dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam media buatan. Ada beberapa isolasi mikroba yakni (Wati, 2013):

- Metode gores atau *streak plate* menggunakan *loop* ose dan menggoreskannya ke permukaan media agar dengan pola tertentu.
- Metode tuang atau *pour plate* yaitu mencampur suspensi bakteri dengan medium agar pada suhu 50°C dan menuangkannya pada cawan petri.
- Metode sebar atau *spread plate* dilakukan dengan menuangkan suspensi bakteri ke atas medium agar kemudian menyebarkannya secara merata menggunakan trigalski atau *L glass*.

Pada pemindahan bakteri dari media lama ke media baru diperlukan ketelitian dan kesterilan pada alat-

alat yang digunakan supaya dapat dihindari terjadinya kontaminasi. Pada pemindahan bakteri ke media cawan petri yang baru, maka setelah itu, cawan petri tersebut harus dibalik, hal ini berfungsi untuk menghindari adanya tetesan air yang mungkin melekat pada dinding tutup cawan petri (Alam *et al.*, 2013). Dalam mempelajari sifat pertumbuhan dari masing-masing jenis mikroorganisme, maka mikroorganisme tersebut harus dipisahkan satu dengan yang lainnya sehingga didapatkan kultur murni yang disebut isolat. Kultur murni diperoleh dengan cara isolasi menggunakan metode tuang maupun gores (Efita, 2010).

Untuk mempelajari kehidupan dan keragaman bakteri diperlukan suatu usaha untuk mengembangbiakkan mikroorganisme bakteri dalam skala laboratorium. Mengembangbiakan ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri dari sumber isolat seperti tanah, lumpur, air, udara, dan limbah produksi dalam media yang mengandung nutrisi, baik media umum maupun media selektif. Bakteri proteolitik merupakan salah satu bakteri termofilik yang tumbuh dari lingkungan dengan suhu tinggi seperti gunung berapi dan sumber air panas dengan suhu optimum

pertumbuhan mencapai lebih dari 60°C. Enzim yang dapat dihasilkan dari mikroorganisme termofilik antara lain selulase, amilase, protease, kitinase, dan lipase (Rosliana, 2009). Tujuan kegiatan ini adalah mendapatkan kandidat bakteri proteolitik hasil isolasi sampel lumpur dan air yang diambil dari sumber air panas.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Kegiatan pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan Februari sampai Maret di lokasi sumber air panas yaitu: kawah putih Ciwidey dan sumber air panas kawah Rengganis, Ciwidey, Kabupaten Bandung (Gambar 1). Selanjutnya isolasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi kelompok peneliti Nutrisi dan Teknologi pakan.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah: sampel air dan lumpur yang diambil dari beberapa titik sumber air panas, media kultur *Trypton Soy Agar* (TSA), media *Trypton Soy Broth* (TSB) tabung dengan volume 9 mL, larutan salin 0,85% volume 9 mL, *aquadest* steril, dan alkohol 70%.

Alat yang digunakan pada kegiatan ini adalah: tabung plastik 25 mL, sendok panjang, aluminium *bag*, *autoclave*, jarum ose, *L glass*, *micropipette* 100-1.000 μ L, cawan petri, erlenmeyer, *laminar flow*, inkubator, bunsen, tabung reaksi.

Metode

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air dan lumpur diambil dari titik sumber air panas yang mudah dijangkau, sampel lumpur diambil menggunakan sendok gagang panjang selanjutnya dimasukan ke dalam tabung plastik dan diberi label. Untuk sampel air diambil langsung

menggunakan tabung plastik ukuran 25 mL yang sebelumnya tabung sudah diberi kode tertentu (Gambar 3a). Sampel selanjutnya dibungkus aluminium *foil* berdasarkan lokasi pengambilan, kemudian disimpan di dalam tas aluminium untuk menjaga kestabilan suhu sampel.

Isolasi Sampel

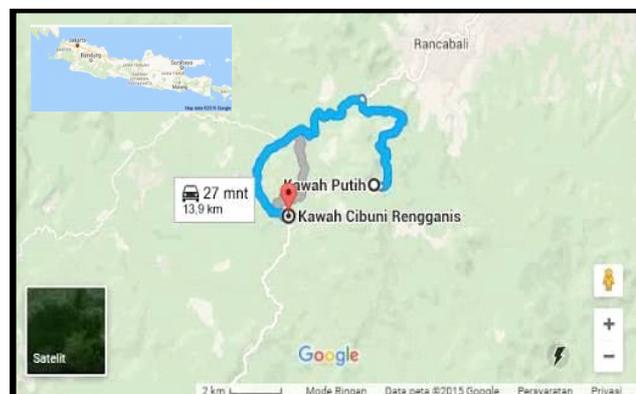
Sampel pada tabung diaduk terlebih dahulu supaya homogen, sebanyak 1 mL sampel diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi 9 mL media TSB, sampel di-*vortex* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 40°C. Setelah diinkubasi, sampel diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 9 mL larutan salin 0,85% diaduk sampai homogen, larutan salin 0,85% yang mengandung kultur sampel diambil sebanyak 100 μ L kemudian dikultur di media TSA dengan metode sebar atau *spread plate* dan diinkubasi selama 24 jam. Dalam waktu 24 jam akan tumbuh koloni campuran bakteri yang berbeda bentuk dan warna.

Pemurnian

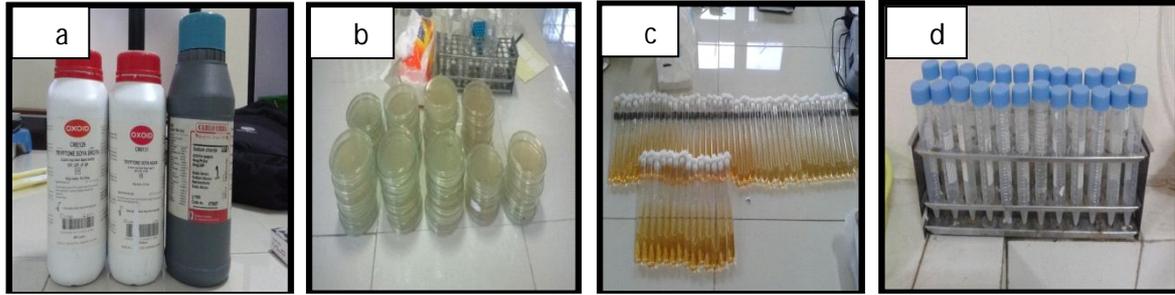
Koloni-koloni bakteri yang tumbuh hasil isolasi selanjutnya dimurnikan dengan metode penggoresan kuadran di media TSA dan dilakukan berulang sampai didapatkan koloni bakteri murni yang tunggal dan seragam (Gambar 3b). Isolat-isolat koloni tunggal yang sudah murni selanjutnya dikoleksi dengan cara masing-masing isolat dikultur di media TSA tabung miring dengan pengkodean sesuai sampel yang didapat (Gambar 3c). Sampel hasil isolasi disimpan di inkubator untuk selanjutnya diidentifikasi dan diseleksi secara kualitatif dan kuantitatif.

HASIL DAN BAHASAN

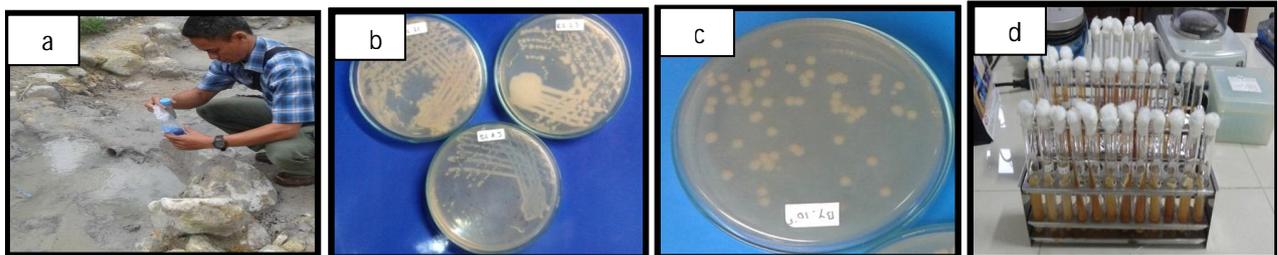
Hasil pengambilan sampel air dan lumpur dari sumber air panas selanjutnya diisolasi di laboratorium. Hasil analisis terhadap sampel yang telah diisolasi disajikan pada Tabel 1.



Gambar 1. Peta lokasi kawah putih dan kawah Rengganis, Ciwidey-Bandung.



Gambar 2. Bahan dan alat yang digunakan: a) media tumbuh, b) media TSA cawan, c) media TSA tabung, dan d) tabung sampel.



Gambar 3. Pengambilan sampel di sumber air panas (a), pemurnian dengan penggoresan kuadran (b), isolat bakteri yang terpisah (c), koleksi bakteri hasil isolasi di media TSA tabung (d).

Dari hasil kegiatan isolasi sampel kandidat bakteri proteolitik dari sumber air panas, didapatkan sebanyak sembilan isolat, yaitu dua isolat dari daerah Kawah Putih dan tujuh isolat dari sumber air panas Rengganis, Ciwidey, Bandung (Tabel 1). Bentuk koloni dari daerah

Kawah Putih adalah bulat sedang dengan dua warna yang berbeda yaitu warna krem dan putih jernih atau benih. Sedangkan koloni yang diperoleh dari sumber air panas Rengganis, Ciwidey lebih beragam dari bulat kecil sampai sedang dan ada juga yang berbentuk

Tabel 1. Isolat hasil isolasi dari sumber air panas

Asal sampel	Kode sampel	Bentuk	Warna	Keterangan
Kawah Putih, Ciwidey	Cw A 1	-	-	Tidak tumbuh
	Cw A 2	-	-	Tidak tumbuh
	Cw A 3	-	-	Tidak tumbuh
	Cw A 4	-	-	Tidak tumbuh
	Cw L 1	Bulat sedang	Krem	
	Cw L 2	Bulat sedang	Putih bening	
	Cw L 3	-	-	Tidak tumbuh
	Cw L 4	-	-	Tidak tumbuh
Rengganis, Bandung	Rg A 1	Bulat kecil	Krem	
	Rg A 2	Lonjong	Coklat muda	
	Rg A 3	Bulat kecil	krem	
	Rg A 4	-	-	Tidak tumbuh
	Rg A 5	-	-	Tidak tumbuh
	Rg L 1	Bulat sedang	Putih susu	
	Rg L 2	Bulat sedang	Putih susu	
	Rg L 3	Bulat kecil	Putih bening	
Rg L 4	Bulat kecil	Putih bening		

lonjong. Warna koloninya pun beragam mulai coklat muda, krem putih susu sampai putih bening. Media yang digunakan pada kegiatan ini adalah media agar TSA (*Trypton Soy Agar*), karena media TSA merupakan media umum dan mengandung substrat yang baik untuk memisahkan campuran mikroorganisme sehingga masing-masing koloni bisa terpisah dengan waktu pertumbuhan massa sel mikroba dalam waktu 18-48 jam.

KESIMPULAN

Dari hasil kegiatan isolasi dari sumber air panas, didapatkan sebanyak dua isolat dari daerah kawah putih dan tujuh isolat dari sumber air panas Rengganis, Ciwidey, Bandung untuk dijadikan kandidat bakteri proteolitik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, ketua kelompok peneliti dan peneliti nutrisi dan teknologi pakan, serta teman-teman teknisi.

DAFTAR ACUAN

- Alam, M.S., Sarjono, P.R., & Aminin, A.L.N. (2013). Isolasi bakteri selulolitik termofilik kompos pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Cheminfo*, 1(1) 190-193.
- Efita, M., Munawar, S., & Oktasari, A. (2010). Senyawa antimalaria dari jamur endofitik tumbuhan sambiloto (*Andographis paniculata* Nees). *Jurnal Natur Indonesia*, 13(2), 123-129.
- Roslina. (2009). Isolasi bakteri dan uji aktivitas protease termofilik dari sumber air panas.
- Wati, D.S. & Rukmanasari. (2013). Pembuatan biogas dari limbah cair industri bioetanol melalui proses anaerob. Universitas Diponegoro. Semarang.