

ISOLASI BAKTERI LAUT DARI PERAIRAN MALALAYANG SULAWESI UTARA

(*Isolation of Marine Bacteria From Malalayang Waters, North Sulawesi*)

Bella Wondal^{1*}, Elvy Like Ginting¹, Veibe Warouw¹, Stenly Wullur¹, Sandra Olivia Tilaar¹, Ferdinand Frans Tilaar²

1. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi.
 2. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perikanan, FPIK Unsrat
- *e-mail : bellajohanawondal26@gmail.com

ABSTRACT

Marine bacteria have a lot of potential in exploring the enzyme that can be developed, such as a producer of proteorhodopsin, act as hydrocarbon chlorlastic and can degrade oil. This study aims to obtain isolates and can characterize the bacterial morphology. Malalayang Waters is one of the marine bacterial habitats that has potential area to be studied. This study aims to isolate marine bacteria from Malalayang Waters. These marine bacteria first were diluted into sea water before they were grown on *Nutrient Agar* (NA). Based on the results of this study it was found that marine bacterial isolated were separated based on their morphological characteristics. The dominant morphological characteristics were yellow whites which dominant shape were irregular.

Keywords: bacterial, dilution, isolation.

RINGKASAN

Bakteri laut memiliki banyak potensi yang dapat dikembangkan. Seperti penghasil proteorhodopsin, berperan sebagai hidrokarbonoklastik dan dapat mendegradasi minyak. Perairan Malalayang merupakan salah satu habitat bakteri laut yang belum diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri laut dari Perairan Malalayang. Bakteri laut ditumbuhkan pada media agar + air laut, selain itu bakteri juga dilakukan pengenceran terhadap air laut sebelum bakteri ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA). Berdasarkan hasil penelitian ini isolat bakteri laut ditemukan, bakteri tersebut dipisahkan berdasarkan karakteristik morfologinya. Karakteristik morfologi yang dimiliki dominan berwarna putih kuning dan memiliki bentuk yang dominan tidak teratur. Hal ini dapat memperlihatkan perbedaan bakteri laut dari Perairan Malalayang yang tumbuh.

Kata kunci: bakteri, pengenceran, isolasi.

PENDAHULUAN

Perairan Malalayang terletak di ujung selatan Kota Manado Provinsi Sulawesi Utara yang memiliki potensi untuk dikembangkan. Salah satu yang dapat dikembangkan dari perairan ini adalah bakteri yang mana bakteri dapat ditemukan pada lokasi dan obyek yang luas diperairan laut, salah satunya adalah pada substrat permukaan dasar perairan (Wahyuni, 2013). Bakteri di laut mempunyai peranan yang

sangat penting di dalam menjaga kesinambungan kehidupan laut karena bakteri mempunyai kemampuan untuk mendegradasi senyawa organik menjadi senyawa anorganik.

Bakteri di alam umumnya tumbuh dalam populasi yang terdiri dari berbagai spesies. Oleh karena itu, untuk mendapatkan biakan murni, sumber bakteri harus diperlakukan dengan pengenceran, agar di dapat hanya 100-200 bakteri yang ditransfer ke medium, sehingga dapat

tumbuh menjadi koloni yang berasal dari bakteri tunggal (Pelczar & Chan, 1986).

Proses pemisahan / pemurnian dari bakteri lain perlu dilakukan karena semua pekerjaan mikrobiologis memerlukan suatu populasi yang hanya terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Teknik tersebut dikenal dengan isolasi bakteri. Terdapat berbagai cara mengisolasi bakteri, yaitu isolasi pada agar cawan, isolasi pada medium cair, dan isolasi sel tunggal (Hardiaty *dkk*, 2011).

Oleh sebab itu, lewat penelitian ini bakteri akan diisolasi dari Perairan Malalayang.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel air laut diambil di Perairan Malalayang, Sulawesi Utara (Gambar 1). Pengambilan sampel air laut dilakukan dengan mengambil air laut saat air laut surut dan dimasukkan kedalam botol. Setelah itu sampel tersebut dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan untuk diisolasi bakteri yang hidup didalamnya.



Gambar 1. Peta Pengambilan Sampel

Media Pertumbuhan Bakteri

Sebelum dilakukan kultur bakteri, disiapkan terlebih dahulu media kultur bakteri. Media kultur bakteri yaitu media *Nutrient Agar* (NA)

Media *nutrient agar* dibuat dengan tujuan sebagai media kultur isolat bakteri. Sebelum membuat media *nutrient agar*, dilakukan sterilisasi cawan petri di dalam *autoclave* selama ± 1 jam dengan suhu 121°C . Setelah itu, bahan media agar dibuat dengan mencampurkan 1 gram *nutrient broth* (1%), dan 2gram agar (2%) ke

dalam 50 ml air laut steril dan 50 ml aquades pada Erlenmeyer yang berkapasitas 250 ml dan diaduk menggunakan *magnetic steerer*. Setelah bahan teraduk secara sempurna, erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil dan disterilkan.

Pengenceran Sampel

Pengenceran sampel ini bertujuan untuk memperoleh isolat murni bakteri. Setiap koloni bakteri yang tumbuh dipisahkan berdasarkan warna, ukuran dan

bentuk koloni kemudian diisolasi dengan menumbuhkannya pada media yang sama menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama ± 1 jam.

Adapun proses pengenceran yang dilakukan dengan cara : 1 ml sampel air laut diteteskan kedalam 9 ml air laut steril pada tabung reaksi kemudian dilanjutkan ke tabung kedua hingga tabung ketiga kemudian beri label setiap tabung untuk menunjukkan pengenceran pertama hingga keempat. Ketiga tabung reaksi itu masing-masing di homogen (campur) menggunakan mikro pipet.

Media yang sudah steril kemudian dituang dan dibagi secara aseptik ke dalam *petry disk* steril. Selanjutnya, media agar didiamkan hingga mengeras dan ditutup menggunakan *Cling Wrap* agar tidak terkontaminasi. Setelah mengeras dan dingin, dibungkus menggunakan plastik pembungkus dan diletakkan di dalam inkubator selama 2×24 jam untuk memastikan media dalam keadaan steril dan tidak kontaminasi. Media agar digunakan sebagai media tumbuh dan isolasi bakteri.

Isolasi Bakteri

Sampel hasil pengenceran kemudian disebar dalam media NA dengan menggunakan metode penyebaran (spread) dengan cara mengambil $100 \mu\text{l}$ sampel hasil pengenceran, dan masing masing dituang di atas media NA dan disebar menggunakan L-glass. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24- 48 jam. Diamati koloni bakteri yang tumbuh. Setiap koloni bebas bakteri yang tumbuh dikarakterisasi berdasarkan karakteristik morfologi dandiisolasi. Adapun karakteristik morfologi yang diamati meliputi warna, elevasi, ukuran dan tepian koloni bakteri.

Karakterisasi Morfologi Bakteri

Setelah diperoleh koloni bebas bakteri hasil pengenceran, tahap selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi bakteri yang bertujuan untuk melihat ciri-ciri dari bakteri secara fisik.

Hasil karakterisasi morfologi bakteri digambarkan dalam bentuk tabel berdasarkan ukuran, warna, tepian, elevasi, dan bentuk koloni. Morfologi bakteri tersebut ditentukan berdasarkan bentuk koloni bakteri dari Leboffe (2012).

Koloni bakteri yang didapatkan, diamati dan dibedakan berdasarkan perbedaan ukuran, warna, bentuk tepi, pertumbuhan koloni, dan bentuk koloni secara keseluruhan menggunakan patokan karakteristik bakteri dari Leboffe (2012).

Bakteri yang tumbuh pada media agar kemudian di tumbuhkan lagi untuk memperbanyak stok bakteri pada media agar miring. Pembuatan media agar miring dilakukan dengan membuat media agar pada tabung reaksi. Media agar miring dibuat dengan dengan mencampurkan 0,5 gram *nutrient broth* (1%), dan 1 gram agar (2%) ke dalam 2 ml air laut steril dan 25 ml aquades pada Erlenmeyer yang berkapasitas 100 ml dan diaduk menggunakan *magnetic steerer*. Setelah bahan teraduk secara sempurna, erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil dan disterilkan.

Media agar yang steril kemudian dibagi secara aseptik kedalam tabung reaksi. Selanjutnya, media agar didiamkan hingga mengeras dan ditutup menggunakan *Cling Wrap* agar tidak terkontaminasi. Setelah mengeras dan dingin, dibungkus menggunakan plastik pembungkus dan diletakkan di dalam inkubator selama 2×24 jam untuk memastikan media dalam keadaan steril dan tidak kontaminasi. Bakteri yang ada kemudian diinokulasikan menggunakan jarum ose ke dalam media miring.

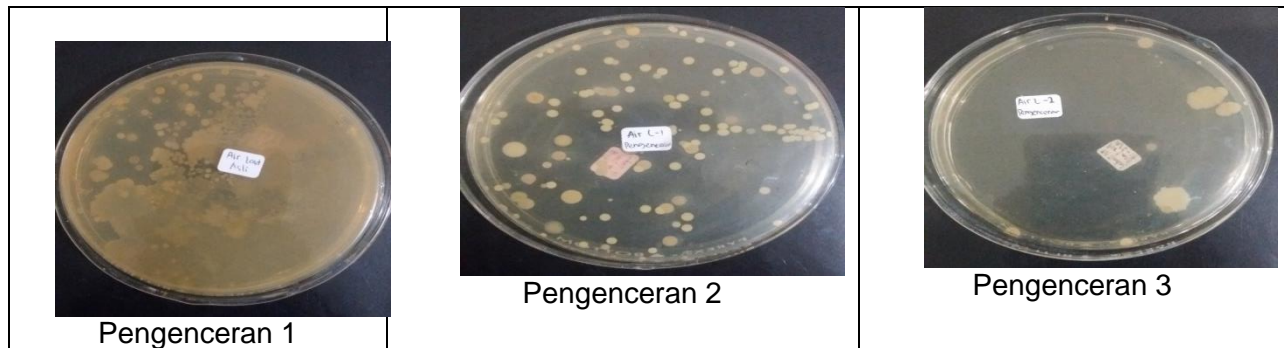
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, 6 isolat bakteri berhasil diisolasi dari Perairan Malalayang. Enam bakteri tersebut diperoleh setelah dilakukan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} dan diperoleh koloni bebas yang terlihat pada Gambar 2. Pada pengenceran 10^{-1} koloni bakteri yang tumbuh sangat padat selanjutnya pada

pengenceran 10^{-2} kepadatan koloni bakteri berkurang dan pada pengenceran 10^{-3} diperoleh koloni bebas bakteri.

Koloni bakteri yang ada kemudian ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) dan air laut. Pertumbuhan bakteri pada media NA disebabkan karena media tersebut mengandung nutrisi yang dapat

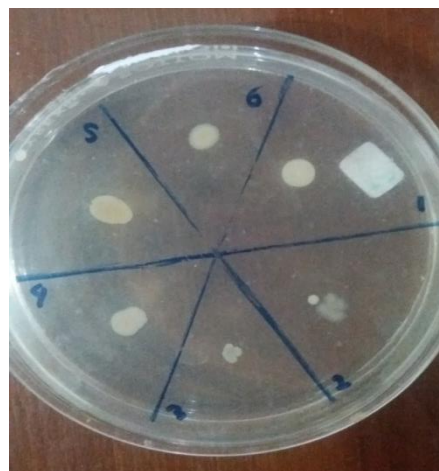
mendukung pertumbuhan bakteri. Menurut Pelczar dan Chan, (2008), semua organisme termasuk bakteri membutuhkan nutrisi untuk memenuhi kehidupan yang diperlukan dalam pertumbuhan organisme tersebut. Air laut digunakan karena sampel merupakan air laut.



Gambar 2. Hasil pengenceran

Setiap koloni bakteri yang tumbuh dipisahkan berdasarkan warna, ukuran dan bentuk koloni, serta dimurnikan dengan menumbuhkannya pada media yang sama yang dapat dilihat pada Gambar 3. Karakteristik koloni bakteri yang diamati

meliputi bentuk, warna, elevasi, dan tepian (Dwijoseputro, 1989). Karakteristik morfologi bakteri diamati berdasarkan Cappucino dan Sherman, (1998). Hasil pengamatan morfologi setiap koloni bakteri air laut disajikan pada Tabel 1.



Gambar 3. Koloni Bakteri Laut

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Laut

Nama	Warna	Tepian	Bentuk	Elevasi
MWM 1	Putih bening	Entire	Round	Convex
MWM 2	Putih susu	Lobate	Irregular	Convex
MWM 3	Putih kuning	Lobate	Irregular	Plateau
MWM4	Putih kuning	Eros	Irregular	Flat
MWM5	Putih kuning	Lobate	Irregular	Flat
MWM6	Putih kuning	Entire	Round	Flat

Terlihat pada Tabel 1, bahwa setiap isolat memiliki karakteristik morfologi yang berbeda baik bentuk koloni, tepian, warna maupun elevasi. Kelima isolat bakteri laut Perairan Malayang didominasi warna putih kuning dan memiliki bentuk koloni bakteri dominan Irregular atau bulat. Hal ini disebabkan karena kepadatan dan kerapatan sel bakteri serta ketersediaan nutrisi dalam media pertumbuhan (Wiley *dkk*, 2008)

Bakteri simbiosis dua jenis alga merah yaitu *Gracilaria* sp. dan *Portieria* sp dari Perairan Tongkeina Sulawesi Utara juga telah berhasil diisolasi dan diperoleh karakteristik yang berbeda dan lima dari kesepuluh isolat bakteri memiliki bentuk morfologi irregular atau tidak teratur (Ginting *dkk*, 2019). Dari perairan Tongkaina Sulawesi Utara juga telah berhasil diisolasi bakteri simbiosis spons dan diperoleh sepuluh isolat bakteri yang bersimbiosis dengan dua jenis spons yakni

Facaplisynopsis sp. dan *Agelas* sp. dengan karakteristik morfologi yang bervariasi. Kesepuluh isolat bakteri tersebut memiliki karakteristik yang umumnya berwarna putih dan kuning dengan bentuk circular (Wantania *dkk*, 2016) dan bakteri tersebut telah berhasil diamplifikasi menggunakan primer 8F dan 1492R (Rangian *dkk*, 2018).

Napitupulu, *dkk* (2019) telah mengisolasi bakteri sebagai media kultur rotifer dan diperoleh dua bakteri yang memiliki karakteristik yang berbeda akan tetapi pada saat dianalisis molekuler menunjukkan bahwa jenis-jenis bakteri ini tergolong dalam genus *Bacillus* sp. Subaryono *dkk.*, (2015) telah mengidentifikasi empat bakteri yang memiliki indeks alginolitik dengan morfologi yang berbeda selanjutnya diidentifikasi molekuler dan menunjukkan kemiripan dengan genus *Bacillus*.



Gambar 3. Isolat Bakteri pada Media Miring

Bakteri laut hasil penelitian ini, lebih lanjut dapat diteliti potensinya. Bakteri laut dilaporkan memiliki banyak manfaat seperti penghasil proteorhodopsin dari untuk aplikasi sel tenaga surya (Tapilatu, 2012), berperan sebagai hidrokarbonoklastik PAH fenotiazin (Yetti *dkk*, 2016) dan juga bakteri laut dibuktikan dapat mendegradasi minyak (Shaumi *dkk*, 2018)

Isolat bakteri yang telah dipisahkan kemudian ditumbuhkan pada media Nutrient Agar miring untuk dijadikan stok. Penampakan bakteri yang tumbuh pada media agar miring dapat dilihat pada Gambar 5.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, enam isolat bakteri laut dari Perairan Malalayang berhasil diisolasi dan bakteri tersebut telah dikarakterisasi morfologinya berdasarkan bentuk, elevasi, tepian dan warna.

Daftar Pustaka

- Cappucino, J.G., dan Sherman, N. 1998. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 5th Edition. California: Benjamin/Cummings Science Publishing. p:94
- Dwijoseputo. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. PT Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Ginting, E. L., Rangan, L., Wantania, L. L., dan Wullur, S. 2019. Isolasi Bakteri Symbiont Alga Merah dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7(2): 394-400.
- Hardiaty, S., Amalia, S., Suparmin, R., Ernawati, T., Febrianti, V., dan Syam, Y.,. 2011. *Inokulasi Bakteri*. Laporan Hasil Penelitian Jurusan Farmasi. Makasar: Politeknik Kesehatan Kemenkes.
- Leboffe, M. J dan B. E. Pierce. 2012. *Brief Microbiology. Laboratory Theory & Application* 2nd Edition. Englewood: Morton Publishing. Madigan, M., Stahl., dan Clark. 2012. *Biology of Microorganisms*. Pearson Education, Inc. San Francisco. Hal 1-44.
- Napitupulu, H. G., Rumengan, I. F., Wullur, S., Ginting, E. L., Rimper, J. R. T. S. L., dan Toloh, B. H. 2019. *Bacillus sp.* sebagai Agenia Pengurai dalam Pemeliharaan Brachionus rotundiformis yang Menggunakan Ikan Mentah sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7(1) :158-169.

- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi,. Isolasi dan Identifikasi Mikroba. Jakarta : widiaya medika. Hal 190-191.
- Pelczar , M. J., dan Chan, E.C. S. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi.Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Rangian, L., Ginting, E. L., Wullur, S., Kaligis, E., Tilaar, S., dan Tumbol, R. 2017. Amplifikasi Isolat Bakteri SF1 Symbion Spons Facaplysynopsis sp. Dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. Jurnal Platax. 6(2): 77-82.
- Shaumi, N, Nursiywani., dan Feliatra. 2018. Kemampuan Degradasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Minyak dengan Sekuens 16S rRNA. Jurnal Universitas Riau.
- Subaryono., Peranginangin, R., Suhartono, M. T., dan Zakaria. F. R. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Alginat Lyasae dari Rumput Laut *Sargassum crassifolium*. JPB Kelautan dan Perikanan 10(1): 1–9.
- Tapilatu, Y. 2012. Eksplorasi Bakteri Laut Penghasil Proteorhodopsin dari Perairan Maluku Untuk Aplikasi Sel Tenaga Surya.Prosiding Isinas. 084: 39-43.
- Wahyuni, E. A. (2013) 'Studi Pendahuluan Kandungan Mikroba Dalam Sedimen Permukaan Dasar Di Perairan Selat Madura, Kabupaten Bangkalan', in, pp. 658–661.
- Waluyo, L. 2004. Mikrobiologi Umum. UMM PRESS,Malang.
- Wantania, L. L., Ginting, E. L., dan Wullur, S. 2016. Isolasi Bakteri Smbion dengan Spons dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi. 3(1):57-65.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M. dan Woolverton., 2008. Prescott, Harley, and Klein's Microbiology Seventh Edition. Newyork: McGraw-Hill.
- Yetti, E. Tonthowi,A., dan Yopi. 2016. Penapisan dan Optimasi Pertumbuhan Bakteri Laut yang Berpotensi sebagai Hidrokarbonoklastik PAH Fenotiazin. JPB Kelautan dan Perikanan 11(2):127-138.