

- GELATIN
- BACTERIA - IDENTIFICATION
ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI GELATINOLITIK ASAL TAMBAK DAERAH GRESIK DAN LAMONGAN

SKRIPSI

PROGRAM STUDI S-1 BUDIDAYA PERAIRAN

KH BP 01/07

Sus
i



OLEH :

IRWAN DWI SUSATYO
SURABAYA - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI GELATINOLITIK ASAL
TAMBAK DAERAH GRESIK DAN LAMONGAN**

**Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

Oleh :

IRWAN DWI SUSATYO

NIM. 060210040 P

Menyetujui,
Komisi Pembimbing



Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si


NIP. 131 569 345



Dra. Rosmanida, M.Kes

NIP. 131 123 075

Mengetahui,
Ketua Program Studi S-1
Budidaya Perairan



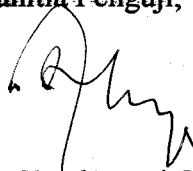
Prof. Dr. Drh. Hj. Sri Subekti B.S., DEA

NIP. 130 687 296

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa Laporan Skripsi ini, baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan.

Menyetujui,

Panitia Penguji,



Ir. Rahayu Kusdarwati, M. Kes.
Ketua



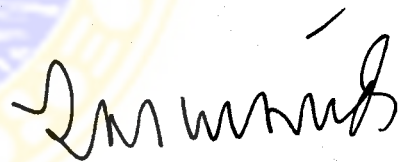
Ir. Woro Hastuti Satyantini, M.Si
Sekretaris



Ir. Sudarno, M.Kes
Anggota



Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si
Anggota



Dra. Rosmanida, M.Kes
Anggota

Surabaya, Oktober 2006

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Ismudiono, M. S., Drh.
NIP. 130 687 297

RINGKASAN

IRWAN DWI SUSATYO. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gelatinolitik Asal Tambak Daerah Gresik dan Lamongan. Dosen Pembimbing Ir. Wahyu Tjahjaningsih M.Si. dan Dra. Rosmanida M.Kes.

Beberapa komoditas budidaya di daerah sekitar Gresik dan Lamongan seringkali memiliki citarasa lumpur. Penyebab timbulnya citarasa lumpur tersebut adalah geosmin, yaitu suatu senyawa yang dihasilkan oleh alga hijau biru dari golongan *Microcystis* sp, selain itu *Microcystis* sp juga diketahui dapat menghasilkan senyawa microcystin yang dapat bersifat hepatotoksik dan neurotoksik. Salah satu cara untuk menekan populasi *Microcystis* sp agar dapat menghindari citarasa lumpur dan menekan kematian terhadap organisme yang dibudidayakan yaitu dengan pemberian bakteri yang dapat menghancurkan dinding selnya. Dinding sel *Microcystis* sp. merupakan lapisan tebal yang tersusun dari gelatin. Oleh karena itu, bakteri yang dapat digunakan untuk mendegradasi dinding sel *Microcystis* sp. adalah bakteri gelatinolitik yang menghasilkan enzim gelatinase.

Penelitian dilakukan untuk mengetahui keberadaan dan mengidentifikasi bakteri gelatinolitik asal tanah dan air tambak yang dapat digunakan sebagai probiotik untuk menekan populasi *Microcystis* sp. yang menghasilkan geosmin penyebab citarasa lumpur pada ikan dan microcystin yang bersifat hepatotoksik dan neurotoksik.

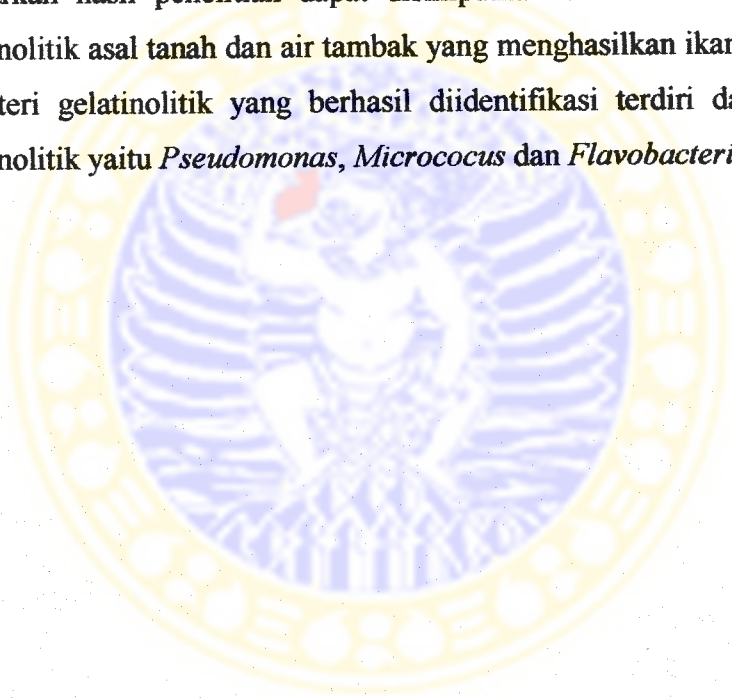
Penelitian bertujuan untuk memperoleh Isolat bakteri gelatinolitik asal tanah dan air tambak yang menghasilkan ikan bau tanah atau citarasa lumpur. Identifikasi bakteri yang didapatkan adalah genus bakteri gelatinolitik, yang diharapkan dapat mendegradasi dinding sel *Microcystis* sp. sehingga dapat menekan populasi *Microcystis* sp.

Jenis penelitian adalah penelitian eksploratif dengan teknik pengumpulan data yang dilakukan secara observasi langsung, yaitu melalui pengambilan sampel tanah dan air langsung dari 5 tambak di daerah Gresik dan 5 tambak di daerah Lamongan yang menghasilkan ikan bercitarasa lumpur. Kemudian dilakukan isolasi bakteri yang ditumbuhkan pada media gelatin 0,5%, dimurnikan dengan menanam kembali pada media NA, selanjutnya bakteri dibiakkan kembali pada

media gelatin 1%, dengan harapan dapat terlihat zona jernih pada sekitar koloni bakteri yang menghasilkan enzim gelatinase. Setelah itu dilakukan identifikasi bakteri dengan melakukan beberapa uji di antaranya pewarnaan Gram, morfologi, katalase, oksidase, motilitas, oksidatif/fermentatif dan determinasi aerob/anaerob, sehingga didapatkan genus bakteri gelatinolitik.

Hasil penelitian didapatkan 24 koloni bakteri asal air tambak dan 24 koloni asal tanah tambak pada media gelatin 0,5%. Dari hasil tersebut 6 koloni dapat memperlihatkan zona jernih di sekeliling koloninya pada media gelatin 1%. Setelah dilakukan identifikasi, diperoleh 3 genus bakteri gelatinolitik, yaitu *Pseudomonas*, *Micrococcus* dan *Flavobacterium*.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ditemukan isolat bakteri gelatinolitik asal tanah dan air tambak yang menghasilkan ikan bercitarasa lumpur. Bakteri gelatinolitik yang berhasil diidentifikasi terdiri dari 3 genus bakteri gelatinolitik yaitu *Pseudomonas*, *Micrococcus* dan *Flavobacterium*.



SUMMARY

IRWAN DWI SUSATYO. Isolation and Identification Gelatinolytic Bacteria From Ponds at Gresik and Lamongan Area. Lecturer of Counsellor. Ir. Wahyu Tjhajaningsih M.Si. and Dra. Rosmanida M.Kes.

Several commodity product of aquaculture in Gresik and Lamongan ponds often off-flavour. The cause of this was the blue green algae from the group of *Microcystis* sp. that produced geosmin, except that *Microcystis* sp. also produce microcystin that had hepatotoxic and neurotoxic characteristic. One way to pressing *Microcystis* sp. population for avoid off-flavour and decreased the organism mortality which it culture by putting a bacteria that can destroy its cell wall. The *Microcystis* sp. cell wall is a thick layer that consists of gelatin. For that reason, the bacteria that can be used to degrade the cell wall of *Microcystis* sp. was gelatinolytic bacteria that produce gelatinase enzyme.

This research were to find out the existence and to identify the gelatinolytic bacteria from the pond's soil and pond's water that can be used as probiotic to press the *Microcystis* sp. population that produce geosmin, that cause off-flavour and microcystin that had hepatotoxic and neurotoxic characteristic.

The aim of this research was to get isolate of gelatinolytic bacteria from the pond's soil and pond's water that caused that muddy, then its identified in order to get the genus of gelatinolytic bacteria that hopefully can degrade the cell wall of *Microcystis* sp. that cause of off-flavour.

This research was a explorative, using collecting data technique by direct observations that taked directly the soil and the water as the sample from 5 ponds in Gresik and 5 ponds in Lamongan which produce off-flavour. After that, the bacteria that was grown on 0,5 % gelatin medium is isolated, make it pure by replanting it on NA medium, then the bacteria was culture in 1% gelatin medium with hoped the clear zone on bacteria that produce gelatinase enzyme can be seen. Then, identified the bacteria by test it with Gram staining, morphology, catalase, oksidase, motility, oksidatif / fermentatif and aerob/anaerob to get the genus of gelatinolytic bacteria.

From the result, there were 24 bacteria colonies from pond's water and 24 colonies from pond's soil on the 0,5% gelatin medium. There were 6 colonies that shows clear zone around their colonies on 1% gelatin medium. After the identification, there were 3 genera of gelatinolytic bacteria *Pseudomonas*, *Micrococcus* and *Flavobacterium*.

Based on the research, it can be conclude that there was found isolate of gelatinolytic bacteria from the pond's soil and the pond's water that produces off-flavour on fish. The gelatinolytic bacteria that has been identified consists of 3 genera : *Pseudomonas*, *Micrococcus* and *Flavobacterium*.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi tentang Identifikasi Bakteri Gelatinolitik Asal Tambak Daerah Gresik dan Lamongan. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan dan kesempurnaan laporan – laporan selanjutnya. Akhirnya penulis berharap semoga karya ilmiah ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi kepada semua pihak khususnya bagi Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya guna kemajuan serta perkembangan ilmu dan teknologi dalam bidang perikanan, terutama budidaya perairan.

Surabaya, Februari 2006

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

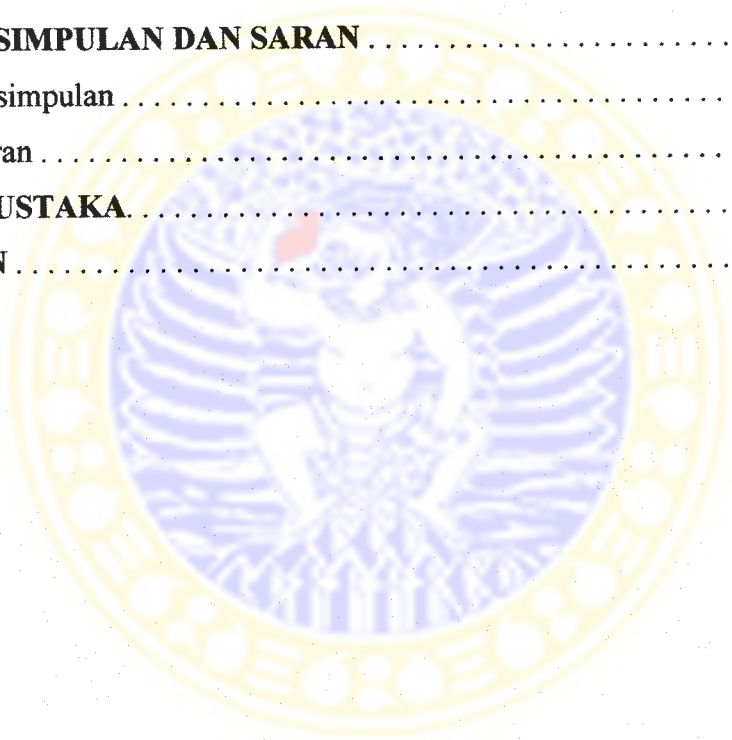
Penyusunan Laporan Skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ismudiono, M.S., Drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Ibu Prof. Dr. Drh. Hj. Sri Subekti B. S., DEA. selaku Ketua Program Studi S1 Budidaya Perairan.
3. Ibu Ir. Wahyu Tjahjaningsih M.Si. dan Ibu Dra. Rosmanida, M.Kes. selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan nasehat dan bimbingan kepada penulis.
4. Ibu Rahayu Kusdarwati, M.Kes, Ibu Ir. Woro Hastuti Satyantini, M.Si dan Bapak Ir. Sudarno, M.Kes selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan nasehat kepada penulis.
5. Ibu Endang Dewi Masithah, M.P., Ir. dan Dr. Ni'matuzahroh yang telah memberikan kritik, saran, nasehat, bimbingan dan semangat kepada penulis.
6. Orang tua dan keluargaku dan yang senantiasa memberikan dorongan semangat, kasih sayang dan masukkan serta pengorbanan demi keberhasilan studi bagi putranya.
7. Dek Novi atas kasih sayang, doa, perhatian, dukungan, dan bantuan moril yang sangat berarti bagi penulis.
8. Rekan rekan seperjuangan BP-02 atas kebersamaan yang sangat indah selama masa – masa kuliah serta semua pihak yang tidak dapat tersebut satu persatu atas segala bantuan dan doa yang diberikan kepada penulis.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
SUMARRY	v
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB II STUDI PUSTAKA	4
2.1 Bakteri	4
2.1.1 Bakteri gelatinolitik	5
2.1.2 Aktifitas gelatinolitik	5
2.2 Isolasi dan Identifikasi	6
2.3 Tinjauan Umum <i>Microcystis</i> sp	7
2.4 Probiotik sebagai Pengendali	9
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	11
BAB IV METODOLOGI	14
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	14
4.2 Penelitian	14
4.3 Materi Penelitian	14
4.3.1 Peralatan penelitian	14
4.3.2 Bahan penelitian	15
4.4 Prosedur Kerja	15
4.4.1 Pengukuran kualitas air	16

4.4.2 Tahap pengambilan sampel	16
4.4.3 Tahap isolasi	16
4.4.4 Tahap identifikasi bakteri	17
4.4.5 Tahap karakterisasi bakteri	20
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	21
5.1 Hasil	22
5.1.1 Data kualitas air	22
5.1.2 Isolasi bakteri	22
5.1.3 Identifikasi bakteri	26
5.2 Pembahasan	27
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	33
6.1 Kesimpulan	33
6.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Data kualitas air tambak di lokasi penelitian Gresik dan Lamongan.	22
2. Koloni bakteri yang tumbuh pada media gelatin 0,5 %	23
3. Hasil uji identifikasi bakteri	26



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. <i>Microcystis</i> dengan lapisan dinding gelatin	8
2. Skema kerangka konseptual	13
3. Skema prosedur penelitian	21
4. Koloni isolat bakteri pada media gelatin 1 %	24
5. Uji gelatin kiri (positif) kanan (negatif)	24
6. Zona Jernih	25
7. Contoh zona jernih yang dihasilkan oleh bakteri gelatinolitik	25
8. Media SIM (Sulfide Indol Motility)	30
9. Koloni bakteri yang tumbuh pada media gelatin 0,5 %	40
10. Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA miring	40
11. Autoclave	41
12. Inkubator	41
13. Laminar flow	41
14. Timbangan analitik	41
15. Peralatan isolasi dan identifikasi	41

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Komposisi media gelatin 0,5 % dan 1 %	37
2. Data karakteristik morfologi koloni secara makroskopis	38
3. Gambar Koloni pada media gelatin 0,5% dan media NA miring ..	40
4. Peralatan yang digunakan selama penelitian	41



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Terjadinya *blooming* mengindikasikan suatu keadaan yang terlalu subur (*eutropik*) pada tambak. Hal ini dapat terjadi karena kelimpahan zat hara di dalam tambak sebagai akibat pemupukan bahan organik yang berasal dari sisa pakan maupun kotoran. Sumber nutrisi yang berlebih dapat mengakibatkan terjadinya pertumbuhan populasi yang tidak terkendali yang disebut *over blooming* (Hadie, 2002).

Beberapa jenis fitoplankton dapat membahayakan kehidupan di suatu perairan, salah satu diantaranya adalah *Microcystis* sp. dari famili alga hijau biru (Cyanophyceae=Cyanobacteria). Alga ini adalah golongan alga yang relatif sulit dimanfaatkan sebagai sumber makanan, karena koloni atau filamennya terlalu besar, sulit dicerna, beracun, dan memiliki kualitas rendah sebagai bahan makanan (Edhy, 1996).

Trisyani (1997) mengemukakan bahwa alga kelas Cyanophyceae spesies *Microcystis* sp. merupakan penyebab timbulnya rasa lumpur pada ikan yang dibudidayakan. Menurut Lovell dan Sackey (1973) dalam Haryono (2001), bau tanah atau cita rasa lumpur disebabkan oleh senyawa geosmin, yaitu senyawa yang dihasilkan oleh alga hijau biru pada kolam budidaya. Fenomena ini sering terjadi di tambak budidaya daerah Lamongan dan Gresik yang kaya akan kapur.

Menurut Lehman (2005), *Microcystis* merupakan organisme yang benar-benar dipertimbangkan sebagai alga berbahaya pada saat *blooming* (*Harmful*

Algae Bloom), karena dapat menghasilkan *microcystin* yang dapat menyebabkan kanker pada manusia dan hewan serta merusak struktur dan fungsi ekosistem perairan pada saat *blooming* karena dapat menyebabkan kematian massal pada organisme yang dibudidayakan.

Microcystis memiliki dinding dengan lapisan lendir yang terdiri atas gelatin dan seringkali sel mengalami penggabungan dengan lapisan gelatin yang sangat tebal (Hoiczuk dan Hansel, 2000). Salah satu aplikasi teknologi untuk dapat menekan populasi *Microcystis* sp. adalah dengan menggunakan prinsip probiotik yaitu dengan cara menambahkan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan dinding luar sel *Microcystis* yang mengandung bahan gelatin. Selain sebagai penekan populasi *Microcystis* bakteri tersebut dapat memperbaiki kualitas air dan tanah tambak, sehingga proses budidaya dapat dioptimalkan.

Bakteri gelatinolitik mendegradasi lapisan gelatin dengan cara mengeluarkan enzim gelatinase yang dapat merombak gelatin menjadi bentuk yang dapat larut dalam air (Smith dan Goodner, 1958). Gelatin adalah protein bentuk molekul tunggal yang diturunkan dari hidrolisis kolagen (www.gettingwell.com, 2002). Bakteri yang memiliki kemampuan merombak gelatin digolongkan sebagai bakteri gelatinolitik. Beberapa contoh bakteri gelatinolitik adalah : *Clostridium*, *Peptococcus*, *Streptococcus* (Dowel *et al.*, 1982), *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, *Micrococcus*, *Chromobacterium* (Holt *et al.*, 1992). Genus-genus tersebut dapat mengeluarkan enzim gelatinase karena adanya perubahan

konsistensi gelatin dari padat menjadi cair setelah ditambahkan dengan bakteri tersebut pada uji gelatin (Benson, 1998).

Pada metode lain menggunakan isolasi media gelatin agar, bakteri gelatinolitik dapat menghasilkan zona jernih disekitar koloni bakteri (Dowel *et al.*, 1982). Untuk mendapatkan isolat bakteri gelatinolitik perlu dilakukan isolasi dan identifikasi dari sedimen tanah dan air yang terdapat populasi *Microcystis*. Hal ini sesuai dengan pendapat Suharsono (1999) dan Irianto (2003) yang menyatakan bahwa idealnya probion atau bakteri bahan probiotik harus diisolasi dari habitat atau tambak asal permasalahan, agar penggunaannya lebih efektif dan dapat tumbuh lebih baik pada lingkungan tambak.

1.1 Perumusan Masalah

Apakah terdapat bakteri gelatinolitik pada tanah sedimen dan air tambak yang terdapat populasi *Microcystis* sp.?

1.2 Tujuan

Memperoleh isolat bakteri gelatinolitik yang berasal dari tanah dan air tambak yang menghasilkan ikan bau tanah

1.3 Manfaat

Diharapkan isolat bakteri gelatinolitik yang berhasil diisolasi dari tanah dan air tambak yang menghasilkan ikan bercita rasa lumpur dapat dikembangkan untuk menekan populasi *Microcystis*.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme prokariotik bersel tunggal dan memiliki karakteristik tersendiri. Diameter bakteri sekitar 0,5 μm sampai 1,0 μm dengan panjang 1,5 sampai 12,5 μm (Chan dan Pelczar, 1986). Ukuran dari bakteri sangat kecil, sehingga untuk dapat melihatnya menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (Chan dan Pelczar, 1986). Dalam keadaan biasa bakteri tidak memiliki warna atau transparan sehingga untuk memudahkan pengamatan, bakteri harus di cat atau diberi warna. Salah satu teknik pewarnaan yang diciptakan oleh Christian Gram, yaitu pewarnaan gram. Pewarnaan ini merupakan salah satu kunci identifikasi bakteri (Benson, 1998).

Bakteri memiliki daerah penyebaran relatif luas sehingga hampir dapat ditemui dimana saja. Faktor keberadaan bakteri di lingkungan akan menimbulkan berbagai perubahan kimiawi pada substansi yang ditumbuhinya. Faktor abiotik merupakan faktor yang sangat mempengaruhi aktifitas dan pertumbuhan bakteri. Faktor ini meliputi faktor fisik seperti temperatur, tekanan osmose, cahaya dan radiasi, juga faktor kimia yang mencakup pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia (Volk dan Wheeler, 1993).

Kebanyakan bakteri di alam membutuhkan zat-zat anorganik seperti garam-garam yang mengandung Na, K, Ca, Mg, Fe, Cl, S, dan P. Selain itu zat-zat yang telah disebutkan bakteri juga membutuhkan zat organik seperti C, H, O,

dan N sebagai sumber makanan. Unsur-unsur tersebut dapat diambil dalam bentuk elemen bahkan dalam bentuk senyawa (Dwidjoseputro, 1998).

2.1.1 Bakteri gelatinolitik

Bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim gelatinase disebut dengan bakteri gelatinolitik (Smith dan Goodner, 1958). Bakteri memiliki kemampuan untuk menghasilkan suatu zat yang spesifik dalam menguraikan suatu senyawa, yaitu enzim. Enzim berperan dalam kegiatan fisiologis salah satunya adalah pencernaan makanan ataupun perombakan zat makanan (Volk dan Wheeler, 1993). Salah satu diantaranya adalah gelatinase, yaitu suatu enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang bermanfaat dalam menguraikan gelatin. Nama lain dari enzim gelatinase adalah pepsin B, parapepsin, gelatinase A/B, matrix metallo proteinase, collagenase dan collagen metallo proteinase (www.genome.jp, 2005).

Beberapa genus bakteri yang diketahui dapat menghasilkan enzim gelatinase, yaitu *Clostridium*, *Peptococcus*, *Streptococcus* (Dowell, dkk., 1982), *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Chromobacterium*, *Serratia*, *Proteus*, *Salmonella* (Smith dan Goodner, 1958; Holt *et al.*, 1994).

2.1.2 Aktifitas gelatinolitik

Enzim gelatinase bakteri gelatinolitik merupakan suatu eksoenzim dan termasuk pada golongan enzim protein, karena enzim gelatinase berfungsi dalam proses perubahan gelatin yang terdapat di dalam medium (Dwidjoseputro, 1998; Dowell *et al.*, 1982). Enzim gelatinase juga tergolong dalam enzim hidrolisis,

baik perombakan yang tidak dapat tercerna menjadi bahan terlarut dengan melibatkan molekul air (Kusnawidjaja, 1983).

Salah satu metode untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghasilkan enzim gelatinase, yaitu dengan menumbuhkan bakteri pada media gelatin, apabila pada media bakteri mampu tumbuh dan menghasilkan zona jernih di sekeliling bakteri tersebut menghasilkan enzim gelatinase (Dowell *et al.*, 1982). Metode tersebut dapat dimanfaatkan pada isolasi bakteri dari alam, seperti yang dilakukan Soriano *et al.* (2000). Metode lain yang lebih sederhana adalah dengan menggunakan media gelatin murni yang ditunjukkan dari perubahan pada media. Apabila gelatin tetap padat, maka bakteri yang diujikan tidak memiliki enzim gelatinase dan sebaliknya bila terjadi perubahan konsistensi menjadi cair maka bakteri yang diuji memiliki enzim gelatinase (Benson, 1998).

2.1.3 Isolasi dan Identifikasi

Kegiatan isolasi dan identifikasi bakteri gelatinolitik merupakan salah satu cara untuk mendapatkan jenis bakteri, yang memiliki kemampuan mendegradasi gelatin, yang terkandung pada dinding bagian luar *Microcystis* sp.

Isolasi merupakan kegiatan pemisahan mikroorganisme yang akan diuji dari mikroorganisme lain dengan menggunakan media selektif, sehingga diharapkan akan diperoleh biakan atau kultur murni (Benson, 1998). Media selektif adalah media khusus untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu yang mengandung nutreïn-nutrien yang khusus dimanfaatkan oleh mikroorganisme tetentu yang tumbuh pada media, misalnya *Thiosulfat Cytrat Bilesalt Sucrose* dan *Salmonella Shigella Agar* (Benson, 1998; Holt *et al.*, 1994).

Identifikasi merupakan kegiatan yang dilakukan untuk mengetahui jenis organisme tertentu dengan tahap pengamatan, pengujian, pencatatan, dan identifikasi berdasarkan hasil pengujian (Benson, 1998; Holt *et al.*, 1994). Identifikasi mikroorganisme dimulai dengan pengujian koloni, pengamatan karakteristik, morfologi, pengujian pada media uji, uji biokimia, dan fisiologis bakteri (Benson, 1998).

2.2 Tinjauan Umum *Microcystis* sp.

Microcystis sp. merupakan salah satu spesies dari alga hijau biru atau dikenal dengan Cyanophyta. Alga hijau biru juga dikenal dengan beberapa jenis nama, yaitu *Cyanophyta*, *Myxophyta*, *Cyanochloronta*, *Cyanobacteria*, *Blue Green Algae*, *Blue Green Bacteria* (SWCSMH, 2006. www.lakeschebucto.org).

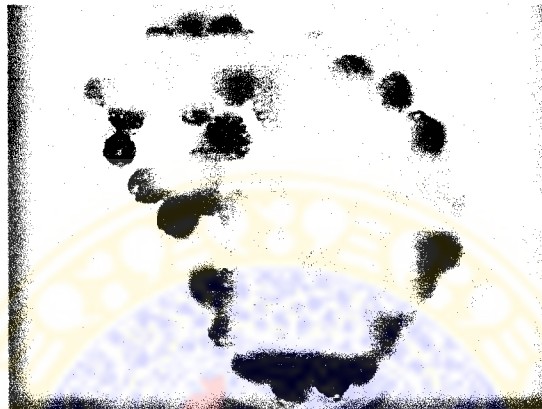
Microcystis telah dikenal di Indonesia sebagai penyebab timbulnya cita rasa tanah pada beberapa komoditi yang dibudidayakan, dan secara tidak langsung dapat menurunkan kualitas dari komoditi tersebut (Trisyani, 1997).

Menurut Sze (1993) klasifikasi *Microcystis* adalah sebagai berikut :

Division	: Cyanophyta
Class	: Cyanophyceae
Ordo	: Chroococcales
Family	: Chroococcaceae
Genus	: <i>Microcystis</i>
Species	: <i>Microcystis</i> sp.

Microcystis berbentuk sel bulat dengan diameter sel 2-10 μm (mikroplankton) dan dapat membuat koloni. *Microcystis* memiliki gas *vacuoles*

yang berperan untuk mengapung, sehingga koloni *Microcystis* terlihat seperti lapisan tebal pada permukaan perairan dan berupa buih atau busa jika pada kondisi berbahaya (Paerl, 1988; Sze, 1993). Dinding sel bagian luar tersusun lapisan lendir berbahan gelatin dan dapat terlihat seperti selubung yang mengelilingi *Microcystis* (Hoiczky dan Hansel, 2000).



Gambar 1. *Microcystis* dengan lapisan dinding gelatin
(sumber : [www. Algae.com](http://www.Algae.com), 2004)

Paerl (1988) menyatakan bahwa *Microcystis* hidup melayang bebas di perairan tawar baik pada kondisi mesotropik (perairan subur) maupun eutropik (perairan sangat subur) pada danau, sungai dan kolam. *Microcystis* dapat mendominasi perairan yang tenang dan tumbuh baik pada permukaan perairan dengan suhu 35 – 40°C (Paerl, 1988). Lehman (2005), menambahkan bahwa *blooming Microcystis* ternyata berhubungan dengan suhu tinggi dan rendahnya aliran serta turbiditas pada delta (daerah pertemuan antara air tawar dan air laut) bagian tengah. Menurut Paerl (1988), *Microcystis* dapat hidup pada salinitas rendah, yaitu kurang dari 20 ppm (0,2 ppt). *Microcystis* juga mendominasi perairan yang kaya nitrogen dan fosfor, yang dapat merangsang pertumbuhan alga dalam waktu relatif cepat.

Microcystis sp. merupakan salah satu spesies cyanophyta yang dapat menghasilkan racun, yaitu microcystin (Sze, 1993). Senyawa ini mengandung sejumlah alkaloid, peptida, dan siklik polipeptida yang dapat menyebabkan gangguan hati dan bersifat neurotoksik yang dibuktikan pada tikus percobaan (Collin, 1978 dalam Paerl, 1988). Menurut Carbis *et. al.*, (1997), ikan mas yang terdapat pada danau yang mengalami *blooming Microcystis* dapat mengalami kerusakan hati dan atropi pada sel hati serta 37 % dari populasi ikan mas mengalami nekrosis pada insang.

Senyawa lain yang dihasilkan *microcystis* adalah geosmin, sebagai penyebab cita rasa lumpur atau bau tanah pada beberapa ikan dan udang yang dibudidayakan. Senyawa geosmin lebih banyak ditemukan pada daging ikan daripada di perairan. Metode mendeteksi cita rasa lumpur tidak dapat dilakukan melalui pengamatan fisik maupun tekstur tetapi dengan merebus udang dengan air. Bau apek akan tercium dari uap rebusan udang yang mengandung geosmin (Haryono, 2001).

2.3 Probiotik sebagai Pengendali

Pengertian probiotik yang dikemukakan oleh Irianto (2003) adalah suplementasi sel mikroba utuh, dalam keadaan “tidur” atau membentuk spora dan merupakan komponen sel mikroba yang dapat memanfaatkan sisa pakan dan feses dalam lingkungan hidup yang bersifat menguntungkan inang atau hewan yang dibudidayakan.

Tujuan pemberian probiotik adalah untuk meningkatkan populasi bakteri kompetitor patogen, protozoa. dan fitoplankton (Yukasano, 2002). Pribadi

(2002), menambahkan fungsi pemberian probiotik pada kolam/tambak budidaya adalah untuk mengatur kondisi mikroorganisme di air maupun sedimen, membantu mengatur dan memperbaiki kualitas air, meningkatkan keragaman mikroorganisme dalam air dan sedimen serta menghambat atau meminimalisir efek bakteri patogen.

Kriteria yang harus dimiliki probiotik untuk digunakan pada kolam/tambak adalah memiliki kemampuan sebagai kompetitor dengan bakteri alami (misalnya, *Vibrio* sp.) dalam kebutuhan bahan organik sebagai nutrisi yang berasal dari komponen sisa pakan, feces maupun organisme hidup (Pribadi, 2002). Irianto (2003), menambahkan bahwa probiotik mampu tumbuh dan berkembang biak dengan baik pada kolam/tambak, mampu bekerja aktif dan berfungsi sesuai dengan yang diharapkan dan tidak patogen. Selain itu probiotik juga harus dapat disiapkan sebagai produk sel hidup pada skala industri serta terjaga stabilitasnya dalam waktu yang lama pada penyimpanan maupun aplikasi di lapangan (Fuller, 1987 dalam Irianto, 2003).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

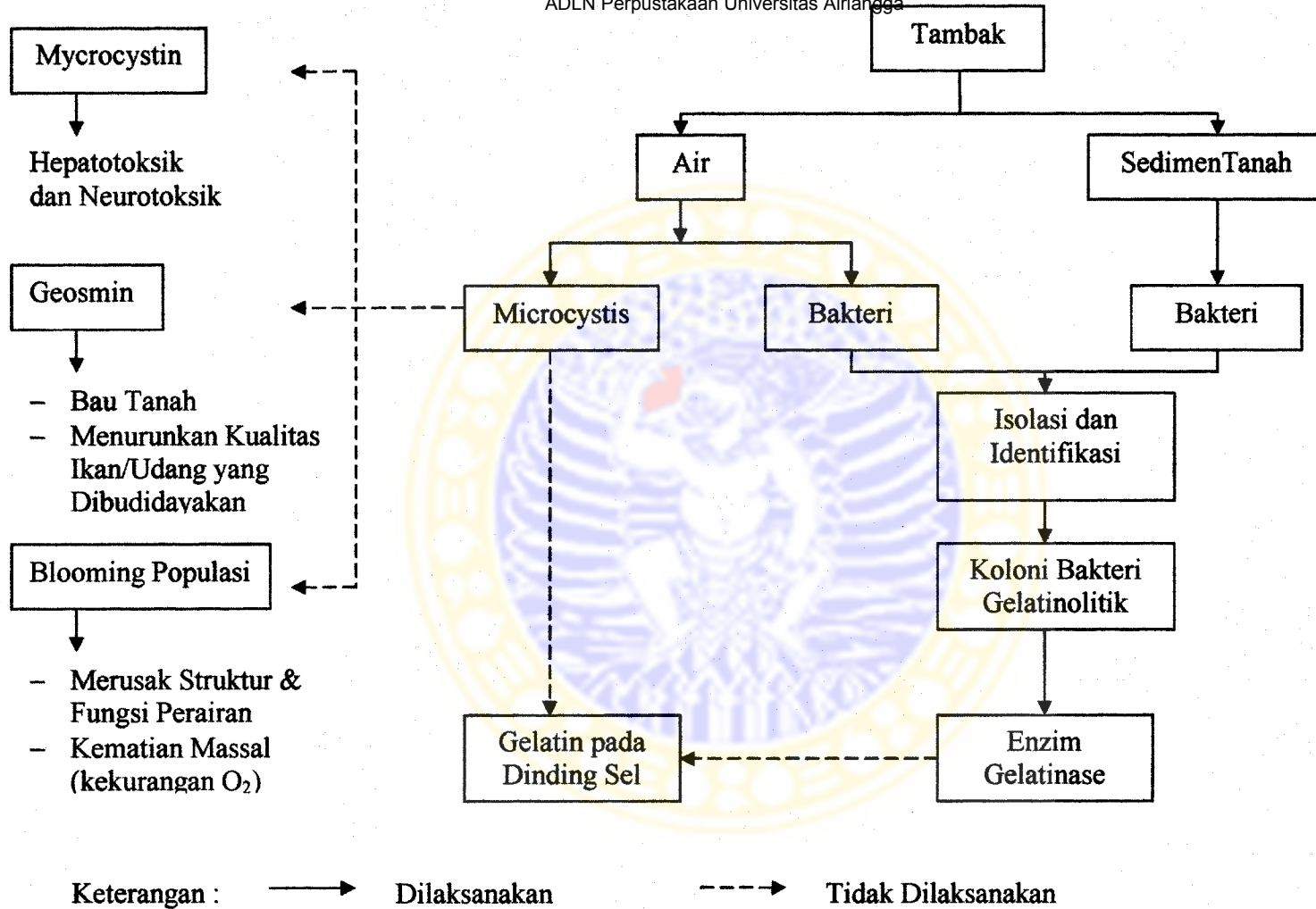
Microcystis (Cyanophyta) dapat tersebar baik pada perairan tawar, payau, dan laut. Pada perairan tawar yang kaya akan nutrisi sering ditemukan *blooming* Cyanophyta, antara lain *Microcystis*. Kondisi ini menyebabkan terbentuknya lapisan tebal pada permukaan perairan yang dapat mengurangi kandungan O₂ di perairan. *Microcystis* menghasilkan senyawa geosmin yang menyebabkan timbulnya cita rasa lumpur atau bau tanah pada produk yang dibudidayakan. Selain itu *Microcystis* juga mensekresi sejenis senyawa racun, yaitu microcystin yang bersifat hepatotoksin dan neurotoksin.

Populasi *Microcystis* sp. dapat ditekan dengan metode probiotik, yaitu dengan cara menambahkan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan dinding luar sel *Microcystis* yang mengandung bahan gelatin. Selain sebagai penekan populasi *Microcystis* bakteri tersebut dapat memperbaiki kualitas air dan tanah tambak, sehingga proses budidaya dapat dioptimalkan dalam menghasilkan produk dengan mutu dan kualitas yang baik.

Bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi protein diisolasi dari sedimen tanah dan air tambak yang menghasilkan ikan dengan cita rasa lumpur atau bau tanah. Bakteri tersebut diisolasi pada media gelatin 0,5 % dan koloni yang terbentuk dimurnikan pada media *Nutrient Agar*. Selanjutnya koloni hasil pemurnian diinokulasikan pada media gelatin 1 %. Pada media gelatin 1 % kandungan gelatin diperbanyak sedangkan untuk *Yeast* dan *Bacto pepton* dikurangi untuk meyakinkan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media

gelatin 1 % benar-benar memanfaatkan gelatin sebagai nutrisi. Koloni yang tumbuh diharapkan mampu mendegradasi gelatin dan untuk selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan probiotik.





Gambar 2. Skema Kerangka Konseptual

Kesantunan Imperatif Dalam Interaksi Antarsantri Putri ...

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di dua tempat yaitu di wilayah pertambakan Kabupaten Gresik dan Lamongan, untuk pengambilan sampel dan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Airlangga untuk isolasi dan identifikasi. Pemilihan lokasi pengambilan sampel air dan tanah didasarkan pada ikan yang dihasilkan dari kedua daerah pertambakan yang sedang maupun pernah mengalami *blooming Microcystis* sp. sehingga menghasilkan ikan dengan cita rasa lumpur, maupun kematian masal. Penelitian ini dilaksanakan dari September sampai November 2005.

4.2 Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksploratif dengan teknik pengumpulan data yang dilakukan secara observasi langsung yaitu mengadakan pengamatan langsung terhadap gejala-gejala subjek yang diteliti dalam situasi yang sebenarnya (Silalahi, 2003).

4.3 Materi Penelitian

4.3.1 Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah dan air adalah pipa paralon, botol sampel, bunsen, *cutter*, *styrofoam*, ember, sendok. Alat yang digunakan untuk pengukuran parameter kualitas air tambak adalah refraktometer,

DO meter, termometer, kertas lakmus. Alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri adalah botol sampel steril, *petridish*, erlenmeyer, tabung reaksi, ose, *becker glass*, spatula, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, bunsen, *water bath*, rak tabung reaksi, gelas ukur, *autoclave*, mikroskop, *freezer*, inkubator, *objek glass*, *cover glass*, pipet ukur steril, pipet tetes steril, kompor, *laminar flow*, gelas ukur dan botol film.

4.3.2 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah tanah dasar tambak bagian permukaan dan air pada lima lokasi di kabupaten Gresik dan lima lokasi di Lamongan. Pengambilan sampel tanah berdasarkan atas penelitian yang dilakukan oleh *Pacific Shellfish Institute* (2002).

Bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah dan air adalah tisu, kapas, benang bol, *aluminium foil*, kain kasa, tali rafia, es batu, NaCl fisiologis, dan spiritus. Bahan yang digunakan untuk isolasi bakteri gelatinolitik adalah aquadest, media gelatin 0,5 %, media gelatin 1 % (Soriano *et al.*, 2000). Bahan yang digunakan untuk identifikasi bakteri gelatinolitik adalah larutan *Gentian Violet*, *Iodium lugol*, *Alkohol Aceton*, *Safranin*, *Nutrien Agar* (NA), *Oil Emersion*, H₂O₂ 3 %, KOH 3 %, *Media Sulfide – Indol - Motility* (SIM), *Aquadest*, *Paper Oxidase Oxoid*, *Parafin cair*, *Reagen Kovacs*, dan *Media O/F*.

4.4 Prosedur Kerja

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu pengambilan sampel, isolasi, identifikasi, dan karakteristik bakteri.

4.4.1 Pengukuran Kualitas Air

Kualitas air dapat diketahui dengan mengukur beberapa parameter, yaitu : faktor fisika, kimia, dan biologi dalam perairan beserta interaksinya secara dinamis. Pengukuran kualitas air dilakukan sebagai parameter penunjang selama penelitian. Data kualitas air yang diukur adalah warna, pH, suhu, salinitas dan DO.

4.4.2 Tahap pengambilan sampel

Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan menggunakan pipa paralon sedalam 15 cm (Saidi, 2002). Sampel tanah dipilih bagian tanah yang atas dan dimasukkan ke dalam ember steril. Selanjutnya sampel tanah dimasukkan ke dalam botol menggunakan sendok secara aseptik untuk menghindari kontaminasi. Botol sampel ditutup dengan menggunakan kapas, dibalut kain kasa dan dilapisi *aluminium foil*.

Pengambilan sampel air dilakukan dengan cara memasukkan botol sampel steril ke dalam botol *water sampler*. Volume air yang dimasukkan sebanyak $\frac{3}{4}$ dari volume botol. Botol sampel ditutup dengan menggunakan kapas dilapisi kain kasa, pengerjaan dilakukan secara aseptik untuk menghindari kontaminasi. Selanjutnya sampel air dan sampel tanah dimasukkan ke dalam *styrofoam* yang diberi es batu.

4.4.3 Tahap isolasi

Tujuannya yaitu menumbuhkan langsung bakteri yang bersifat gelatinolitik, selain itu juga menghindari jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Caranya dengan mencampur sampel tanah sebanyak 10 gram dari tiap 10 lokasi kemudian 10 gram dari campuran sampel tanah dilarutkan dalam 90 ml NaCl

fisiologis, dihomogenisasikan serta diendapkan. Suspensi yang terbentuk diambil menggunakan ose untuk ditanam pada media gelatin 0,5 % dan diinkubasi pada suhu 25-27^o selama 24 jam (Soriano *et al.*, 2000).

Cara yang sama juga dilakukan pada isolasi bakteri yang berasal dari sampel air. Koloni yang tumbuh pada media gelatin 0,5 % kemudian dimurnikan pada media *Nutrient Agar*. Selanjutnya koloni yang sudah murni ditanam pada media gelatin 1 % (Soriano *et al.*, 2000). Koloni yang tumbuh pada media gelatin 1 % akan dipilih koloni yang mempunyai kemampuan mendegradasi gelatin yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekelilingnya. Koloni tersebut dimurnikan dalam media yang sama, sehingga diperoleh beberapa bakteri pendegradasi gelatin yang murni dan konsisten dalam menghasilkan zona jernih di sekeliling koloninya. Metode isolasi berdasarkan penelitian terdahulu oleh Soriano *et al.* (2000), dan modifikasi media dari pektin menjadi gelatin

4.4.4 Tahap identifikasi bakteri

Tahap identifikasi yang meliputi beberapa uji didasarkan Benson (1998). Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui genus bakteri yang berhasil diisolasi dari tanah dan air tambak.

A. Morfologi koloni bakteri

Pengamatan morfologi koloni bakteri menurut Benson (1998) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bentuk, ukuran, tekstur, dan warna koloni bakteri dengan cara mencatat bentuk, ukuran, tekstur, dan warna sesuai acuan identifikasi.

B. Morfologi bakteri

Sebelum kegiatan pengamatan diawali dengan pewarnaan Gram menurut prosedur Chusniati dkk. (2002) caranya adalah dengan mengambil satu ose dari

setiap jenis koloni dari media isolasi, dan dibuat ulasan di atas objek glass. Setelah difiksasi di atas api sampai kering, ditambah dengan larutan *Gentian Violet* dan dibiarkan selama 2 menit. Sisa zat warna dibuang dengan menggunakan air mengalir. Larutan *Iodium Lugol* ditambahkan dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian sisa larutan *Iodium Lugol* dicuci dengan air mengalir. Kemudian melunturkan zat warna menggunakan larutan alkohol aceton, dan dibiarkan selama 10 – 20 detik, selanjutnya sisa larutan alkohol aceton dibuang melalui pencucian di bawah air mengalir kemudian ditambahkan larutan safranin dan dibiarkan selama 30 detik. Sisa zat warna safranin lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan menggunakan kertas saring. Sebelum diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, preparat terlebih dahulu ditetesi dengan minyak emersi sebanyak 1 – 2 tetes.

Sel yang telah diwarnai akan dikatakan bersifat gram positif jika sel berwarna ungu atau *violet* dan bersifat gram negatif bila sel berwarna merah.

C. Uji motilitas dan uji indol

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui pergerakan bakteri sedangkan uji indol dilakukan untuk mengetahui produksi indol dari *tryptophane*. Prosedur yang harus dilakukan menurut Chusnati, dkk (2002) yaitu satu *needle* dari tiap jenis koloni dalam media isolasi diinokulasikan dengan cara menusukkan ke dalam media SIM dan diinkubasi pada suhu 25 – 36⁰C selama 24 - 48 jam. Uji indol dilakukan dengan cara meneteskan media SIM dengan *Reagen Covacs* (Skerman,1969).

Bakteri bersifat motil ditandai dengan pertumbuhan pada media tampak keruh atau tampak seperti cemara terbalik, apabila bakteri hanya tumbuh pada

tempat tusukan maka bakteri tersebut bersifat non motil. Uji Indol dikatakan positif jika terbentuk cincin merah muda setelah ditetesi dengan *Reagen Covacs* dan jika tidak terjadi perubahan warna maka dikatakan indol negatif.

D. Uji biokimia

Uji biokimia yang dilakukan antara lain, yaitu:

D.1 Uji oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri. Prosedur yang harus dilakukan menurut Benson (1998) yaitu mengambil biakan bakteri secara aseptik dengan menggunakan jarum ose, kemudian menggosokkan pada *paper* oksidase

Oksidase positif ditandai dengan adanya perubahan warna pada kertas menjadi biru atau ungu sedangkan oksidase negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada kertas.

D.2 Uji katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri. Prosedur yang harus dilakukan menurut Benson (1998) yaitu meletakkan biakan bakteri dalam objek glass, lalu meneteskan dengan H_2O_2 3 % sebanyak 2 tetes.

Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung gas sebagai tanda adanya oksigen bebas sedangkan reaksi negatif ditandai tanpa terbentuknya gelembung-gelembung gas sebagai tanda tidak adanya oksigen bebas.

D.3 Uji O/F (Oksidatif / Fermentatif)

Uji ini bertujuan untuk mengetahui sifat oksidasi atau fermentasi bakteri terhadap glukosa dengan menggunakan dua tabung media yang salah satunya ditutup dengan parafin, sehingga diharapkan di dalam media tersebut tidak terdapat udara yang dapat mendukung terjadinya proses fermentasi. Pada tabung yang tidak ditutup dengan parafin diharapkan proses oksidasi dapat berlangsung.

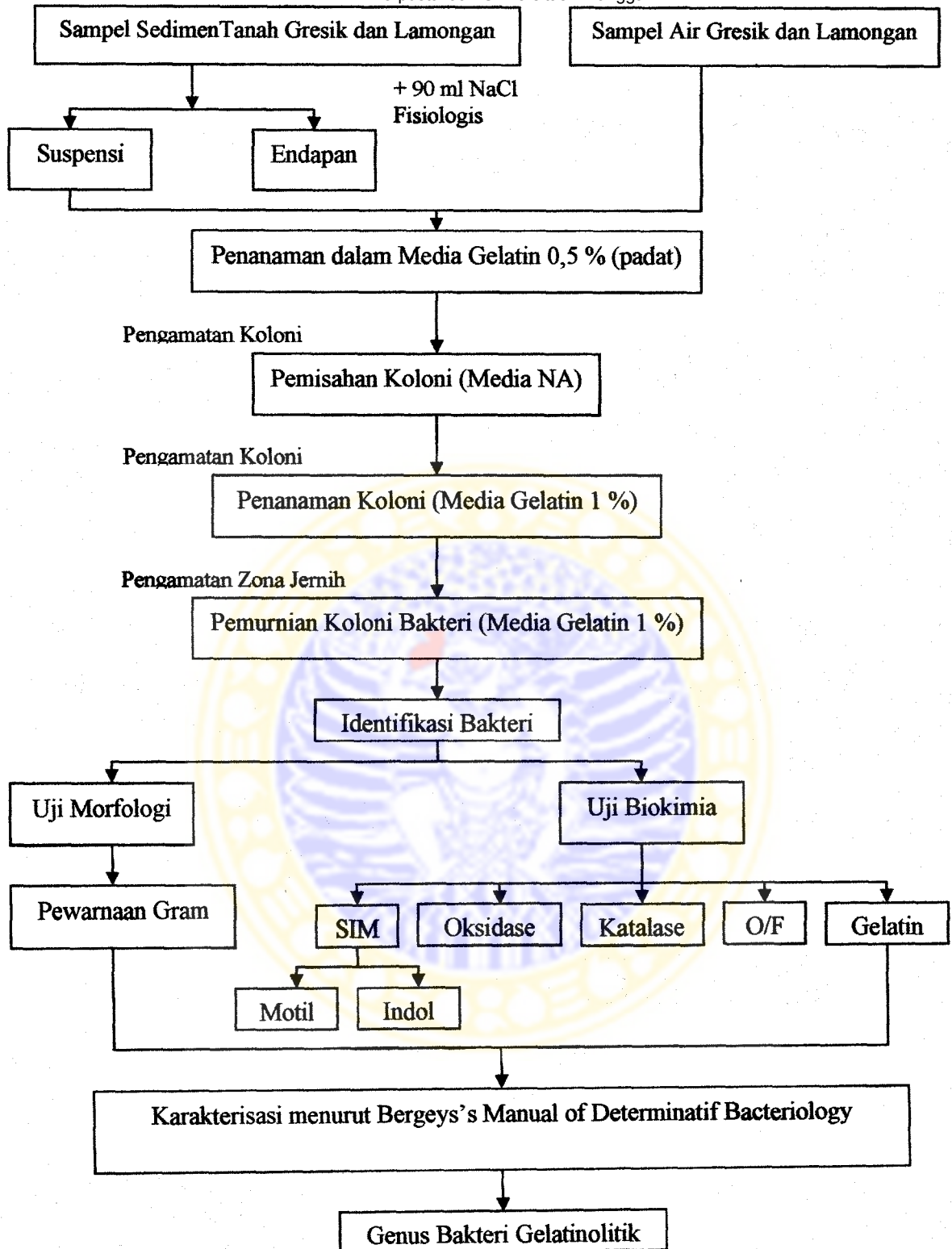
E. Uji sifat aerob, fakultatif dan anaerob

Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat aerob, fakultatif dan anaerob pada bakteri dengan cara menambahkan satu ose koloni bakteri pada tabung reaksi yang berisi media NA yang masih cair kemudian di sentrifuse dan akhirnya diinkubasikan selama 24 jam (Benson, 1998).

Pengamatan apabila koloni bakteri tumbuh pada bagian atas maka bakteri dikatakan bersifat aerob, jika tumbuh pada bagian tengah maka bakteri bersifat fakultatif dan apabila tumbuh pada dasar maka bakteri dikatakan bersifat an aerob (Benson, 1998).

4.4.5 Tahap karakterisasi bakteri

Setelah dilakukan berbagai uji di atas, kemudian dilakukan karakterisasi bakteri dengan cara mencocokkan data hasil pengujian isolat bakteri gelatinolitik yang diperoleh dengan data bakteri dari buku *Bergey's Manual of Determinatif Bacteriology Ninth Edition* (Holt *et al.*, 1994).



Gambar 3. Skema Prosedur Penelitian

BAB V**HASIL DAN PEMBAHASAN****5.1 Hasil****5.1.1 Data Kualitas Air**

Hasil pengukuran kualitas air tambak lokasi pengambilan sampel tanah dan air dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data kualitas air tambak di lokasi penelitian Gresik dan Lamongan Tahun 2005

No	Tempat	Kualitas Air				
		Warna	pH	Salinitas (ppm)	Suhu (°C)	DO (mg/l)
1.	Morowudi (Gresik)	Hijau	7	3	26	6,8
2.	Cerme (Gresik)	Coklat kekuningan	7,5	1	26	2,5
3.	Suci (Gresik)	Hijau kecoklatan	8	1	27	1,6
4.	Betoyo (Gresik)	Hijau kecoklatan	8	15	33,5	6,6
5.	Pantura (Gresik)	Hijau coklat kekuningan	9	10	36	5,8
6.	Glagah (Lamongan)	Hijau	10	0	32,5	7,4
7.	Dinoyo (Lamongan)	Hijau muda	9	0	34	6,8
8.	Terusan Dinoyo (Lamongan)	Hijau	10	0	34	7,6
9.	Raya Lamongan	Hijau kekuningan	9	0	31,9	6,7
10.	Raya Lamongan 2	Coklat kekuningan	10	0	36,1	7,1

5.1.2 Isolasi Bakteri

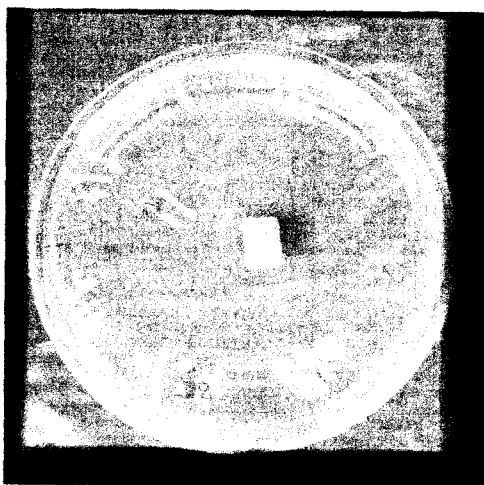
Bakteri yang tumbuh pada media gelatin 0,5 % dapat dilihat pada Lampiran 3 Gambar 9. Komposisi media gelatin 0,5 % dapat dilihat pada Lampiran 1. Hasil isolasi yang diperoleh menunjukkan sejumlah koloni yang tumbuh pada setiap media seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Koloni bakteri yang tumbuh pada media gelatin 0,5 %

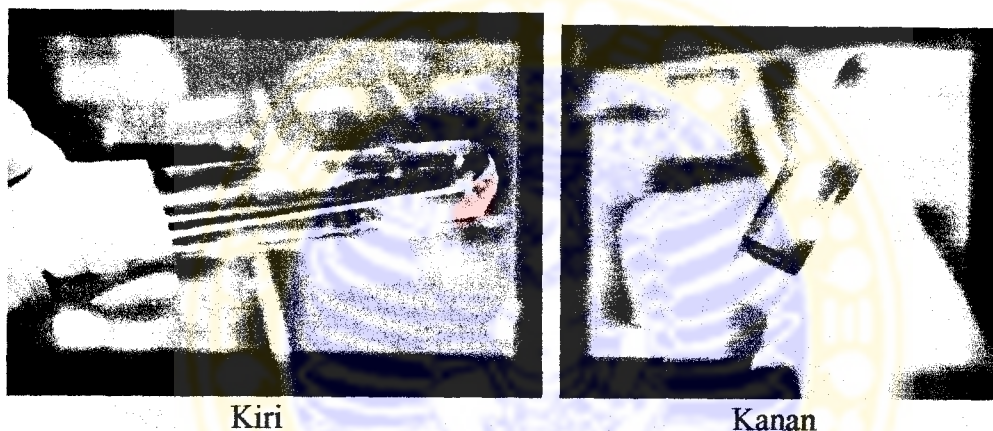
Jenis-jenis Koloni yang tumbuh pada media gelatin 0,5 %	
Sampel Tanah	Sampel Air
1,2,3,4,5,6,7,10,11,14,15,17,18,20,22,23,24	1,2,3,5,7,8,9,11,12,13,15,16,17,18,21,22,24

Koloni bakteri yang telah diamati dan diberi nomor koloni memiliki kemampuan, yaitu dapat tumbuh pada tanah dan air. Hal itu dapat dilihat pada Tabel 2 dimana terdapat beberapa nomor koloni bakteri yang sama pada media gelatin 0,5 % hasil isolasi sampel tanah maupun air tambak. Tidak semua koloni terdapat pada tanah dan air, hal tersebut dapat dilihat dari beberapa koloni hasil isolasi sampel tanah yang tidak tumbuh pada media gelatin 0,5 % hasil isolasi sampel air, yaitu 8, 12, 13, 16, 19, dan 21, sebaliknya koloni bakteri yang ditemukan pada media gelatin 0,5 % hasil isolasi sampel air yang tidak tumbuh pada media hasil isolasi sampel tanah, yaitu 4, 6, 10, 14, 19, 20, dan 23.

Penomoran koloni bakteri berdasarkan pengamatan perbedaan morfologi antar koloni, dikarenakan penyebaran yang merata pada tiap-tiap media isolasi maka setiap koloni dengan morfologi yang sama diambil satu sebagai perwakilan untuk dimurnikan pada media NA, dapat dilihat pada Lampiran 3 Gambar 10. Hasil pemurnian selanjutnya ditanam kembali pada media gelatin 1 % dengan komposisi yang dapat dilihat pada Lampiran 1. Hasil koloni bakteri yang ditanam pada media gelatin 1 % dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Koloni isolat bakteri pada media gelatin 1 %



Gambar 5. Uji gelatin kiri (positif) kanan (negatif)

Koloni bakteri yang tumbuh pada media gelatin 1 % dan memiliki zona jernih di sekelilingnya merupakan jenis bakteri gelatinolitik, yaitu bakteri yang dapat memanfaatkan gelatin sebagai nutrisi. Dari isolasi kedua ini diperoleh enam koloni bakteri yang memiliki zona jernih, yaitu G3, G7, G8, G17, G22, dan G24. Untuk memastikan bakteri dapat mendegradasi gelatin maka dilanjutkan dengan uji gelatin dan diperoleh seluruh koloni bakteri yang diuji bersifat gelatinase positif yang berarti dapat memproduksi enzim gelatinase sehingga dapat mendegradasi gelatin (Gambar 5).

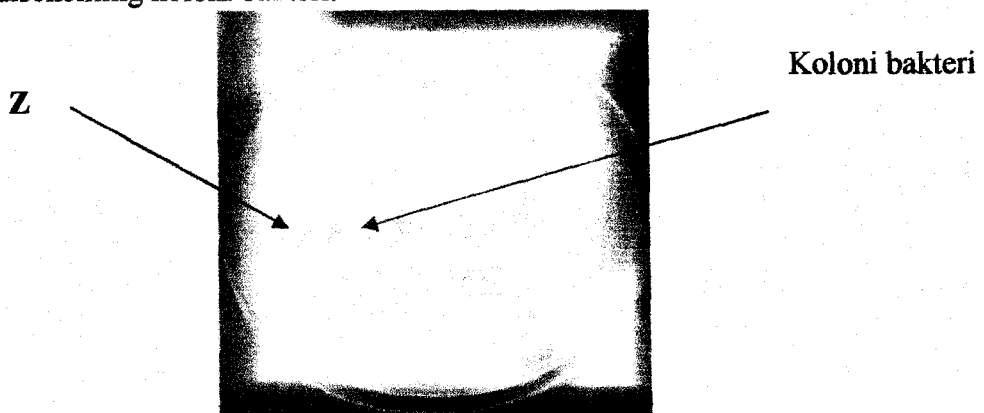
Pada Gambar 5 (kiri) hasil positif menunjukkan terjadi perubahan konsistensi pada media gelatin menjadi cair. Hal tersebut dikarenakan bakteri

menghasilkan enzim gelatinase yang dapat merombak, mendegradasi gelatin. Hasil negatif Gambar 5 (kanan) menunjukkan konsistensi tetap padat yang berarti bakteri tidak menghasilkan enzim gelatinase.



Gambar 6. Zona jernih (Z)

Pada gambar 6 menunjukkan terdapat perbedaan yang dapat diamati. Pada koloni bakteri a koloni dapat tumbuh akan tetapi tidak mengeluarkan zona jernih. Pada bakteri b koloni bakteri tumbuh dengan zona jernih yang kurang terlihat. Untuk koloni bakteri c bakteri tidak dapat tumbuh pada media gelatin agar. Hasil dominan terlihat pada koloni bakteri d dimana zona jernih terlihat jelas disekeliling koloni bakteri.



Gambar 7. Contoh zona jernih (Z) yang dihasilkan oleh bakteri gelatinolitik.
(Sumber : Smith dan Goodner, 1958)

5.1.3 Identifikasi Bakteri

Tahap ini dilakukan untuk mengetahui genus dari bakteri gelatinolitik hasil isolasi kedua, yaitu yang memiliki zona jernih di sekelilingnya dan bersifat gelatinase positif pada uji gelatin. Identifikasi diawali pewarnaan gram dilanjutkan dengan uji katalase, oksidasi, motilitas, indol, oksidatif/fermentatif, dan determinasi aerob/anaerob. Hasil uji identifikasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji identifikasi bakteri

No. koloni	Bentuk	Gram	Katalase	Oksidase	Motil	Indol	NA tes	O/F tes	Genus
G3	Batang Pendek	-	+	+	+	-	F	O	<i>Pseudomonas</i>
G7	Batang Pendek	-	+	+	+	-	F	O	<i>Pseudomonas</i>
G8	<i>Coccus</i>	+	+	+	-	-	F	O	<i>Micrococcus</i>
G17	<i>Coccus</i>	+	+	+	-	-	A	O	<i>Micrococcus</i>
G22	Batang pendek	-	+	+	+	-	F	O	<i>Pseudomonas</i>
G24	Batang	-	+	+	+	-	F	O	<i>Flavobacterium</i>

Keterangan :

G3...G24 : Koloni bakteri no 3, 7, 8, 17, 22 dan 24
 O : Oksidatif
 F : Fakultatif
 NA : Nutrien Agar
 A : Aerob
 O/F : Oksidatif / Fermentatif

Hasil uji identifikasi bakteri tampak bentuk koloni G3, G7 dan G22 adalah batang pendek, gram negatif dan hasil uji katalase positif, uji oksidase positif, motil, fakultatif pada NA tes dan bersifat oksidatif terhadap glukosa pada uji O/F.

Koloni G8 dan G17 hasil identifikasi berbentuk bulat/*coccus*, gram positif, uji katalase positif, uji oksidase positif, bersifat fakultatif pada NA dan oksidatif terhadap glukosa pada O/F tes.

Koloni G24 hasil identikasi berbentuk batang pendek, gram negatip, uji katalase positip, uji oksidase positip, motil, bersifat fakultatip pada NA tes dan oksidatip terhadap glukosa pada O/F tes.

Hasil karakterisasi menurut Holt *et al.*, 1994 ditemukan tiga genus, yaitu *Pseudomonas* pada G3, G7 dan G22; *Micrococcus* pada G8 dan G17; dan *Flavobacterium* pada G24.

5.2 Pembahasan

Hasil pengukuran kualitas air menunjukkan warna perairan berkisar pada warna hijau, hijau kekuningan sampai kecoklatan. Pada lokasi pengambilan sampel tidak ditemukan warna hijau pekat, sehingga pada perairan diduga tidak menunjukkan dominasi *Microcystis* sp. hal tersebut sesuai dengan pernyataan Paerl, (1988) salah satu indikator untuk melihat dominansi *Microcystis* pada perairan ialah terdapat warna hijau pekat pada perairan tersebut. Namun demikian, tidak menutup kemungkinan pada kondisi tertentu *blooming Microcystis* dapat terjadi jika manajemen kualitas air tidak diperhatikan oleh pembudidaya.

Menurut Trisyani (1997) perairan pada tanah berkapur cenderung memiliki pH tinggi, karena kadar CaCO_3 dalam perairan juga tinggi. Menurut Paerl (1998), beberapa genus *Cyanophyta* umumnya menunjukkan respon pertumbuhan negatip pada kondisi asam ($\text{pH} < 6,0$), yang berarti pada $\text{pH} > 6$ (basa) *Microcystis* dapat tumbuh dengan pesat.

Pengamatan terhadap data pengukuran suhu diperoleh kisaran $26 - 36^{\circ}\text{C}$ (Tabel 1). Pengukuran bervariasi karena perbedaan waktu pengukuran sesuai rute, dimulai pada pukul 9 pagi dan berakhir pada pukul 4 sore. Menurut Paerl

(1998), *Microcystis* dapat mendominasi perairan tenang dan dapat tumbuh baik pada permukaan perairan dengan suhu 35 - 40⁰ C. Sze (1993), menambahkan *Microcystis* termasuk alga termofilik, yaitu kelompok alga yang dapat hidup pada kisaran suhu tinggi. Hasil penelitian Lehman (2005), menunjukkan bahwa *blooming Microcystis* berbanding linier dengan suhu tinggi dan rendahnya aliran serta turbiditas.

Data hasil pengukuran salinitas dari lokasi pengambilan sampel berkisar antara 0-15 ppm (Tabel 1), hal ini disebabkan kondisi tambak yang jauh dari laut serta pemanfaatan air hujan dan sungai sebagai sumber air. Peningkatan salinitas hanya terjadi pada saat pasang tertinggi sehingga air laut dapat mengairi tambak dimana pada saat tersebut hanya terjadi dua kali dalam kurun waktu dua bulan. Menurut Paerl (1998), pada kondisi salinitas kurang dari 20 ppm dengan kadar nitrogen yang cukup dapat menimbulkan *blooming Microcystis*.

Nilai oksigen terlarut (DO) bervariasi dan cenderung tinggi. Hal tersebut diduga karena kelimpahan fitoplankton dan pengukuran pada sebagian lokasi dilakukan pada siang hari dimana produksi oksigen sedang maksimal karena fotosintesis sedang berlangsung. Tingginya hasil pengukuran DO kemungkinan juga dipengaruhi kondisi musim, karena pengukuran pada musim kemarau yang memiliki intensitas sinar matahari yang tinggi.

Hasil identifikasi menunjukkan sebagian besar bakteri berbentuk batang pendek/*coccoid*, gram negatif dan bersifat motil. Seluruh bakteri pada uji katalase-oksidadase bersifat positif, indol negatif, oksidatif, fermentatif. Data yang diperoleh kemudian dikarakteristik dengan data pada buku acuan sehingga

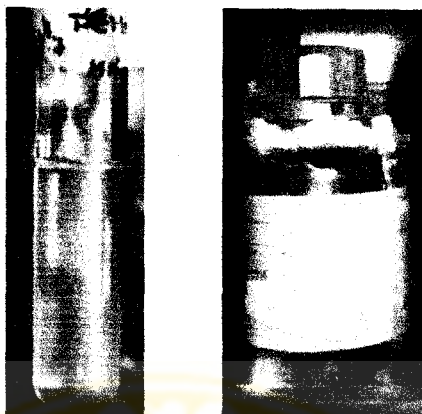
ditemukan tiga genus bakteri gelatinolitik, yaitu *Pseudomonas*, *Micrococcus*, dan *Flavobacterium*.

Bentuk koloni yang paling banyak ditemukan dari isolasi adalah bentuk bundar, dan rata-rata memiliki warna pendar (*fluorescent*). Pewarnaan gram pada enam isolat koloni bakteri gelatinolitik diperoleh hasil pengamatan empat isolat bentuk batang pendek (*coccoid*), yaitu G3, G7, G22 dan G24 serta dua isolat berbentuk bulat (*coccus*), yaitu G8 dan G17. Untuk hasil pewarnaan gram dominan adalah gram negatif pada G3, G7, G22 dan G24 serta gram positif pada G8 dan G17. Data lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 seluruh bakteri memiliki kemampuan menghasilkan enzim katalase dan oksidase, yang ditunjukkan pada kolom uji katalase dan oksidase. Untuk katalase ditandai dengan timbulnya gelembung gas pada preparat sedangkan oksidase ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada kertas oksidase oxoid. Hasil pengujian oksidatif/fermentatif menunjukkan seluruh isolat bersifat oksidatif, berarti seluruh bakteri dapat memanfaatkan glukosa secara oksidatif.

Uji motilitas menunjukkan empat isolat bersifat motil, yaitu (G3, G7, G8 dan G24) dan dua isolat bersifat non motil (G17 dan G22). Hasil uji tersebut menunjukkan sebagian besar isolat bakteri gelatinolitik memiliki alat gerak. Penambahan reagen kovaks pada media SIM (Gambar 8) sebagai uji indol menunjukkan hasil negatif. Hal ini terlihat dari tidak terbentuknya cincin merah yang berarti tidak terjadi pemanfaatan *tryptophane* yang terkandung dalam media oleh bakteri (Chusniati, dkk., 2002). Pada uji aerob/anaerob sebagian besar bersifat fakultatif,

aerob (G17). Isolat bersifat fakultatif karena dapat tumbuh baik pada lapisan atas sampai dengan tengah, sedangkan bakteri bersifat aerob tumbuh dominan pada lapisan atas.



Gambar 8. Media SIM (kiri) dan Kovaks (kanan)

Hasil pengamatan selama penelitian menunjukkan genus *Pseudomonas* adalah koloni yang memiliki bentuk bulat dengan tepi tidak rata, bergranul atau berbintil dan memiliki elevasi datar (Lampiran 2). Pada data hasil uji biokimia menunjukkan ciri – ciri bentuk batang pendek, gram negatif, katalase positif, oksidase positif, bersifat motil, fakultatif dan oksidatif. Hal tersebut sesuai dengan data karakteristik Holt, *et al.* (1994). *Pseudomonas* dikenal dapat ,menyebabkan penyakit pada ikan baik yang dibudidayakan maupun ikan yang hidup di alam (Chan, *et al.*, 1998). Pada Tabel 3 ditemukan tiga genus *Pseudomonas* dengan perbedaan ciri pada koloni, beberapa diantaranya dapat mengeluarkan warna pendar / *fluorescent*. Menurut Holt, *et al.* (1944), tidak semua spesies pada genus *Pseudomonas* dapat mengeluarkan pendar. Dikemukakan pula bahwa bakteri genus *Pseudomonas* dapat ditemukan baik pada perairan maupun pada tanah. *Pseudomonas* memiliki alat gerak berupa flagel sehingga pada uji motilitas bersifat positif dan memanfaatkan glukosa dengan cara oksidasi bukan fermentasi.

Hasil uji identifikasi pada Tabel 2 juga menunjukkan dua genus *Micrococcus* yang sama dengan ciri bentuk *coccus*, gram positif, katalase positif, oksidase positif, non motil, fakultatif dan bersifat oksidatif. Ciri-ciri tersebut sesuai dengan data karakteristik *Micrococcus* menurut Holt, *et al.*, (1994) yaitu gram positif, coccus, katalase positif, oksidase negatif, motil tetapi lemah dan aerob. Chan, *et al.*, (1998) menambahkan *Micrococcus* merupakan penghuni umum air tawar dan tanah dapat tumbuh optimum pada suhu 25 - 30°C. Dikemukakan pula bahwa *Micrococcus* kadang ditemukan tidak berupa tunggal tapi kadang berbentuk diplo/berpasangan, dan genus ini jarang bersifat patogen.

Hasil pengamatan selama penelitian pada genus *Flavobacterium* memiliki ciri berbentuk *coccoid*, gram negatif, katalase positif, oksidase positif, bersifat motil, fakultatif dan oksidatif. Ciri-ciri tersebut sesuai dengan data karakteristik *Flavobacterium* pada Holt, *et al* (1994) yaitu ciri – ciri berbentuk coccoid, gram negatif, non motil, oksidase positif, aerob dan reaksi oksidatif terhadap glukosa. Chan, *et al.*, (1998) menambahkan *Flavobacterium* tersebar luas dalam tanah, perairan tawar dan laut. Koloni *Flavobacterium* dapat terlihat jelas dari warnanya, yaitu kuning/oranye dan dapat memproduksi pigmen flexirubin.

Genus *Pseudomonas*, *Micrococcus* dan *Flavobacterium* bersifat gelatinolitik karena pada media gelatin 1 % terlihat zona jernih yang berarti bakteri-bakteri tersebut dapat mengeluarkan enzim gelatinase. Selain itu ketiga bakteri dapat tumbuh dan memanfaatkan kandungan gelatin pada media gelatin 1 %. Diharapkan genus bakteri gelatinolitik dapat mendegradasi gelatin pada dinding microcystis setelah melalui beberapa tahapan uji *skinning*, yaitu ujiambat, uji patogenitas, uji coba penerapan pada skala laboratorium,

skala percontohan dan penerapan di lapangan serta analisa ekonomik. Tahapan tersebut harus dilalui sebelum probion atau bakteri tersebut dimanfaatkan sebagai kontrol populasi *Microcystis* pada tambak yang mengalami cita rasa lumpur maupun blooming *Microcystis* sehingga kerugian akibat *Microcystis* dapat diminimalisir dan dapat memperbaiki mutu dan kualitas hasil budidaya.



BAB VI

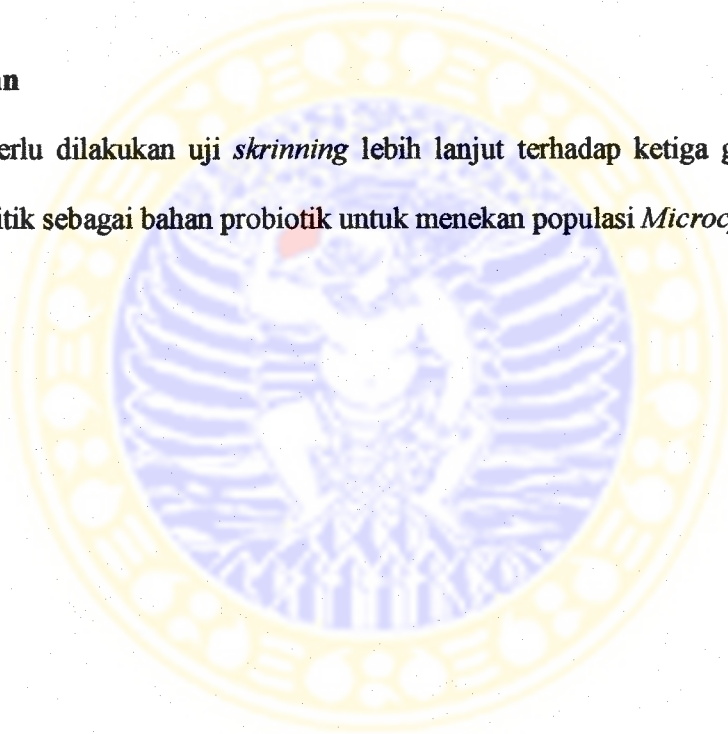
KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Ditemukan tiga genus bakteri gelatinolitik yang diisolasi dari sedimen tanah dan air tambak yang mengandung *Microcystis* dan menghasilkan citarasa lumpur pada ikan. Ketiga genus yang berhasil diidentifikasi yaitu : *Pseudomonas*, *Micrococcus* dan *Flavobacterium* .

6.2 Saran

Perlu dilakukan uji *skrinning* lebih lanjut terhadap ketiga genus bakteri gelatinolitik sebagai bahan probiotik untuk menekan populasi *Microcystis* sp.



DAFTAR PUSTAKA

- Benson, H. 1998. *Microbiological Application Laboratory Manual in General Microbiology Eight Edition*. Pasadena City College. 478 p.
- Carbis, C.R., Rawlin, G.T., Grant, P. Mitchell, G.F., Anderson, J.W., dan McCauley. I. 1997. A study of feral carp, *Cyprinus carpio* L., exposed to *Microcystis aeruginosa* at Lake Mokoan, Australia, and possible implications for fish health. [http: Blacwell Synergy: Journal of Fish Disease](http://Blacwell Synergy: Journal of Fish Disease).
- Chan, C.C.S dan M.J. Pelczar. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 443 hal.
- Chusniati, S., D. Handijanto, R. Kusdarwati dan Sudarno. 2002. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Program S1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan*. Departemen Pendidikan dan kebudayaan Universitas Airlangga. 53 hal.
- Dowell, V.R, Lombard G.L, Wanderlinder, L.M, dan Whaley, D.N. 1982. *Gelatin Agar Medium for Detecting Gelatinase Production Bacteria*. *Journal of Clinical Microbiology*. Hal 224-229
- Dwidjoseputro. 1998. *Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta. 216 hal.
- Edhy. A. Wayan. 1996. *Blue Green Algae*. *Majalah Mitra Bahari* edisi I (2) : 2-5
- Hadie, A. 2002. *Mencermati Blooming Fitoplankton*. *Majalah Mitra Bahari* edisi VII (2) : 131-135
- Haryono, SS. 2001. *Off-Flavour*. *Majalah Mitra Bahari* edisi VI (3) : 101-104
- Hoiczuk, E. dan A. Hansel. 2000. *Cyanobacterial Cell Walls : News From an Unusual Prokaryotic Envelope*. *J, Bacteriol*, 182 (5) : 1191 – 1199.
- Holt, J, G., Krieg., N.R. Sneath., P. H. A. Staley dan J. T. William. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition*. William and Wilkins. Baltimore.
- Irianto, A. 2003. *Probiotik Akuakultur*. Gadjah Mada University Press. 125 hal.
- Kusnawidjaya. K., DR. 1983. *Biokimia*. Alumni. Bandung. 146 hal.
- Lehman, P.W, Boyer, G, Teh, S, Bass, E and Hogell, C. 2005. *Myrocystis Biomass and Toxicity Pelagic Organism Study*. 12 hal.

- Pacific Shellfish Institute. 2002. *Final Report : Probiotics to Increase Shellfish Hatchery Production*.
- Paerl, H, W. 1988. *Growth and Reproductive Strategies of Fresh Water Phytoplankton*. Cambridge University Press. pp.261 – 315.
- Pribadi, J. 2002. Probiotik dalam Budidaya Udang. *Majalah Mitra Bahari Edisi VII (3) : 140 – 147*.
- Saidi, D. 2002. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Selulolitik dan Pelarut Fosfat dari Analisol sebagai Agensia Pupuk Hayati. *Habitat : XIII (4) : 201-211*
- Skerman, V.B.D. 1969. *Abstract Of Microbiological Methods*. Wiley - intersciences. pp 883
- Smith and K. Goodner. 1958. *Detection of Bacterial Gelatinase by Gelatin Agar Plate Method*. Department of Bacteriology and immunology. 662-666.
- Silalahi, G, A. 2003. *Metodologi Penelitian dan Studi Kasus*. Citra Media. 151 hal.
- Soriano, M., A. Blanco., P. Diaz dan J. Pastor. 2000. *An Unusual Pectatylase from Bacillus sp. with High Activity on Pectin : Cloning and Characterization*. *Microbiology* 146 : 89-95.
<http://www.micsgmjournals.org/full text>.
- Suharno. 1999. Aplikasi Probitotik Pada Tambak Udang. *Majalah Mitra Bahari Edisi IV (1)*. Hal 40 – 53
- Sze, P. 1993. *A Biology Of Algae Second Edition*. Wm, C, Publishers. pp. 19 – 34.
- Trisyani, N. 1997. Hubungan Antara Kualitas Air Tambak dan Pertumbuhan Alga Cyanophyceaea Terhadap Citarasa Lumpur Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forskal). Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 92 hal.
- Volk dan Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar, Edisi 5*. Erlangga. Jakarta. 396 hal.
- www.algae.com. 2004. *The Diversity of Aquatic Environment*.
<http://www.algae.com>. 48 hal
- www.lakes.chebucto.org. 2006. *The Blue Green Algae (Cyanobacteria)*. SWCSMH. <http://www.lakes.chebucto.org>. 10 hal.

www.genome.jp. 2005. Database Enzyme Search Term : Gelatin.

http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bfind_sub?mode=bfind&max_hit=1000&dbkey=enzyme&keywords=gelatin. 3 hal

www.gettingwell.com. 2002. Gelatin. http://www.gettingwell.com/druginfo/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/pec_0198.shtml. 2 hal

Yukasano, D. 2002. Teknik Mengontrol Mikroba dalam Budidaya Udang Intensif. *Majalah Mitra Bahari* edisi VII (3) : 140-147.



Lampiran 1. Komposisi media Gelatin 0,5 % dan 1 %

Komposisi media gelatin 0,5 % (dalam 500 ml) menurut Soriano., *et al* (2000)

adalah:

1. Bactopepton : 15 gr (3 %)
2. Yeast extract : 2,5 gr (0,5 %)
3. K_2HPO_4 : 0,5 gr (0,1 %)
4. $CaCl_2$: 0,005 gr (0,001 %)
5. Na_2CO_3 : 2,5 gr (0,5 %)
6. Agar : 7,5 gr (1,5 %)
7. Gelatin : 2,5 gr (0,5 %)

Komposisi media gelatin 1 % (modifikasi dari media gelatin menurut Soriano., *et al* 2000) dalam 500 ml adalah :

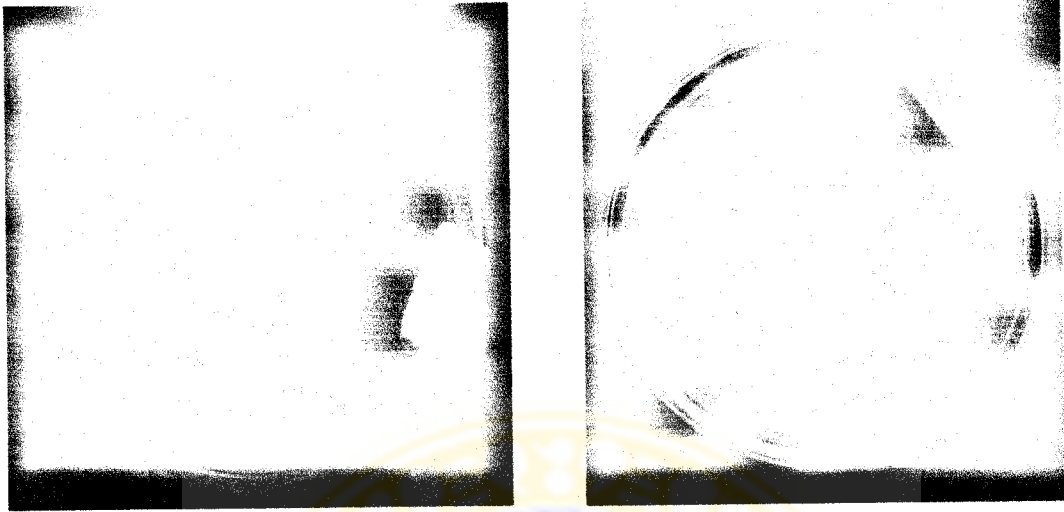
1. Bactopepton : 1,5 gr (0,3 %)
2. Yeast Extract : 0,25 gr (0,05 %)
3. K_2HPO_4 : 0,5 gr (0,11 %)
4. $CaCl_2$: 0,005 gr (0,001 %)
5. Na_2CO_3 : 2,5 gr (0,5 %)
6. Agar : 7,5 gr (1,5 %)
7. Gelatin : 5 gr (1 %)

Lampiran 2.**Data Karakteristik Morfologi Koloni**

No. Koloni	Morfologi
1	Bundar, tepi tidak rata, flat, berpendar biru
2	Bundar, tepi tidak rata, warna biru kehijauan
3	Bulat, berlekuk (tepi tidak rata), flat, pendar hijau kebiruan, granul/berbintil
4	Bundar, tepi rata, raised, krem
5	Bulat. Tepi rata, cembung, krem
6	Bulat, raised, krem-kekuningan
7	Bulat, cembung, krem, berpendar
8	Bulat, raised, putih
9	Bundar, tengah berkerut, tepi rata, krem
10	Bundar, tepi rata, berkerut, pendar biru, highly
11	Bundar, dengan margin umbonata, tengah krem tepi pendar biru
12	Bulat, cembung, krem
13	Irregular, bergriji (tepi tidak rata), krem-putih, raised
14	Irregular, tepi berlekuk, raised, pendar biru-hijau, krem
15	Bundar, flat, transparan
16	Irregular, tepi berlekuk, highly, berbintil
17	Bundar, raised, bergriji, putih
18	Bundar, flat, berbintil, pendar biru
19	Irregular, tepi tidak rata, flat, pendar biru
20	Bundar, bergriji, flat

21	Bulat, rata, krem
22	Bundar, flat, krem
23	Bundar, rata, putih
24	Irregular, raised, tepi berlekuk, kuning-hijau

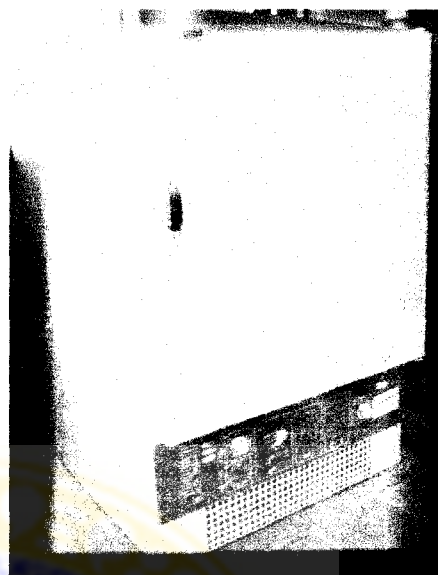


Lampiran 3.

Gambar 9. Koloni bakteri yang tumbuh pada media gelatin 0,5 %



Gambar 10. Koloni bakteri yang tumbuh pada media NA miring

Lampiran 4. Peralatan yang digunakan selama penelitian**Gambar 11. Autoclave****Gambar 12. Inkubator****Gambar 13. Laminar flow****Gambar 14. Timbangan Analitik****Gambar 15. Peralatan isolasi dan identifikasi**