

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI
ISOLAT BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK (BFA)
ASAL PERAIRAN TAMBAK JEPARA DAN SITUBONDO**

Oleh:

Muhammad Badjoeri dan Hasan Fauzi
Pusat Penelitian Limologi - LIPI

PENDAHULUAN

Bakteri Fotosintetik Anoksi-genik (BFA) adalah kelompok bakteri fotosintetik yang banyak ditemukan dan hidup pada berbagai habitat perairan, baik perairan tawar maupun laut (Pfennig dan Truper, 1998). Akan tetapi habitat umumnya BFA hidup pada perairan yang masih terdapat intensitas cahaya (*photic zone*), banyak mengandung H_2S dan kandungan oksigen rendah.

Pada habitatnya BFA mempunyai peranan ekologis yang penting selain sebagai produsen primer karena dapat berfotosintesis (Fuhrman *et al*, 1993), BFA juga mampu memanfaatkan untuk proses metabolismenya senyawa H_2S , ammonia, nitrit, senyawa karbon organik seperti protein, lemak, karbohidrat, dan logam berat.

BFA pada perkembangannya telah dikembangkan dan diuji untuk dijadinya salah satu alternatif pemanfaatan mikroorganisme sebagai biokondisioner (biokontrol) kualitas lingkungan perairan (Widiyanto, 1998 dan Rusmana dan Widiyanto, 1998). Atas dasar inilah maka perlu dilakukan isolasi dan seleksi BFA untuk mendapatkan BFA yang unggul dan terseleksi.

Bakterioklorofil dan karotenoid adalah piranti fotosintetik yang dimiliki BFA, piranti ini mempunyai fungsi yang mirip dengan klorofil pada tumbuhan tingkat tinggi dan algae. Bakterioklorofil dan karotenoid ini merupakan salah satu ciri dasar untuk identifikasi BFA karena merupakan pigmen yang memberikan warna yang khas pada kultur BFA.

Wilayah pantai utara Jawa merupakan salah satu wilayah yang potensial untuk mendapatkan berbagai jenis isolat BFA. Untuk itu kegiatan ini mencoba untuk mendapatkan koleksi isolat BFA dari wilayah tambak Jepara dan Situbondo yang terletak di wilayah pantai utara Jawa.

Rusmana *et al* (1998) telah berhasil mengisolasi BFA dari estuarin daerah Kerawang, Serang dan Sukabumi sebanyak 27 isolat yang termasuk Rhodospirillaceae (bakteri ungu non sulfur).

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mendapatkan dan menambah jumlah koleksi isolat-isolat BFA dari daerah perairan tambak wilayah pantai utara Jawa dan untuk keperluan penelitian BFA selanjutnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium mikrobiota Puslitbang Limnologi-LIPI, Cibinong, dari bulan Juni - Oktober 2001. Bakteri diisolasi dari sampel air dan sedimen (sebagai sumber isolat) diambil dari perairan tambak udang di wilayah Jepara - Jawa Tengah dan Situbondo - Jawa Timur. Lokasi pengambilan sampel dicantumkan pada table 1.

Tabel 1. Lokasi pengambilan sampel air dan sedimen untuk isolasi BFA

No.	Propinsi	Wilayah tambak
1	Jawa Tengah	Balai Penelitian Air Payau, Jepara
2.	Jawa Timur	Situbondo

Sample (sumber isolat bakteri) diambil secara aseptik dengan menggunakan tabung reaksi bertutup ulir (*test tube with screw cap*) yang berisi media selektif SWC (Sea Water Complete) 100 % (tabel 2). Sebanyak $\pm 2 - 3$ gram sedimen (tanah) dan 3 – 5 ml air dari tambak dan inlet tambak.

Tabel 2. Komposisi media selektif SWC 100% (Widiyanto, 1996)

No	Komposisi	Jumlah
1	Bakto pepton	5 gram
2	Ekstrat yeast	1 gram
3	Gliserol	3 gram
4	Bakto agar	15 gram
5	Air laut	750 ml
6	Aquadet	250 ml

Sumber isolat (sampel) yang diinokulasi pada media SWC cair kemudian diinkubasi (tahap 1) pada kondisi yang cocok untuk pertumbuhan BFA, yaitu pada suhu kamar dan 20–30 cm didepan cahaya lampu tungsram 40 W selama 4–7 hari.

Setelah masa inkubasi, satu jarum ose (jarum inokulasi) digoreskan secara kuadran (metode "streak plate"). pada media agar cawan SWC 100 % dan diinkubasi dalam "anaerobic jar" tembus cahaya (untuk kondisi anaerobik obligat) dan tanpa *anaerobic jar* hanya dengan dilapisi plastik tipis untuk kondisi anerobic fakultatif, sehingga didapatkan unit koloni BFA yang terpisah (tahap 2). Satu koloni yang terpisah dimurnikan kembali pada media agar cawan 100% dengan metode yang sama, dan cawan petri ditutup dengan melapisi plastik tipis agar tidak

terkontaminasi (kondisi anaerobik fakultatif) atau didalam *anaerobic jar* (kondisi anaerobik obligat), selanjutnya diinkubasi pada kondisi yang sama seperti diatas (tahap 3.). Apabila belum didapatkan koloni/isolat BFA murni tahap ini diulangi sampai didapatkan koloni BFA murni.

Isolat-isolat murni hasil isolasi diamati morfologi selnya dan reaksi pewarnaan gram menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 450 sampai 1000 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil kultur telah berhasil didapatkan sebanyak 12 BFA isolat murni, yaitu 6 isolat dari perairan tambak Jepara dan 6 isolat dari perairan tambak Situbondo dengan menggunakan metode kultur selektif dan pengkayaan media *Sea Water Complete* (SWC). Menurut Seeley and VanDemark (1972) metode kultur selektif dan pengkayaan media (*selective and enrichment culture*) merupakan metode yang cukup baik untuk mendapatkan isolat bakteri murni.

Media pengkayaan berupa SWC 100 % merupakan media bakteri yang cukup selektif untuk menumbuhkan BFA karena media tersebut sangat baik untuk pertumbuhan BFA dan tidak begitu baik untuk pertumbuhan bakteri yang lain sehingga bakteri selain BFA akan terhambat pertumbuhannya. Setelah masa inkubasi 4 – 7 hari, pada suhu kamar dan disinari oleh cahaya lampu tungstens 40 W pada kultur terlihat BFA tumbuh baik dan dominan terlihat dari warna kultur kuning kemerahan, merah sampai merah kecoklatan yang merupakan ciri khas dari karotenoid yang terkandung dalam sel BFA (tabel 3).

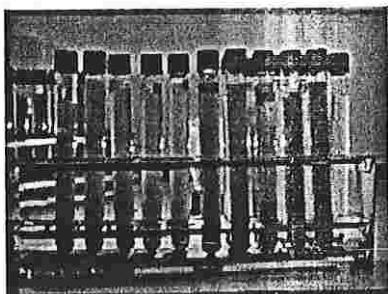
Ke 12 isolat yang didapatkan dari perairan tambak Jepara dan Situbondo tumbuh pada kondisi anaerobik fakultatif dengan warna pigmen merah, merah kecoklatan dan merah keunguan (gambar 1) dari koloni BFA yang telah terpisah (gambar 2).

Menurut Pfennig dan Truper, 1989 dan Brock dan Madigan (1991) terdapat dua kelompok bakteri yang termasuk BFA yaitu, bakteri ungu dan bakteri hijau. Bakteri ungu terdiri dari tiga famili yaitu bakteri ungu sulfur (*Chromatiaceae*), bakteri ungu non sulfur (*Rhodospirillaceae*) dan *Ectothiorhodospiraceae*. Sedangkan bakteri hijau terdiri dari dua famili yaitu, bakteri hijau sulfur (*Chlorobiaceae*) dan bakteri hijau berfilamen multiseluler (*Chloroflexaceae*). Bakteri ungu non sulfur bersifat anaerobik fakultatif dimana bakteri ini dapat tumbuh dan berkembang dengan baik pada kondisi oksigen rendah. Pada kondisi inilah didapatkan 12 isolat murni BFA asal perairan Jepara dan Situbondo. Sehingga BFA murni yang didapatkan adalah BFA dari famili bakteri non sulfur

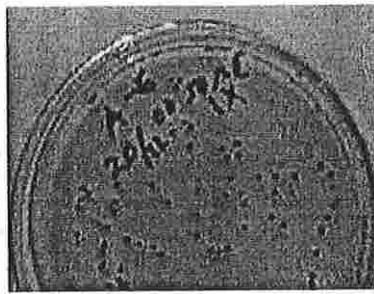
(*Rhodospirillaceae*). Sedangkan famili BFA lainnya bersifat anaerob obigat (hidup pada kondisi tidak ada oksigen).

Tabel 3. Hasil isolasi isolat BFA dari wilayah Serang dan Segara anakan

No	Kode Isolat	Sampel	Warna kultur		Morfologi sel	Reaksi Gram	Asal Sampel
			Media Cair	Media Agar			
1	JPR 1	Air	Merah	Merah	Batang pendek	Negatif	Jepara
2	JPR 2	Sedimen	Merah – keunguan	Merah	Batang pendek	Negatif	Jepara
3	JPR 3	Air	Merah – kecoklatan	Merah	Batang pendek	Negatif	Jepara
4	JPR 4	Air	Merah – keunguan	Merah	Batang pendek	Negatif	Jepara
5	JPR 5	Sedimen	Merah – keunguan	Merah	Batang pendek	Negatif	Jepara
6	JPR 6	Air	Merah	Merah	Batang pendek	Negatif	Jepara
7	STB 1	Sedimen	Merah – keunguan	Merah	Batang pendek	Negatif	Situbondo
8	STB 2	Air	Merah	Merah	Batang pendek	Negatif	Situbondo
9	STB3	Sedimen	Merah – keunguan	Merah	Batang pendek	Negatif	Situbondo
10	STB4	Air	Merah	Merah	Batang pendek	Negatif	Situbondo
11	STB 5	Sedimen	Merah – keunguan	Merah	Batang pendek	Negatif	Situbondo
12	STB6	Air	Merah	Merah	Batang pendek	Negatif	Situbondo



Gambar 1



gambar 2

Gambar 1. Memperlihatkan kultur BFA yang telah dimurnikan

Gambar 2. Koloni Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA) yang terpisah

Pengamatan morfologi sel BFA dengan pewarnaan gram dan secara mikroskopi, menunjukan semua isolat murni yang didapatkan berbentuk batang dan bersifat gram negatif (tabel 3). Hasil reaksi gram ini mendukung dugaan tersebut karena menurut (Pfennig dan Truper, 1989) bakteri ungu non sulfur bersifat gram negatif dan sel berbentuk batang, oval atau spiral.

DAFTAR PUSTAKA

- Brock, D. T. and M.T. Madigan, 1991. Bioplogy of Microorganisms. Prentice Hall. New Jersey.
- Fuhrman . J. A., K. Mc. Callum, and A.A. Davis, 1993. Phylogenetic Diversity of Surface Marine Microbial Communities from Atlantic and Pacific Oceans. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1294-1302.
- Rusmana, I, T. widiyanto, dan M. Badjoeri. 1998. Isolasi Bakteri Anoksigenik dari Estuarin Daerah Karawang, Serang dan Sukabumi. *dalam* : Hasil – Hasil Penelitian Puslitbang Limnologi, tahun 1997/1998. Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi – LIPI. hal. 391 –397.
- Seeley, H. W. and P. J. VanDemark. 1972. Microbes in Action. A. Laboratory Manual of Microbiology. 2nd (ed.). W.H. Freeman and Company. San Francisco. 181 pp.
- Widiyanto. T. 1996. Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Sebaai Biokontrol di Tambak Udang. Pengurangan H₂S dan Pengaruhnya pada pertumbuhan *Vibrio Harveyi*, Tesis Program Pasca Sarjana IPB, Bogor, 68 hal.