

## Rekayasa media padat nonselektif untuk bakteri akuatik

### Modification of non-selective-solid media for aquatic bacteria

Sefti Heza Dwinanti\*, Tanbiyaskur

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya  
Jalan Raya Palembang-Unsri KM 32 Inderalaya, Ogan Ilir, Sumatera Selatan 30662

\*Surel: heza\_dwinanti@yahoo.com

#### ABSTRACT

The objective of this research was to produce an alternative media for aquatic bacteria using fish broth as pepton source and commercial consumption agar as material. This experiment consisted of six treatments; four treatments used fish broth with doses 200 g/L; 400 g/L; 600 g/L and 800 g/L; two treatments as controls which were commercial agar as negative control and tryptic soy agar (TSA) as positive control. The result showed that treatment 200 g/L had performed as good as TSA for bacterial growth.

Keywords: solid media, fish broth, aquatic bacteria

#### ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah menciptakan alternatif media padat nonselektif untuk bakteri akuatik dengan memanfaatkan kaldu daging ikan sebagai sumber pepton dan agar-agar konsumsi komersial (AKK) sebagai pemat. Penelitian ini terdiri atas enam perlakuan yaitu; empat perlakuan menggunakan kaldu ikan yang dibuat dengan dosis 200 g/L; 400 g/L; 600 g/L and 800 g/L; dua perlakuan sebagai kontrol yaitu ART sebagai kontrol negatif dan *tryptic soy agar* (TSA) sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemanfaatan kaldu daging ikan pada dosis 200 g/L memiliki performa yang sama baiknya dengan TSA sebagai media tumbuh bakteri.

Kata kunci: media padat, kaldu ikan, bakteri akuatik

#### PENDAHULUAN

Penyakit bakterial pada industri akuakultur merupakan salah satu penyebab terjadinya kerugian usaha di sektor perikanan (Labrie *et al.*, 2005). Oleh karena itu, keberadaan bakteri sebagai agen penyakit harus dapat dideteksi sehingga dapat mencegah terjadinya penyebaran dan terulangnya penyakit yang sama.

Dibutuhkan media buatan yang mampu mengembangbiakkan patogen di luar tubuh inang untuk mempermudah proses deteksi penyakit bakterial. Ketersediaan media tumbuh bakteri untuk pemeriksaan penyakit bakterial pada ikan merupakan suatu kendala yang sering dihadapi petani ataupun laboratorium lapangan untuk menentukan agen penyakit. Padahal pemeriksaan agen penyebab penyakit merupakan hal yang penting untuk menentukan perlakuan pengobatan yang tepat sehingga dapat menghindari kegagalan panen.

Media tumbuh bakteri yang umum digunakan untuk menumbuhkan bakteri akuatik tawar adalah

*tryptic soy agar* (TSA). Kandungan dari TSA terdiri atas agar, tryptone, soytone dan sodium chloride. Kisaran harga TSA per 500 g yang biasa digunakan antara Rp. 850.000–1.200.000 dengan dosis pemakaian 40 g/L.

Berdasarkan komposisi penyusun TSA, ada alternatif pengganti penyusun media nonselektif bakteri yang dapat juga digunakan untuk bakteri akuatik. Secara umum kultur media bakteri harus mengandung sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, vitamin atau bahan-bahan yang dapat mendorong pertumbuhan bakteri seperti ekstrak daging atau ragi. Ekstrak daging mengandung pepton atau protein terhidrolisi yang banyak mengandung senyawa nitrogen sederhana. Selain pepton, keberadaan elemen mikro seperti Ca, Mn, Na, Mg, Zn, Co, Fe, Cu juga dibutuhkan (Collin & Lyne, 2004).

Pemanfaatan agar konsumsi komersial (AKK) yang diperkaya dengan kaldu ikan sangat potensial untuk dijadikan media tumbuh bakteri. Selain pertimbangan ekonomis, kemudahan memperoleh bahan baku penyusun media merupakan nilai lebih

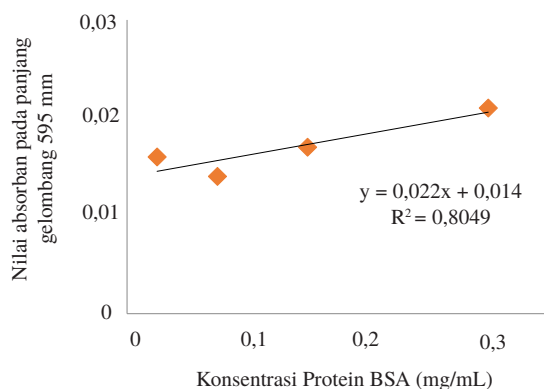
yang dimiliki media dengan bahan baku AKK sehingga pemanfaatan kaldu daging ikan dan agar rumah tangga diharapkan dapat menjadi media tumbuh alternatif yang bersifat nonselektif untuk bakteri khususnya bakteri akuatik. Penelitian ini bertujuan untuk menciptakan media padat nonselektif pengganti TSA untuk mempermudah preparasi bakteri secara teknis.

## BAHAN DAN METODE

Pada penelitian ini dilakukan empat tahapan kerja. Pertama pembuatan kaldu ikan, kedua pembuatan media, pengukuran kadar protein pada media dan yang keempat adalah inokulasi bakteri pada media.

### Pembuatan kaldu ikan

Ikan yang digunakan adalah fillet ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang telah dibersihkan. Daging ikan dipotong dengan ukuran 3x3x3 cm<sup>3</sup>, kemudian daging ikan dibungkus dengan menggunakan kain saring. Pembungkusan bertujuan untuk mencegah matrik daging keluar dan larut dalam air sehingga dapat meminimalisir kekeruhan kaldu. Pembuatan kaldu dilakukan dengan cara perebusan selama 45 menit pada suhu 85 °C setelah mendidih. Adapun kebutuhan daging yang digunakan untuk memperkaya



Gambar 1. Kurva standar bovine serum albumin (BSA).

Tabel 1. Kadar protein kaldu *triptic soy broth* (TSB)

Perlakuan	Nilai absorbansi	Kadar protein (mg/mL)
Kaldu 200 g/L	0,09	0,01598
Kaldu 400 g/L	0,116	0,01655
Kaldu 600 g/L	0,228	0,01902
Kaldu 800 g/L	0,293	0,02045
TSB 30 g/L	0,072	0,01558

media adalah 200 g/L, 400g/L, 600 g/L dan 800 g/L. Setelah perebusan kaldu ikan disentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit untuk mengendapkan matrik yang masih terlepas dari kain saring. Sebelum dimanfaatkan, kaldu ikan terlebih dahulu disaring menggunakan kertas Whattman No. 42. Penyimpanan kaldu dikondisikan pada suhu 40 °C.

### Pembuatan media tumbuh bakteri

Agar rumah tangga yang digunakan adalah agar bubuk tanpa rasa (*plain*). Dosis agar yang digunakan untuk pembuatan media padat adalah 1 g/L. Larutan agar dibuat dengan cara mendidihkan agar dan kaldu ikan sesuai perlakuan. Selanjutnya adalah proses sterilisasi yang menggunakan autoklaf.

### Pengukuran kadar protein terlarut pada media hasil rekayasa

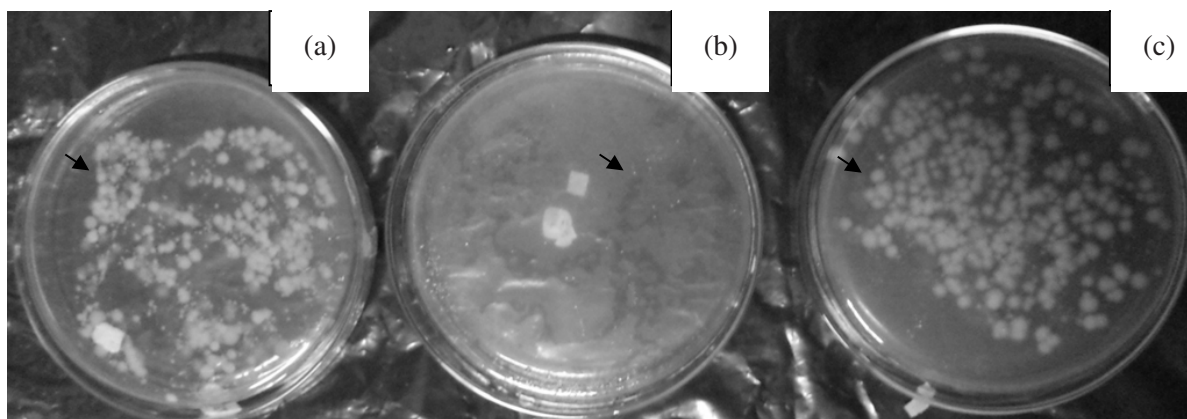
Penentuan kadar protein terlarut menggunakan metode Bradford. Kadar protein diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

### Inokulasi bakteri pada media hasil rekayasa

Untuk menguji kelayakan media dilakukan inokulasi bakteri dengan cara metode tuang. Bakteri yang digunakan adalah *Aeromonas hydrophila* dan sebagai perlakuan kontrol digunakan TSA untuk kontrol positif dan agar rumah tangga tanpa kaldu ikan sebagai kontrol negatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri membutuhkan nutrisi untuk menunjang pertumbuhannya. Umumnya bakteri memanfaatkan karbon dan nitrogen dalam jumlah yang relatif lebih besar dibandingkan komponen lainnya. Pada media kultur, keberadaan pepton sangat penting sebagai penyedia nitrogen. Pepton merupakan campuran dari peptides dan asam amino yang banyak mengandung nitrogen (Vazquez *et al.*, 2005). Pepton yang dihasilkan dari limbah isi perut ikan telah diteliti sebelumnya oleh Vazquez *et al.* (2004) dan Horn *et al.* (2005), yang menunjukkan bahwa penggunaan sumber pepton ini dapat menekan biaya media kultur bakteri asam laktat. Daging ikan yang direbus mengakibatkan protein terhidrolisis menjadi pepton. Selain menghasilkan pepton, minyak ikan juga muncul setelah terjadi perebusan. Minyak dipisahkan dari kaldu agar tidak mengganggu



Gambar 2. Isolasi bakteri *Aeromonas hydrophila* setelah 24 jam pada (a) media TSA, (b) agar rumah tangga yang tidak diberi kaldu, dan (c) agar rumah tangga yang diperkaya kaldu ikan dengan konsentrasi 200 g/L. Keterangan: tanda panah: koloni bakteri yang tumbuh.

performa tumbuh bakteri. Sementara itu, matriks daging yang tercampur dengan larutan juga harus disaring untuk menghindari percepatan pembusukan kaldu.

Kurva standar *bovine serum albumin* (BSA) digunakan untuk menentukan nilai protein terlarut dalam media, seperti yang disajikan pada Gambar 1. Kadar protein perlakuan dihitung dengan menggunakan persamaan pada kurva standar BSA yaitu  $Y=0,022x+0,014$ . Hasil pengukuran kadar protein disajikan pada Tabel 1.

Pemanfaatan kaldu ikan sebagai media tumbuh bakteri sudah banyak dikaji (Aspmo *et al.*, 2005; Aspmo *et al.*, 2005; Martone *et al.*, 2005; Horn *et al.*, 2007; Rebah *et al.*, 2008). Kaldu ikan pertama kali digunakan sebagai media tumbuh bakteri oleh Louis Pasteur. Selanjutnya Robert Koch menyadari pentingnya media padatan sebagai alternatif media tumbuh bakteri yang lebih tahan lama. Pengujian media pada dosis terendah (200 g/L) dengan menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* menghasilkan pertumbuhan bakteri yang sama baiknya dengan kontrol positif dimana jumlah dan ukuran koloni yang tumbuh relatif sama. Hal ini berbeda pada perlakuan kontrol negatif, dimana ukuran koloni yang tumbuh lebih kecil dibandingkan pada perlakuan dan kontrol positif (Gambar 2).

Pada saat mengkultur bakteri, kondisi lingkungan dan nutrisi yang tersedia haruslah mendekati pada habitat alami. Oleh karena itu, media buatan yang ditujukan untuk bakteri akuatik dapat menggunakan sumber nutrisi dari ikan yang mengandung karbon dan nitrogen yang organik. Kesesuaian nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri dalam media buatan dapat dilihat dari jumlah dan ukuran koloni yang tumbuh. Pada kontrol negatif, agar rumah tangga yang

digunakan sudah mengandung sedikit nutrisi untuk bakteri sehingga koloni mampu tumbuh. Adapun kandungan nutrisi dalam 7 g agar rumah tangga yang digunakan adalah 6,15 g karbohidrat; 0,02 g protein; dan 0,037 kalsium.

Kemudahan membuat media tumbuh bakteri tersebut diharapkan dapat membantu para praktisi perikanan untuk melakukan isolasi bakteri dari ikan yang terserang penyakit bakterial.

## KESIMPULAN

Pemanfaatan agar rumah tangga dengan penambahan kaldu ikan dapat dimanfaatkan sebagai media padat untuk bakteri *Aeromonas hydrophila*. Perlu dilakukan kajian terhadap konsentrasi kaldu ikan yang lebih rendah untuk pertumbuhan bakteri akuatik, kerja media terhadap bakteri lainnya dan pengaruhnya pada virulensi isolat yang dibiakkan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya yang telah mendanai penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aspmo SI, Horn SJ, Eijsink VG. 2005. Hydrolysates from Atlantic cod *Gadus morhua* L. viscera as components of microbial growth media. *Process Biochemistry* 40: 3.714–3.722.
- Aspmo SI, Horn SJ, Eijsink VG. 2005. Use of hydrolysates from Atlantic cod *Gadus morhua* L. viscera as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 248: 65–68.

- Collin CH, Lyne PM. 2004. Microbiological Method, 8<sup>th</sup> ed. London: Arnold.
- Horn SJ, Aspmo SI, Eijsink VGH. 2005. Growth of *Lactobacillus plantarum* in media containing hydrolysates of fish viscera. *Journal of Applied Microbiology* 99: 1.082–1.089.
- Horn SJ, Aspmo SI, Eijsink VGH. 2007. Evaluation of different cod viscera fractions and their seasonal variation used in a growth medium for lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology* 40: 1.328–1.334.
- Labrie L, Ng J, Tan Z, Komar C, Ho E, Grisez L. 2005. Nocardial infections in fish: an emerging problem in both freshwater and marine aquaculture systems in Asia. The Sixth Symposium on Diseases in Asian Aquaculture 25–28 October 2005. Asian Fishery Society. Hlm. 297–311.
- Martone CB, Borla OP, Sánchez JJ. 2005. Fishery by-product as a nutrient source for bacteria and archaea growth media. *Bioresource Technology* 96: 383–387.
- Rebah FB, Frikha F, Kamoun W, Belbahri L, Gargouri Y, Miled N. 2008. Culture of *Staphylococcus xylosus* in fish processing by-product-based media for lipase production. *Letters in Applied Microbiology* 47: 549–554.
- Vázquez JA, Docasal SF, Prieto MA, González MaP, Murado MA. 2008. Growth and metabolic features of lactic acid bacteria in media with hydrolysed fish viscera. An approach to bio-silage of fishing by-products. *Bioresource Technology* 99: 6.246–6.257.
- Vázquez JA, González MP, Murado MA. 2004. A new marine medium: use of different fish peptones and comparative study of the growth of selected species of marine bacteria. *Enzyme and Microbial Technology* 35: 385–392.
- Vázquez JA, González MP, Murado MA. 2004. Peptones from autohydrolysed fish viscera for nisin and pediocin production. *Journal of Biotechnology* 112: 299–311.