

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons

(Isolation and Characterization of Symbiotic Bacteria with Sponges)

Megawati^{1*}, Meryany Ananda¹, I Nengah Suwastika¹

¹ Laboratorium Biologi Sel dan Molekul, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Tadulako Jl. Soekarno Hatta km 9 Tondo, Palu 94117, Sulawesi Tengah, Indonesia.

Keywords: Isolation, characterization, symbiosis, sponge.

Keywords: Isolasi, karakterisasi, simbiosis, spons.

* Corresponding Author :
meegawaty@gmail.com
(ph/fax: +62-451-97896)

Abstrak

Bakteri mampu bersimbiosis dengan spons karena memiliki hubungan simbiosis secara mutualisme antara spons dengan bakteri dalam penelitian ini bertujuan memperoleh isolat bakteri dan mengetahui karakteristik bakteri yang bersimbiosis dengan spons, spons diambil di Perairan Teluk Tomini Sulawesi Tengah dengan menggunakan pisau. Sampel kemudian dimasukkan dalam botol steril yang diisi dengan air laut steril dan gliserol 30%. Bakteri pada sampel diisolasi pada media SWC dengan metode spread plate dari hasil isolasi terdapat tiga isolat, isolat terdapat tiga yang isolat yang dilanjutkan untuk ketahap karakterisasi yakni (BS 1, BS 3 dan BS 10).

Abstract

Bacteria are able to symbiosis with sponges because they have a symbiotic relationship between mutual sponges and bacteria in this study aimed at obtaining bacterial isolates and knowing the characteristics of bacteria symbiosis with sponges, sponges taken from Tomini Bay waters in Central Sulawesi using a knife. The sample is then put in a sterile bottle filled with sterile sea water and 30% glycerol. Bacteria in the sample were isolated on the SWC media with the spread plate method from the isolation results, there were three isolates, the isolates were three isolates which were continued for the characterization stage, namely (BS 1, BS 3 and BS 10).

Latar Belakang

Bakteri mampu bersimbiosis dengan spons karena memiliki hubungan simbiosis secara mutualisme antara spons dengan bakteri. Hubungan ini mempengaruhi siklus biogeokimia dari nutrisi utama seperti karbon, nitrogen dan fosfor sehingga terdapat beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan spons (Pita *et al.*, 2018).

Spons *Pione vestifica* terdapat sembilan genus bakteri yang mampu bersimbiosis dengan spons yakni bakteri *Vibrio*, *Halomonas*, *Alteromonas*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Tenachibaculum*, *Spongiobacter*, *Bacillus* dan *Pseudovibrio*, sedangkan pada jenis spons

Siphonochalina siphonella terdapat tujuh genus bakteri yang didapatkan diantaranya *Pseudovibrio*, *Photobacterium*, *Psychrobacter*, *Halomonas*, *Kocuria*, *Bacillus* dan *Carnobacterium* (Bibi *et al.*, 2018).

Spons adalah hewan berpori yang termasuk *filter feeder* yaitu hewan yang memiliki cara makan dengan menyaring air laut melalui pori-pori (*ostium*). Mikroorganisme atau sisa organisme yang telah mati yang berada di air laut menjadi sumber makanan untuk spons. Tubuh spons yang berpori-pori digunakan bakteri sebagai tempat hidup dan perlindungan dari predator. Hubungan simbiosis spons dan bakteri terjadi secara mutualisme (Taylor *et al.*, 2007).

Teluk Tomini merupakan teluk yang paling luas di daerah khatulistiwa dengan luas $\pm 59.500 \text{ km}^2$ atau ± 6 juta hektar (Muzakir dan Suparman, 2016). Dengan potensi sumberdaya alam yang sangat besar Teluk Tomini merupakan salah satu kawasan unggulan yang harus dikembangkan dan dikelola dimana pola massa air yang secara alamiah memiliki sistem khusus berupa kesuburan sehingga menjadi habitat yang baik bagi berbagai biota laut seperti padang lamun, mangrove dan terumbu karang dan salah satu biota laut yang ditemukan di Teluk Tomini adalah spons (Suwarso dkk., 2007). Spons merupakan biota laut yang dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai bahan obat-obatan seperti antibakteri, antijamur, antioksidan dan sebagai habitat bakteri untuk perlindungan dari predator.

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel spons kelas Demospongiae, media *Sea Water Complete* (SWC), media gula-gula, air laut, aquades dan gliserol.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel spons diambil dengan menggunakan alat bantu SCUBA jenis spons yang diambil adalah kelas Demospongiae, pengambilan dilakukan secara *purposive sampling* yaitu dengan menyusuri dasar laut. GPS digunakan untuk menentukan titik koordinat sampel spons selanjutnya diambil pada kedalaman 4 m, sebelum pengambilan sampel, terlebih dahulu dilakukan pengukuran parameter lingkungan seperti suhu, pH dan salinitas. Spons diambil dengan dipotong menggunakan pisau, Spons kemudian dicuci dengan air laut steril dan dimasukkan ke dalam botol steril selanjutnya diisi dengan air laut steril dan gliserol 30% kemudian disimpan dalam *cool box* berisi es batu (Rizki, 2013). Analisis dilakukan di Laboratorium Biologi Sel dan Molekul, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako.

Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *spread plate* (sebaran). Sampel spons sebanyak 10 g di blender sampai hancur kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 90 ml air laut. Selanjutnya sampel yang telah di homogenkan diambil sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril selanjutnya pengenceran dilakukan dari 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} , dari masing-

masing pengenceran ditanam pada medium SWC dengan metode sebaran pada cawan petri. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati. Koloni yang berbeda ditumbuhkan pada medium SWC yang baru untuk mendapatkan kultur murni dengan metode *streak* (goresan) (Pastra dkk., 2012).

Pengamatan Morfologi Koloni

Sampel bakteri dari pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} dilakukan pengamatan morfologi koloni dari bentuk, warna, elevasi dan tepi. Pengamatan dilakukan dengan mengacu pada (Cappucino and Sherman, 2008). Hasil purifikasi diamati dengan menggunakan mikroskop stereo, koloni diamati dari warna, permukaan dan bentuk koloni.

Pengamatan Koloni Pada media tegak dan miring

Pengamatan koloni pada media tegak menggunakan Media semi padat yang mengandung agar sebanyak 0,3% -0,4% sehingga media menjadi kenyal tidak padat dan tidak begitu cair. Media dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 7 ml kemudian di inokulasi menggunakan jarum ose needle diinkubasi selama 24 Jam kemudian diamati koloni bakteri pada media tegak (Cappucino and Sherman, 2008).

Media dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 7 ml, media agak dimiringkan sampai padat kemudian di inokulasi menggunakan jarum ose kemudian diinkubasi selama 12 Jam diamati koloni bakteri pada media miring (Cappucino and Sherman, 2008).

Pengamatan Morfologi Sel Bakteri secara Mikroskopis

Hasil pewarnaan dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x untuk memperjelas morfologi sel bakteri ditetesi dengan minyak imersi di atas cover glass. Sel bakteri Gram positif akan berwarna ungu hingga biru, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah (Cappuccino and Sherman, 1998).

Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji Fermentasi karbohidrat menggunakan media fenol red, uji ini bertujuan untuk mengetahui metabolisme bakteri, uji glukosa, laktosa dan sukrosa ditandai dengan perubahan warna kuning pada tabung. Bakteri yang diinokulasi berumur 24 jam diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Novel dkk., 2010).

Hasil dan Pembahasan

Sampel Spons yang telah di ambil dilakukan identifikasi. Sampel diambil di perairan Teluk Tomini Sulawesi Tengah pada titik koordinat N 00°02'19.7' E 120°06'08. kedalaman 4 m, suhu 37, pH 7,8 dan salinitas 30 ppt. Ciri-ciri morfologi spons, bentuk tubuh agak bulat bagian permukaan spons yang kasar berwarna orange. Saluran keluar air (*oskula*) terlihat jelas namun tidak beraturan karena memiliki ukuran yang lebih besar dan berada pada bagian atas tubuh spons, pada saluran masuk air ke dalam tubuh spons melalui pori-pori kecil (*ostia*) terlihat kurang jelas, hasil identifikasi sesuai dengan (Utami dkk., 2016).



Gambar 1. Kelas Demospongiae: a. Pori-pori kecil (*ostia*), b: Saluran keluar air (*oskula*)

Karakter Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons

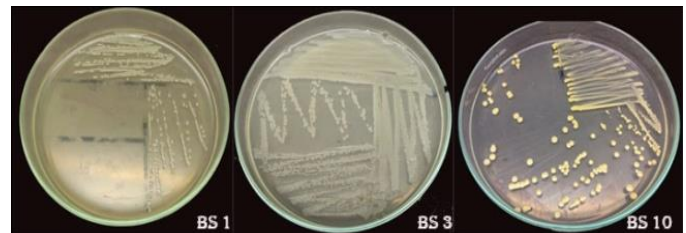
Hasil isolasi berhasil dilakukan terdapat tiga isolat bakteri yang berhasil didapatkan dari spons kelas Demospongiae. Tiga isolat tersebut dilanjutkan untuk di purifikasi (pemurnian) dengan menggunakan media SWC Isolat yang didapatkan diberi kode bakteri spons (BS).

Morfologi bakteri diamati secara makroskopis dengan mengacu pada (Cappucino dan Sherman, 1998). Terdapat tiga isolat bakteri yang didapatkan dari spons, karakter koloni terlihat secara beragam. Karakter koloni tersebut didasarkan pada ciri-ciri koloni yang terlihat pada lempeng agar meliputi bentuk, margin, elevasi dan warna. Bentuk koloni terlihat circular (bulat beraturan) pada bagian elevasi raised (rata) dan convex (cembung) sedangkan warna koloni terlihat

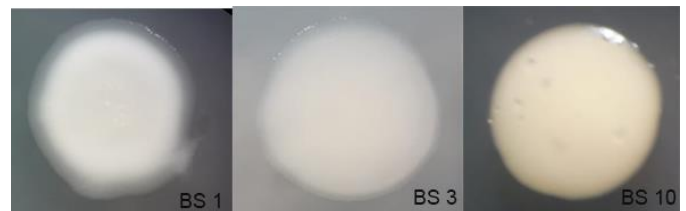
putih, krem dan kuning, didasarkan pada (Tabel 1 dan Gambar 2).

Tabel 1. Karakter Morfologi koloni hasil purifikasi dari bakteri yang bersimbiosis dengan spons

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni	Elevasi	Margin	Warna Koloni
1.	BS 1	Circular	Raised	Entire	Putih
2.	BS 3	Circular	Raised	Entire	Kream
3.	BS 10	Circular	Convex	Entire	Kuning



Gambar 2. Hasil purifikasi (pemurnian)



Gambar 3. :Pengamatan Mikroskop Stereo.

Morfologi bakteri diamati secara makroskopis dengan mengacu pada (Cappucino dan Sherman, 1998). Terdapat tiga isolat bakteri yang didapatkan dari spons, karakter koloni terlihat secara beragam. Karakter koloni tersebut didasarkan pada ciri-ciri koloni yang terlihat pada lempeng agar meliputi bentuk, margin, elevasi dan warna. Bentuk koloni terlihat circular (bulat beraturan) pada bagian elevasi raised (rata) dan convex (cembung) sedangkan warna koloni terlihat putih, krem dan kuning, didasarkan pada (Tabel 1 dan Gambar 2).

Karakter Koloni pada media Tegak dan Miring

Hasil pengamatan berdasarkan (Cappuccino and Sherman, 2008), terdapat isolat bakteri terlihat *villous* bentuk pendek tebal bagian permukaan seperti rambut dan isolat *echinulate* pertumbuhan sepanjang bekas inokulasi bergerigi atau berbintik-bintik.

Media miring mengacu pada (Cappuccino and Sherman, 2008), bentuk isolat *echinulate* pertumbuhan sepanjang inokulasi bergerigi atau berbintik dan *fillform* pertumbuhan sepanjang inokulasi.

Tabel 2. karakter koloni bakteri pada media tegak dan miring

No	Kode Isolat	Tegak	Miring
1	BS 1	<i>Villous</i>	<i>Echinulate</i>
2	BS 3	<i>Echinulate</i>	<i>Echinulate</i>
3	BS 10	<i>Echinulate</i>	<i>Fillform</i>

Keterangan:

BS 1 :Gram positif bentuk *coccus*

BS 3 :Gambar positif bentuk *coccus*

BS 10 :Gram negatif bentuk *bacil*

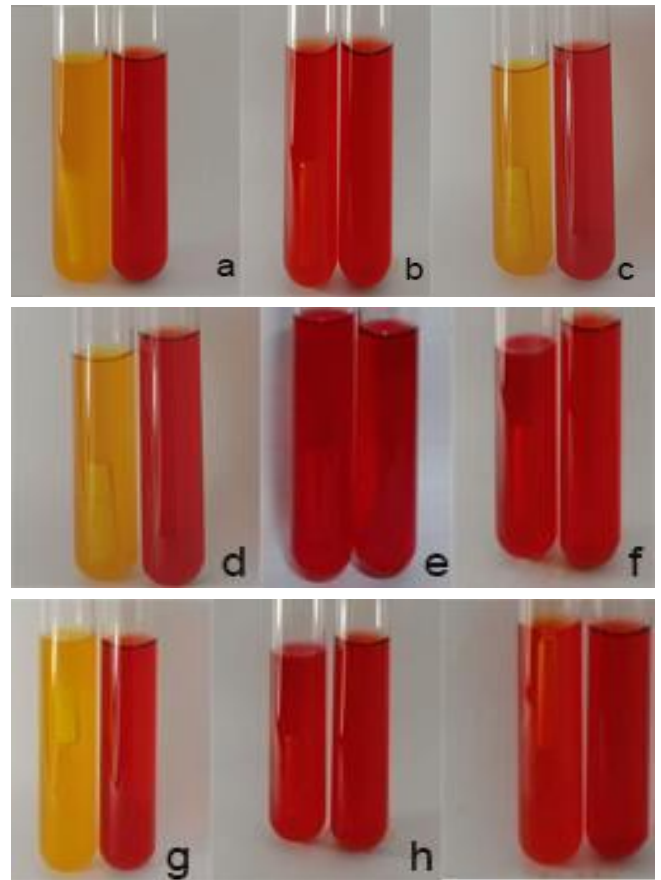
Morfologi Sel Bakteri secara Mikroskopis

Pada penelitian ini bakteri terlihat Gram positif BS 1 dan BS 10 bentuk sel terlihat *coccus* (bulat) sedangkan BS 3 Gram negatif terlihat *bacil* (kapsul) didasarkan pada Gambar 3. Menurut (Pelczar dan Chan, 1986), Sekitar 80% jenis bakteri laut merupakan Gram negatif. Bakteri laut 75-85% yang ditemukan pada umumnya berbentuk *bacil* dan memiliki flagel yang digunakan untuk bergerak aktif di perairan sedangkan bakteri yang berbentuk *coccus* tidak memiliki alat gerak maka hidupnya akan melekat pada suatu substrak termasuk pada spons. Bakteri yang berbentuk *coccus* karena adanya bahan berlendir sehingga sel-sel saling terikat atau bergabung dengan sesamanya untuk membentuk permukaan yang kuat (solid).

Fermentasi dihasilkan oleh mikroorganisme, uji fermentasi glukosa dan sukrosa menunjukkan terjadi fermentasi karbohidrat karena media mengalami perubahan warna, uji fermentasi laktosa tidak terjadi fermentasi disajikan pada (Gambar 4 dan tabel 3). Hal ini dikarenakan laktosa dalam bentuk bebas tidak dapat terikat dengan molekul lainnya hanya dapat ditemukan pada susu. Laktosa dibuat di sel-sel kelenjar mamma pada masa menyusui melalui reaksi antara glukosa dan galaktosa uridin difosfat dengan bantuan laktos synthetase (Sinuhaji, 2006).

Perubahan warna diikuti terbentuknya gas pada tabung durham yang merupakan fermentasi asam campuran

dan fermentasi tanpa adanya perubahan warna tetapi terbentuk gas pada tabung durham menandakan terjadinya fermentasi alkohol.



Gambar 4.: Hasil Fermentasi karbohidrat

Keterangan:

- a : Fermentasi glukosa BS 1
- b : Fermentasi laktosa BS 1
- c : Fermentasi sukrosa BS1
- d : Fermentasi glukosa BS 3
- e : Fermentasi laktosa BS 3
- f : Fermentasi sukrosa BS 3
- g : Fermentasi glukosa BS 10
- h : Fermentasi laktosa BS 10
- i : Fermentasi sukrosa BS 10



Gambar 4 Sel bakteri mikroskopis

Tabel 3. Uji Fermentasi Karbohidrat

No	Kode Isolat	Glukosa		Laktosa		Sukrosa	
		pH Asam	G	pH Asam	G	pH Asam	G
1	BS 1	+	+	-	+	+	+
2	BS 3	+	+	-	+	-	+
3	BS 10	+	+	-	+	-	+

Keterangan:

- + : pH asam dan memiliki gas
- : pH tidak asam

Menurut (Lay, 1994), bakteri yang ditumbuhkan dalam media cair yang mengandung karbohidrat, maka hasil fermentasi berupa asam dan gas. Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH media biakan. Pembentukan asam akan ditandai oleh perubahan warna media menjadi kuning. Hal tersebut mengindikasikan kebutuhan nutrient bakteri berupa beberapa karbohidrat yang berbeda.

Sebagai kesimpulan dari penelitian ini, telah diisolasi 10 bakteri dari jenis yang berbeda yang bersimbiosis dengan spons. Diperlukan uji lanjut identifikasi bakteri hingga diketahui jenis masing-masing, dan potensinya dalam bioteknologi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan Terima kasih kepada Laboran Sami Bukang S.P atas bantuannya selama penelitian.

Daftar Pustaka

- Bibi, F., Alvi, S. A., Al-Sofyani, A., Yasir, M., Kensarah, E. A., and Azhar, E. I. 2018. Two marine sponges-associated cultivable bacteria: Diversity and biological activities. *J. Genetics and Molecular Research*, 17(2), 1-12.
- Cappuccino, J.G. Sherman., 2008. *Microbiology: a laboratory manual*. 10 th.ed pp 30.
- Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 1998. *Microbiology: a laboratory manual*. pp 50-51.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta. 167 hlm.
- Muzakir dan Suparman. 2016. *Strategy of Developing Tomini Bay or Economic Growth of Coastal*

- Community in Central Sulawesi, *Journal of Economics and Policy*, Vol 9 (1) (2016): 96-110.
- Novel,S.S., Wulandari.P.A., Safitri.R., 2010. *Praktikum Mikrobiologi Dasar*, Hal 89.
- Pastra, D. A., Melki, M., dan Surbakti, H. 2012. Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung. *Jurnal Maspari*, 77-82.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid I. Penerjemah Ratna Siri Hadioetomo. UI Press, Jakarta Universitas Indonesia lu Press Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*, Hal 138-144.
- Pita, L., Rix, L., Slaby, B. M., Franke, A., and Hentschel, U. 2018. The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Journal Microbiome*, 6(1), 1-18.
- Rizki, A. F.M, 2013. *Skrining bakteri simbiosis asal perairan pulau polewali dan pulau sarappolompo sebagai penghasil Antibakteri terhadap bakteri patogen pada manusia dan ikan*. Skripsi. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Sinuhaji AB., 2006. Intoleransi laktosa. *Majalah kedokteran nusantara* 39, 4, 424- 429.
- Suwarso, S., Sadhotomo, B., & Wudianto, W. (2017). *Perkembangan Perikanan Pelagis Kecil Di Teluk Tomini: Suatu Pendekatan ke Arah Manajemen yang Bertanggung jawab*. BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap, 1(6), 233-244.
- Taylor, M. W., Radax, R., Steger, D., and Wagner, M. 2007. *Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential*. *Journal Microbiology and Molecular Biology*, 71(2), 295-347.
- Utami, T., Komang, N., Trianto, A., Dan Karna Radjasa, O. 2016. *Skrining Senyawa Antibakteri Ekstrak Spons Dari Perairan Kupang, Nusa Tenggara Timur* Prosiding Seminar Nasional Tahunan Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan