

## ISOLASI BAKTERI SIMBION DENGAN SPONS DARI PERAIRAN TONGKEINA, SULAWESI UTARA

Letha L Wantania<sup>1</sup>, Elvy L. Ginting<sup>1</sup>, Stenly Wullur<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat

Louisletha@gmail.com

### ABTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengisolasi bakteri yang bersimbiosis dengan spons dan menentukan karakteristik morfologi serta sifat Gram dari isolat bakteri tersebut. Sampel spons diambil dari perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. Spons digerus dan dilarutkan dalam air laut steril dan dilakukan pengenceran. Bakteri simbiosis spons dalam setiap pengenceran ditumbuhkan pada media Nutrient Broth. Bakteri yang tumbuh ditumbuhkan kembali pada media Nutrient Agar dengan metode cawan gores. Isolat bakteri yang tumbuh kemudian diuji sifat Gramnya. Penelitian ini memperoleh sepuluh isolat bakteri yang bersimbiosis dengan dua jenis spons dengan karakteristik morfologi yang bervariasi. Dua dari kesepuluh isolat bakteri tergolong dalam Gram positif dengan bentuk coccus dan delapan tergolong dalam Gram negatif dengan bentuk basil (batang pendek).

---

**Kata Kunci :** Bakteri, isolasi, simbiosis, spons

### PENDAHULUAN

Bakteri memiliki jumlah yang sangat banyak dibandingkan dengan jumlah makhluk hidup lain di bumi. Pertumbuhan bakteri banyak dijumpai dengan cara berasosiasi dengan berbagai organisme laut, salah satunya adalah spons. Spons dikenal sebagai penghasil senyawa bioaktif. Bakteri yang bersimbiosis dengan spons diduga memiliki peranan besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang telah diisolasi dari spons (Lee, dkk. 2001). Hal ini merupakan potensi yang memungkinkan bakteri simbiosis spons dapat memiliki kemampuan yang sama dengan spons dalam memproduksi senyawa bioaktif. Beberapa potensi senyawa bioaktif yang telah ditemukan dan dikembangkan dari spons antara lain sebagai antibakteri, antitumor dan antivirus (Taylor, dkk. 2007).

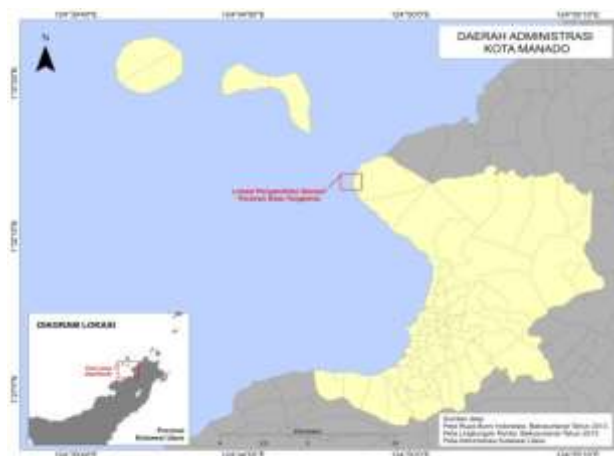
Senyawa bioaktif yang diekstrak secara besar-besaran dari spons akan merusak keberadaan spons itu sendiri dan bertentangan dengan kepentingan konservasi (Pastra, dkk. 2012). Oleh sebab itu eksplorasi bakteri simbiosis spons perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, menentukan karakteristik morfologi dan sifat Gram dari isolat bakteri simbiosis spons yang berasal dari perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. Manfaat dari penelitian ini adalah diperolehnya isolat bakteri yang dapat digunakan dalam

penelitian lanjutan seperti isolasi bakteri penghasil senyawa senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam bidang kesehatan.

## METODE PENELITIAN

Sampel spons diambil dari perairan Tongkeina, Sulawesi Utara pada saat air laut mencapai surut terendah. Lokasi pengambilan sampel spons ditunjukkan pada Gambar 1. Sampel spons yang diambil dimasukkan dalam plastik sampel kemudian disimpan dalam coolbox. Sampel dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasitika Laut FPIK UNSRAT untuk penelitian selanjutnya.



**Gambar 1.** Lokasi Pengambilan Sampel

Sampel spons diidentifikasi dengan cara mengamati morfologinya. Hasil pengamatan kemudian dibandingkan dengan berpedoman pada Van Soest (1989), Colin dan Arneson (1995).

Selanjutnya, setiap sampel spons dicuci dengan menggunakan air laut steril. Air laut steril disiapkan dengan cara memasukan air laut yang diambil saat pengambilan sampel ke dalam botol kaca kemudian ditutup rapat dan disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit. Setelah itu spons dihomogenisasi dengan cara digerus menggunakan mortar dalam ependorf yang telah berisi 1 ml air laut steril.

Lebih lanjut dilakukan pengenceran dengan cara: 1 ml air laut hasil homogenisasi (jus spons) dimasukkan ke dalam 9 ml air laut steril pada tabung reaksi kemudian dilanjutkan ke tabung kedua hingga tabung keempat sehingga konsentrasi menjadi  $10^{-4}$ . Larutan dengan konsentrasi  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  kemudian diinokulasi ke dalam media nutrient broth. Setiap tahap dilaksanakan secara aseptik. Sampel yang telah diencerkan diinkubasi pada suhu 37°C selama  $\pm$  24 – 48 jam. Pertumbuhan bakteri yang telah diencerkan pada media nutrient broth ditandai dengan adanya kekeruhan dalam media. Bakteri yang tumbuh kemudian di tumbuhkan kembali pada media nutrient agar dengan menggunakan metode goresan sinambung. Setelah itu

dilakukan isolasi bakteri dengan cara menumbuhkan bakteri pada media Nutrient Agar dengan metode goresan kuadran (Hadioetomo, 1993). Isolasi bakteri dilakukan berkali-kali hingga mendapatkan isolat tunggal dari bakteri (Willey, dkk. 2008).

Isolat bakteri tunggal dipisahkan berdasarkan karakteristik morfologinya mulai dari ukuran, bentuk, warna, dan elevasi. Isolat bakteri yang telah dipisahkan kemudian ditumbuhkan pada media Nutrient Agar miring untuk dijadikan stok. Semua proses penelitian dilakukan secara aseptik dengan menggunakan api bunsen dan dilakukan dalam bilik laminar untuk mencegah kontaminasi dari mikroorganisme lain (Madigan, dkk. 2012).

Isolat bakteri kemudian ditentukan sifat gramnya dengan pewarnaan Gram (Hadioetomo, 1993). Dalam melakukan pewarnaan gram pertama-tama perlu disediakan olesan bakteri dengan cara mencampurkan biakan bakteri dengan satu tetes akuades di atas kaca preparat kemudian dibiarkan mengering di udara lalu difiksasi di atas lampu bunsen. Setelah itu preparat tersebut digenangi dengan larutan Kristal violet selama 1 menit kemudian bilas dengan akuades dan keringkan dengan kertas tissue. Selanjutnya genangi preparat dengan iodium selama 2 menit kemudian bilas dengan akuades dan bilas kembali menggunakan alkohol 95% hingga larutan ungu Kristal tidak terlihat lagi dan dibilas kembali dengan aquades. Selanjutnya genangi preparat dengan safranin selama 30 detik lalu dibilas dengan akuades dan di keringkan dengan kertas tissue. Setelah itu amati bentuk, ukuran, dan warna sel menggunakan mikroskop

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi Spons

Berasarkan hasil identifikasi dengan cara membandingkan morfologi dari spons dengan buku identifikasi diperoleh dua jenis spons. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa spons pertama memiliki kemiripan dengan spesies *Facaplisynopsis* sp. dan spesies spons yang kedua memiliki kemiripan dengan spesies *Agelas* sp. (Gambar 2).



**Gambar 2.** (1) Spons *Facaplisynopsis* sp. dan (2) Spons *Agelas* sp.

### Bakteri simbiosis dengan Spons

Bakteri yang bersimbiosis dengan spons dari perairan Tongkaina berhasil ditumbuhkan pada media NB yang ditandai dengan kekeruhan media setelah media yang diinokulasi dengan sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh juga berhasil ditumbuhkan kembali pada media NA dengan cara goresan sinambung/kuadran (Gambar 5).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi, didapatkan 4 isolat bakteri simbiosis spons yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp. dan 6 isolat bakteri simbiosis spons yang menyerupai *Agelas* sp.



**Gambar 3.** Bakteri Simbiosis Spons yang Tumbuh dalam Media Nutrient Agar

Hal ini menunjukkan bahwa jumlah isolat bakteri dari spons yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp. lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah isolat bakteri dari spons yang menyerupai *Agelas* sp. Hasil ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis spesies spons (Rizka, 2013). Jumlah isolat bakteri dari kedua spons yang sedikit dapat diakibatkan karena kurangnya salinitas pada media yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri simbiosis spons yang merupakan bakteri halofilik (Sidharta, 2000).

### Karakteristik Morfologi Bakteri Simbiosis Spons

Morfologi isolat bakteri simbiosis spons yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp. dan *Agelas* sp. dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

**Tabel 1.** Karakteristik Isolat Bakteri dari Spons yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp.

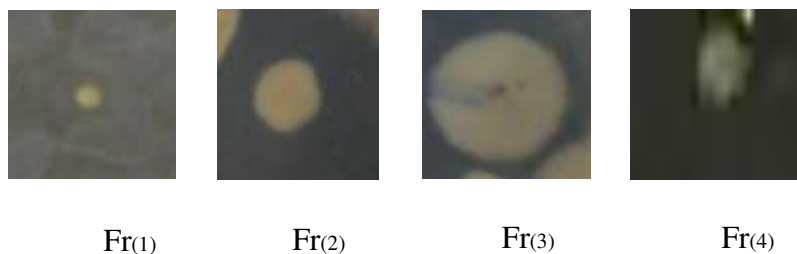
Kode Isolat	Karakteristik Koloni			
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
Fr(1)	Circular	Kuning	Convex	Entire
Fr(2)	Circular	Putih	Entire	Raised
Fr(3)	Filamentous	Putih	Filiform	Flat
Fr(4)	circular	Putih	Curied	Crateriform

**Tabel 2.** Karakteristik Isolat Bakteri dari Spons yang menyerupai *Agelas* sp.

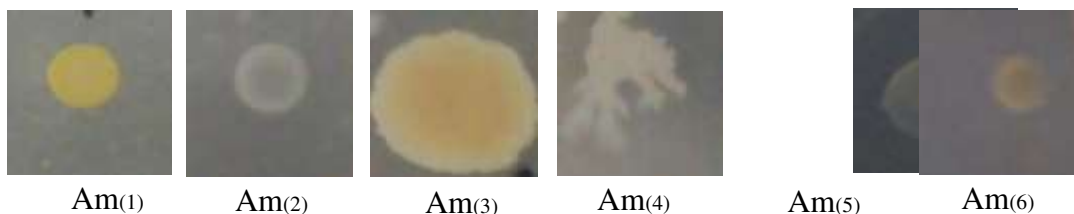
Kode Isolat	Karakteristik Koloni			
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
Am(1)	Circular	Kuning	Entire	Craseriform
Am(2)	Circular	Putih	Entire	Flat
Am(3)	Circular	Coklat	Undulate	Raised
Am(4)	Rhizoid	Coklat	Filiform	Flat
Am(5)	Circular	Putih	Entire	Flat
Am(6)	Circular	Orange	Entire	Umbonate

Berdasarkan tabel 1, isolat bakteri Fr<sub>(1)</sub>, Fr<sub>(2)</sub>, Fr<sub>(3)</sub> dan Fr<sub>(4)</sub> memiliki koloni yang dominan berbentuk circular dengan warna dominan adalah putih. Pada tabel 2, isolat Am<sub>(1)</sub>, Am<sub>(2)</sub>, Am<sub>(3)</sub>, Am<sub>(4)</sub>, Am<sub>(5)</sub>, dan Am<sub>(6)</sub> memiliki bentuk dominan koloni yang sama seperti pada tabel 1 yaitu circular atau memiliki tepian yang teratur/rata namun memiliki warna dominan putih dan coklat. Hal ini

disebabkan karena kepadatan dan kerapatan sel bakteri serta ketersediaan nutrisi dalam media (Willey, dkk. 2008). Elevasi koloni dari isolat bakteri yang simbiosis spons yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp. dan *Agelas* sp. disajikan pada gambar 1 dan 2.



**Gambar 4.** Morfologi Isolat Bakteri pada Spons yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp.



**Gambar 5.** Morfologi Isolat Bakteri pada Spons yang menyerupai *Agelas* sp.

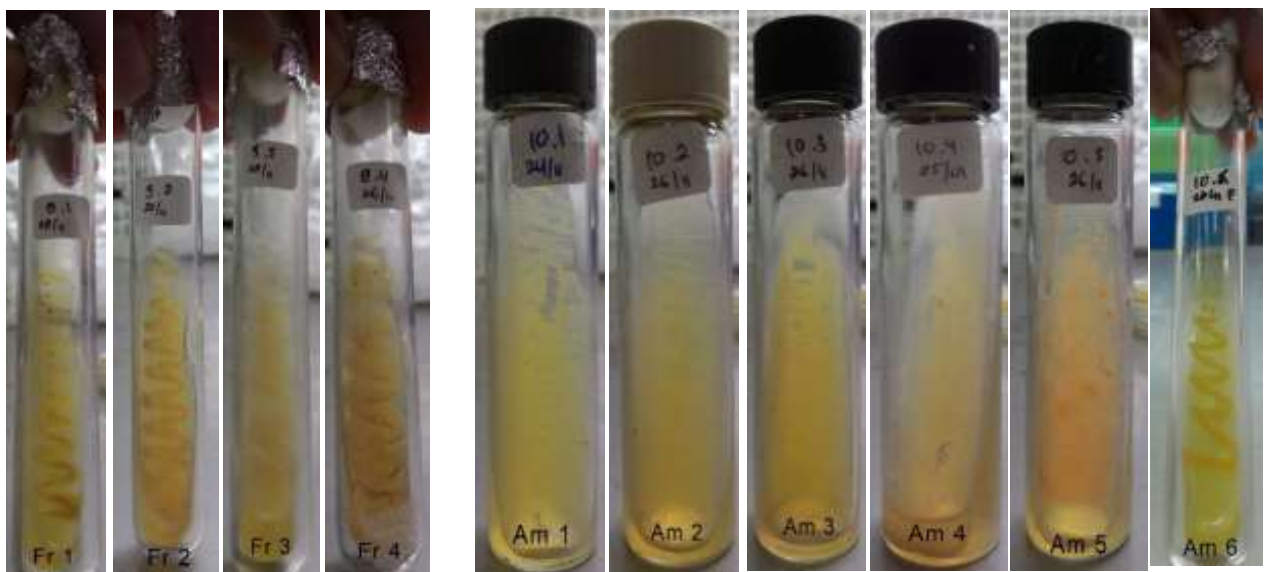
Hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat bakteri simbiosis spons pada Slant Agar ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4 serta gambar 6. Tipe pertumbuhan diamati dengan mengacu pada Cappucino dan Sherman (1998).

**Tabel 3.** Karakteristik Isolat Bakteri Symbion Spon yang menyerupai *Fascaplysinopsis* sp. pada Agar Miring

Kode Isolat	Karakteristik Koloni	
	Warna	Tipe Penampakan Koloni
Fr(1)	Kuning	Filiform
Fr(2)	Putih	Filiform
Fr(3)	Putih	Filiform
Fr(4)	Putih	Echinulate

**Tabel 4.** Karakteristik Isolat Bakteri Symbion Spons yang menyerupai *Agelas* sp. pada Agar Miring

Kode Isolat	Karakteristik Koloni	
	Warna	Tipe Penampakan Koloni
Am(1)	Kuning	Beaded
Am(2)	Putih	Filiform
Am(3)	Putih	Filiform
Am(4)	Putih	Effuse
Am(5)	Oranye	Effuse
Am(6)	Oranye	Beaded



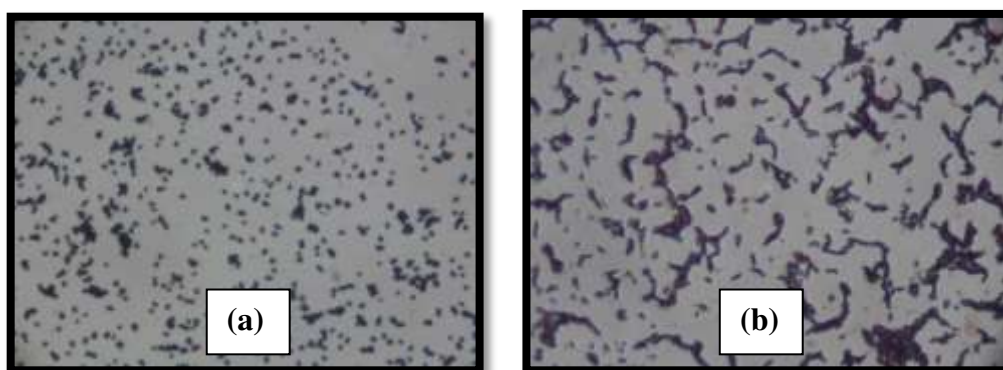
**Gambar 6.** Pertumbuhan Koloni Bakteri pada Agar Miring

Berdasarkan tabel 3, isolat Fr<sub>(1)</sub>, Fr<sub>(2)</sub>, Fr<sub>(3)</sub> dan Fr<sub>(4)</sub> memiliki tipe penampakan koloni yang didominasi tipe filiform dengan warna putih sedangkan pada tabel 4 isolat Am<sub>(1)</sub>, Am<sub>(2)</sub>,

Am<sub>(3)</sub>, Am<sub>(4)</sub>, Am<sub>(5)</sub>, dan Am<sub>(6)</sub> adalah bakteri dengan warna dan tipe pertumbuhan koloni pada agar miring yang bervariasi. Tipe penampakan koloni isolat Fr<sub>(1)</sub>, Fr<sub>(2)</sub>, Fr<sub>(3)</sub> dan Fr<sub>(4)</sub> dan isolat Am<sub>(1)</sub>, Am<sub>(2)</sub>, Am<sub>(3)</sub>, Am<sub>(4)</sub>, Am<sub>(5)</sub>, dan Am<sub>(6)</sub> bervariasi yang terdiri dari echinulate (Pertumbuhan sepanjang bekas inokulasi bergerigi), beaded (seperti rantai mutiara (butir-butir) sepanjang bekas inokulasi), effuse (Pertumbuhan tipis, biasanya merata), dan filiform (Pertumbuhan sepanjang bekas inokulasi). Hal ini diakibatkan karena penyebaran bakteri yang merata sepanjang garis inokulasi dan juga karena kandungan nutrisi yang memacu bakteri untuk tumbuh menyebar secara merata sepanjang garis inokulasi (Holt, dkk. 1994).

### Penentuan Gram Bakteri

Berdasarkan penentuan Gram dari isolat bakteri Fr<sub>(1)</sub>, Fr<sub>(2)</sub>, Fr<sub>(3)</sub>, Fr<sub>(4)</sub> dan isolat bakteri Am<sub>(1)</sub>, Am<sub>(2)</sub>, Am<sub>(3)</sub>, Am<sub>(4)</sub>, Am<sub>(5)</sub>, Am<sub>(6)</sub> menunjukkan bahwa dari semua isolat bakteri spon tersebut, isolat bakteri Fr<sub>(1)</sub> dan Am<sub>(2)</sub> tergolong dalam bakteri Gram positif, dan berbentuk coccus. Hal ini diakibatkan karena kemampuan bakteri untuk mengikat pewarna utama (kristal violet) sangat kuat sehingga lebih dominan dibandingkan dengan pewarna lawan (Safranin). Sedangkan untuk isolat Fr<sub>(2)</sub>, Fr<sub>(3)</sub>, Fr<sub>(4)</sub> dan isolat Am<sub>(1)</sub>, Am<sub>(3)</sub>, Am<sub>(4)</sub>, Am<sub>(5)</sub>, Am<sub>(6)</sub> tergolong dalam bakteri Gram negatif yang berbentuk basil (batang pendek). Pada penentuan Gram ini, Gram negatif merupakan Gram yang dominan karena kemampuan bakteri dalam mengikat safranin sangat kuat (Cappucino dan Sherman, 1998). Pada umumnya bakteri laut yang ditemukan berbentuk batang karena memiliki flagel (75-85%) untuk bergerak diperairan. Bakteri coccus terikat dengan sesamanya untuk membentuk permukaan yang kuat (solid) karena adanya bahan berlendir sehingga sel-sel saling terkait. Cara ini yang membuat bakteri dapat membentuk lapisan permukaan yang mengakibatkan bakteri dapat hidup bersimbiosis (Hutching dan Saenger *dalam* Lisdayanti, 2013). Penampakan warna dan bentuk sel yang ditimbulkan dalam pewarnaan Gram dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7.** Bentuk Sel dan Warna Hasil Pewarnaan Gram (a). Gram Positif (b). Gram Negatif.

## **PENUTUP**

### **Kesimpulan**

Bakteri simbiosis spons dari perairan Tongkeina yang berhasil diisolasi berjumlah sepuluh isolat. Empat isolat berasal dari jenis spons *Facaplysinopsis* sp. dan enam isolat berasal dari spons jenis *Agelas* Sp. Kesepuluh isolat bakteri tersebut memiliki karakteristik yang umumnya berwarna putih dan kuning dengan bentuk circular. Dua dari sepuluh isolat bakteri tergolong dalam Gram positif berbentuk coccus dan sisanya tergolong dalam Gram negatif berbentuk basil (batang pendek).

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Cappucino, J. G., and Sherman N. 1998. *Microbiology, A Laboratory Manual*. Benjamin/Cummings Science Publishing, California.
- Colin, P. L and Arneson C. 1995. *Tropical Pasific Invetbrates*. Mybar Printing Inc.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia. Jakarta.
- Holt, J. G. N. R., Krieg. Ph, A., Sneath. J. T., Staley, and Williams. S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore. 475 hal.
- Lee, Y.K., Jung H.L., and Hong K.L., 2001. *Microbial Symbiosis in Marine Sponges*, *The Journal of Microbiology*, 39(4), hal 254-264.
- Madigan, Marthinko., Stahl., and Clark. 2012. *Biology of Microorganisms*. Pearson Education, Inc. San Francisco. Hal 1-44.
- Pastra, D. A., Melki dan Surbaktii A. 2012. *Penapisan Bakteri yang Bersimbiosis dengan Spons Jenis *Aplysina* sp sebagai Penghasil Antibakteri dari Perairan Pulau Tegal Lampung*, *Jurnal Maspari*, 4(1), hal 77-82.
- Rizka, A. 2013. *Skrining Bakteri Simbiosis Spons Asal Perairan Pulau Polewali dan Pulau Saeappolompo sebagai Penghasil Antibakteri terhadap Bakteri Patogen pada Manusia dan ikan*. SKRIPSI. Jurusan Ilmu Kelautan UNDIP. Makassar.
- Sidhatra, B. R. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Kelautan*. Universitas Jaya. Yogyakarta.
- Taylor, M. W., Radax. R., Steger D., and Wagner M., 2007. *Sponge-Associated microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential*, *Microbiology and Molecular Biology Rewiews*. Vol. 71, No. 2, 295-347 p.



- Van Soest, R. W. M. 1989. The Indonesian Sponge Fauna: A status Report. *Netherland Journal of Sea Research*. Hal. 223-230. Netherland.
- Willey, J. M., Sherwood L.M., and Woolverton C, J. 2008. Prescott, Harley, and Klein's *Microbiology seventh Edition*. The McGraw-Hill Companies, Inc. New York. Hal 101-149.