

## ISOLASI DAN KARAKTERISASI MORFOLOGI KOLONI BAKTERI ASOSIASI ALGA MERAH (RHODOPHYTA) DARI PERAIRAN KUTUH BALI

Aninditia Sabdaningsih, Anto Budiharjo, Endang Kusdiyantini

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang,  
Semarang 50275 Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690  
email: [aninditia@gmail.com](mailto:aninditia@gmail.com)

### Abstract

Kutuh Beach in Bali is an area established as the Minapolitan algae with a high diversity. Microorganisms associated with marine organisms, usually have secondary metabolites that can be used as a source of drugs, antibiotics, enzymes, and cosmetics. The aimed of this research was to isolate and characterize colony morphology of bacteria associated with red algae based on colony morphology. Seven bacteria were isolated from three samples of red algae that were *Kappapycus alvarezii*, *Gelidiella acerosa* and *Eucheuma spinosum*. The isolates had pigmentation of beige, white and orange. Based on Gram's staining, seven isolates were Gram positive with bacilli and cocci in shape.

Keywords : associated bacteria, morphological colony, pigmentation, red algae

### Abstrak

Perairan Kutuh Bali merupakan daerah yang ditetapkan sebagai kawasan minapolitan alga dengan diversitas yang cukup tinggi. Mikroorganisme yang berasosiasi dengan organisme laut, biasanya memiliki metabolit sekunder yang dapat menjadi sumber obat-obatan, antibiotik, enzim, maupun kosmetik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan isolasi dan karakterisasi morfologi koloni dari bakteri yang berasosiasi dengan alga merah. Ketujuh isolat yang berhasil diisolasi dari tiga sampel alga merah yaitu *Kappapycus alvarezii*, *Gelidiella acerosa* dan *Eucheuma spinosum* memiliki pigmentasi krem, putih dan oranye. Berdasarkan pengecatan gram, ketujuh isolat merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk basil dan kokus.

Kata kunci : alga merah, bakteri asosiasi, morfologi koloni, pigmentasi

### Pendahuluan

Laut merupakan salah satu sumber kekayaan biologi dan kimia. Bakteri laut memiliki ukuran yang sangat kecil, akan tetapi satu sel bakteri laut mengandung senyawa kimia yang berpotensi untuk obat-obatan, suplemen nutrisi, kosmetik, agrokimia, probe kimia dari enzim. Umumnya senyawa kimia potensial ini berasal dari metabolit sekunder mikroba (Nofianti, 2008).

Menurut Burgess et al. (1999), hasil eksplorasi metabolit sekunder selama ini menunjukkan, bahwa bakteri laut merupakan salah satu sumber potensial metabolit sekunder. Berdasarkan cara hidupnya, bakteri penghasil metabolit sekunder dapat berasal dari bakteri yang hidup bebas, bakteri laut yang terdapat pada sedimen, bakteri yang berasosiasi dengan permukaan alga, atau bakteri yang berasosiasi dengan invertebrata.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, umumnya bakteri yang hidup dengan cara berasosiasi dengan makhluk hidup laut menunjukkan potensi besar dalam sekresi metabolit sekunder dengan sifat antibakteri (Burgess et al. 1999; Armstrong et al. 2001; Yan et al. 2003).

Jenis alga merah yang telah banyak dipelajari adalah Gigartinales, Ceramiales, Cryptonemiales, dan Bonnemaisoniales. Keempat jenis alga ini banyak digunakan sebagai obat tradisional di Cina. Analisis kimia menunjukkan bahwa alga tersebut mengandung senyawa terpenoid, asetogenik maupun senyawa aromatik. Umumnya senyawa yang ditemukan pada alga merah bersifat antimikroba, antiinflamasi, antivirus dan bersifat sitotoksik dan juga dapat sebagai inhibitor canine  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase, inhibitor 5-lypoxigenase pada limfosit manusia dan degranulasi neutrofil manusia (Solem et al. 1989).

Bakteri asosiasi alga merah yang mampu hidup di laut tergolong bakteri yang halotoleran atau toleran terhadap salinitas. Kelebihan ini membuat bakteri asosiasi alga merah memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam skala industri seperti pemanfaatannya dalam proses fermentasi makanan, penghasil polimer, pendegradasi senyawa toksik, penghasil senyawa osmoprotektan, dan penghasil enzim hidrolitik (Ventosa et al., 1998).

Penentuan karakter secara morfologi masih digunakan dalam taksonomi seperti pada Buchanan & Gibbons (1974). Cappuccino & Sherman (1987) menyebutkan bahwa beberapa parameter morfologi yang dapat digunakan adalah morfologi koloni yang tumbuh dalam medium pertumbuhan dan morfologi sel yang dapat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran tertentu. Parameter morfologi koloni sel dalam medium pertumbuhan yang

diamati berupa warna, bentuk, ukuran dan letak koloni dalam medium. Salah satu cara yang masih diperlukan dalam taksonomi bakteri menurut Campbell et al. (2000) diantaranya adalah pewarnaan Gram, cara ini digunakan untuk memisahkan anggota-anggota domain Bakteria ke dalam dua kelompok berdasarkan dinding selnya. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana, dengan jumlah peptidoglikan yang relatif banyak. Dinding sel bakteri gram-negatif memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan secara struktural lebih kompleks.

## Bahan dan Metode

### Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah pisau/cutter, kantong plastik, erlenmeyer, cawan petri, gelas ukur, bunsen, autoclave, jarum ose, spatula, tabung reaksi, mikropipet, mikrotip, rak tabung reaksi, shaker, vortex, hotplate, gelas beker, batang pengaduk, gelas benda, rak pengecatan, mikroskop, minyak emersi, timer, scalpel, pinset, mortar dan pastel.

### Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel alga merah, media Yeast Extract-Malt Extract Agar (YMA), air laut steril, aquades, alkohol 70%, larutan cat Hucker's Kristal violet, larutan mordan Lugol's iodine, larutan alkohol aseton, larutan cat safranin, dan nystatin.

### Metode

#### a. Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Penanaman bakteri yang berasosiasi dengan alga merah dilakukan dengan metode sebaran menurut Brock & Madigan (2012). Sampel alga merah dibersihkan dengan air laut steril dan dihancurkan

dengan cara dipotong-potong kecil dan ditumbuk menggunakan mortar dan pastel, selanjutnya 1 gr sampel yang telah cukup halus tersebut dimasukkan ke dalam 9 ml air laut steril, dengan demikian diperoleh pengenceran sampel sebesar  $10^{-1}$ . Dari pengenceran  $10^{-1}$  tersebut diambil 0,5 ml sampel menggunakan mikrotip steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 ml air laut steril dan akan diperoleh pengenceran  $10^{-2}$ . Demikian selanjutnya sehingga diperoleh pengenceran sampel  $10^{-5}$ . Pengenceran seri  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  tersebut selanjutnya diambil 100  $\mu$ l sampel dan disebarakan ke dalam cawan petri steril berisi YMA yang selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pour plate. Koloni yang tumbuh diamati warna, ukuran, dan bentuknya. Koloni-koloni bakteri dipisahkan dengan ose bulat berdasarkan warna dan bentuk koloni pada media YMA dalam cawan petri Isolat yang telah murni disimpan pada YMA miring.

#### b. Karakterisasi Morfologi Sel

Seluruh isolat murni dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan membersihkan gelas benda menggunakan alkohol sehingga bebas lemak, kemudian dipanggang di atas nyala Bunsen. Preparat apusan bakteri dibuat dengan mengambil secara aseptik 1 ose suspensi biakan bakteri potensial lalu diratakan di atas permukaan gelas benda kira-kira seluas 1 cm<sup>2</sup>. Jika sudah dingin maka ditetesi dengan cat Gram A secara merata sebanyak 2 – 3 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan. Gelas benda ditetesi dengan larutan mordan Gram B, dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Selanjutnya dicuci dengan peluntur (Gram C) selama  $\pm$

30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Kemudian diberi larutan cat penutup (Gram D) dibiarkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Gelas benda diamati dengan mikroskop perbesaran kuat menggunakan minyak emersi. Bakteri gram positif berwarna ungu (violet) sedang bakteri gram negatif berwarna merah.

#### Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini diawali dengan melakukan isolasi bakteri yang berasosiasi dengan alga merah dari perairan Kutuh Bali. Ketiga sampel alga merah tersebut adalah *Kappaphycus alvarezii*, *Gelidiella acerosa*, dan *Eucheuma spinosum*. Isolasi bakteri yang berasosiasi alga merah ini dilakukan dengan cara maserasi (Kurnia, 2012) yaitu teknik yang dilakukan dengan cara menghancurkan sampel yang berbentuk padat dengan menumbuknya menggunakan mortar dan pastel, sehingga mikroba yang ada di permukaan atau di dalam sampel dapat terlepas, kemudian dilanjutkan dengan pengenceran bertingkat menggunakan air laut steril. Bakteri asosiasi alga merah dapat diperoleh dari bakteri yang menempel pada permukaan alga (epifit) maupun bakteri yang ada dalam jaringan alga (endofit), oleh sebab itu sterilisasi permukaan sampel hanya menggunakan air laut steril karena penggunaan desinfektan yang bervariasi menurut Fan et al. (2009) dapat membunuh bakteri epifit yang berkoloni di permukaan sampel.

Isolasi dari ketiga sampel alga merah didapatkan 7 isolat murni yaitu KA-1, KA-2, KA-3, GA-1, GA-2, GA-3 dan ES-1. Isolat dengan kode KA diperoleh dari sampel alga merah *K. alvarezii*. Carpenter & Niem (1998) menyebutkan bahwa alga jenis ini merupakan bahan baku karagenan,

sumber mineral seperti Ca, K, Mg, Na, Cu, Fe, dan Mn, serta mampu mengendalikan pencemaran logam berat Pb dan Cd. Isolat dengan kode GA diperoleh dari sampel alga merah *G. acerosa* yang merupakan jenis alga edible atau dapat dimakan, umum digunakan sebagai bahan dasar pembuatan agar-agar untuk media kultur mikroba maupun agarose, serta unsur penting dalam produk susu, selai dan eskrim (Carpenter & Niem, 1998). Isolat dengan kode ES diperoleh dari alga merah *E. spinosum* yang merupakan nama dagang dari *E. denticulatum*. Alga merah ini merupakan sumber utama phycocolloid caragenan, digunakan sebagai pupuk, makan ternak, sup, dan dapat dibuat permen.

Isolat yang diperoleh dari ketiga jenis alga tersebut relatif sedikit jika dibandingkan dengan bakteri asosiasi alga merah dan alga coklat dari perairan Jepang (Beleneva & Zhukova, 2006). Isolasi dari 4 jenis alga yang berbeda, yaitu *Chordaria flagelliphormis*, *Desmarestia viridis*, *Gracilaria verrucosa* dan *Camphyllaephora hyphaeoides*, memperoleh 61 strain bakteri pada medium agar lempeng, agar miring dan agar cair. Morfologi sel dapat ditentukan dengan melihat olesan biakan yang sudah diwarnai dibawah mikroskop dan untuk melihat bentuk sel dan sifat gram. Hasil dari

heterotrof. Menurut Burgess et al. (2003), bakteri yang berhasil diisolasi dari ekosistem laut diperkirakan hanya kurang dari 2% dari jumlah mikroba laut. Haglund et al. (2002) juga mengestimasi bahwa sekitar 95% bakteri laut tidak dapat dikulturkan pada media artifisial, karena kondisi lingkungan yang ada di laut berbeda dengan kondisi laboratorium.

Ketujuh isolat murni lalu diamati karakteristik morfologinya. Capuccino dan Sherman (1992) menyebutkan bahwa karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah lolos seleksi. Mikroorganisme yang ditumbuhkan pada media yang bervariasi akan menunjukkan penampakan makroskopis yang berbeda-beda pada pertumbuhannya. Perbedaan ini disebut dengan karakteristik kultur, yang digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroorganisme dalam kelompok taksonomik. Isolat bakteri ini diamati morfologi koloni dengan melihat bentuk koloni, warna, tepian dan elevasi .

pengamatan morfologi koloni ditunjukkan pada tabel 1 dan 2, sedangkan morfologi sel pada tabel 3 dan pengecatan gram ditunjukkan dengan Gambar 1.

Tabel 1. Morfologi koloni bakteri asosiasi alga merah pada agar lempeng dari tiga sampel yang berbeda

Isolat	Jenis Alga	AGAR LEMPENG				
		Tepi	Pigmentasi	Elevasi	Optikal	Bentuk
KA-1	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	rata	putih	datar	opaque	bulat
KA-2	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	bergerigi	krem	datar	opaque	tak beraturan
KA-3	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	rata	krem	datar	opaque	bulat
GA-1	<i>Gelidiella acerosa</i>	berombak	putih	datar	opaque	bulat
GA-2	<i>Gelidiella acerosa</i>	berombak	putih	datar	opaque	tak beraturan
GA-3	<i>Gelidiella acerosa</i>	rata	krem	datar	opaque	bulat
ES-1	<i>Eucheuma spinosum</i>	bergerigi	oranye	datar	opaque	tak beraturan

Keterangan: opaque adalah tidak tembus cahaya

Tabel 2. Morfologi koloni bakteri asosiasi alga merah pada agar miring dan media cair dari tiga sampel yang berbeda

Isolat	Jenis Alga	Agar Miring		Media Cair	
		Jumlah	Konsistensi	Distribusi	Bau
KA-1	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	sedang	butterlike	uniform	-
KA-2	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	sedang	butterlike	uniform	-
KA-3	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	sedikit	butterlike	sediment	-
GA-1	<i>Gelidiella acerosa</i>	banyak	kental	surface	-
GA-2	<i>Gelidiella acerosa</i>	banyak	kering	surface	-
GA-3	<i>Gelidiella acerosa</i>	banyak	butterlike	sediment	-
ES-1	<i>Eucheuma spinosum</i>	sedikit	butterlike	uniform	-

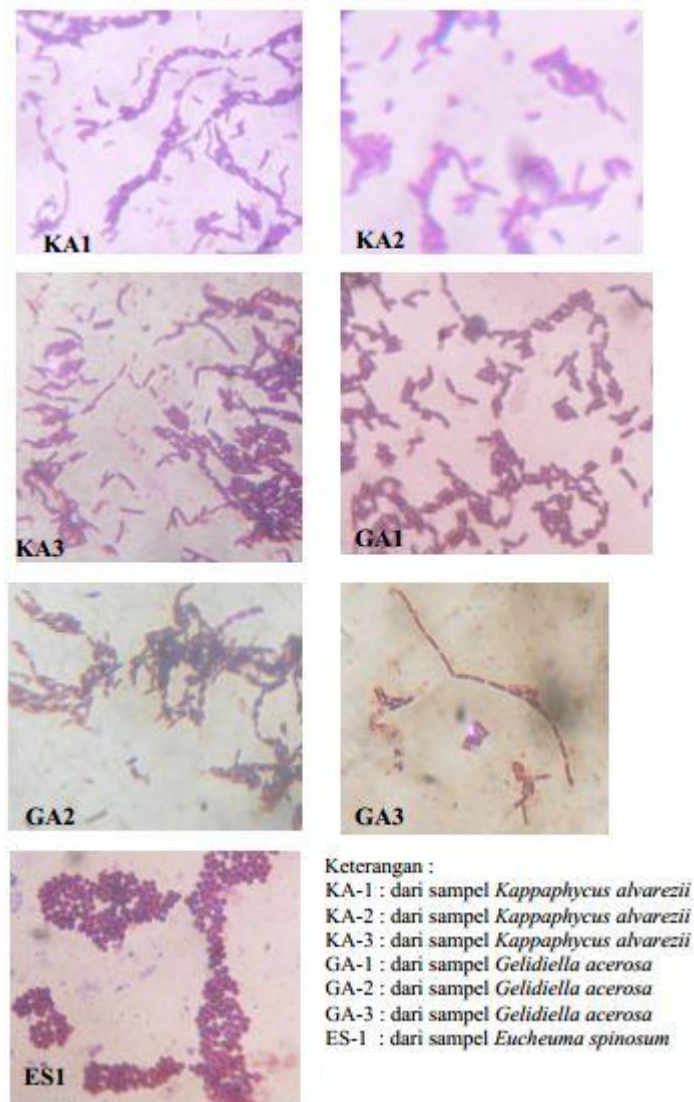
Keterangan: butterlike adalah mudah diambil dengan ose; uniform adalah pertumbuhannya pada seluruh permukaan media/terdistribusi secara merata; sediment adalah tumbuh pada dasar media; surface adalah tumbuh pada permukaan atas media

Tabel 3. Morfologi sel bakteri asosiasi alga merah pada agar miring dan media cair dari tiga sampel yang berbeda

Isolat	Jenis Alga	MORFOLOGI SEL	
		Bentuk	Gram
KA-1	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	basil	positif
KA-2	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	basil	positif
KA-3	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	basil	positif
GA-1	<i>Gelidiella acerosa</i>	basil	positif
GA-2	<i>Gelidiella acerosa</i>	basil	positif
GA-3	<i>Gelidiella acerosa</i>	basil	positif
ES-1	<i>Eucheuma spinosum</i>	kokus	positif

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni didapatkan bentuk bulat dan tak beraturan. Tepi koloni ada yang rata, bergerigi, dan berombak. Ketujuh isolat memiliki elevasi yang datar semua. Warna atau pigmentasinya bermacam-macam ada yang berwarna putih, krem, dan oranye. Morfologi koloni isolat bakteri yang ditemukan pada penelitian ini sesuai dengan pernyataan Cappucino and Sherman (1987) bahwa pada umumnya bentuk koloni bakteri berbentuk circular, irregular, filamentous, rhizoid. Elevasi berbentuk raised, convex, flat, umbonate, crateriform. Tepian yang berbentuk entire, undulate, filiform, curled dan lobate.

Hasil pengamatan morfologi sel yaitu dengan cara pewarnaan Gram diperoleh hasil bahwa ketujuh isolat merupakan bakteri Gram positif. Struktur dinding sel bakteri Gram-positif relatif lebih sederhana dibandingkan bakteri Gram-positif yang relatif kompleks. Menurut Barazandeh (2008) bakteri Gram-positif memiliki peptidoglikan sebesar 90% serta mempunyai komponen spesifik pada dinding selnya berupa asam teikoat dan asam lipoteikoat. Beberapa isolat memiliki kemampuan dalam membentuk endospora, hal ini sebagai bentuk adaptasi pada lingkungan laut yang cenderung ekstrim.



Gambar 1. Hasil pengecatan gram pada ketujuh isolat bakteri asosiasi alga merah

## Simpulan

Isolasi bakteri asosiasi alga merah dari tiga sampel alga merah yaitu *Kappaphycus alvarezii*, *Gelidiella acerosa*, dan *Eucheuma spinosum* mendapatkan 7 isolat murni. Berdasarkan karakterisasi morfologi koloni, isolat tersebut ada yang berwarna putih, krem, dan oranye, sedangkan untuk morfologi sel diketahui bahwa ketujuh isolat tersebut merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk basil dan kokus.

## Daftar Pustaka

- Armstrong, E., Yan, L., Boyd, K.G., Wright, P.C. and Burgess, J.G. 2001. The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia*. 461: 37-40.
- Barazandeh, N. 2008. *Microbiology Titles*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Media, pp 9-11.
- Beleneva, I. and Zhukova, N. 2006. Bacterial communities of some brown and red algae from Peter

- the Great Bay, the Sea of Japan. Microbiology. MAIK Nauka, 75 (3): 348-357. (Abstract).
- Brock, T.D. and Madigan, M.T. 2012. Biology of Microorganism. 13<sup>th</sup> ed. Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Buchanan, R.E. & Gibbons, N.E. (Eds). 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8<sup>th</sup> ed. Williams & Wilkins. Baltimore.
- Burgess, J.G., Boyd, K.G., Amstrong, E., Jiang, Z., Yan, L., Berggren, M., May, U., Pisacane, T., Granmo, A., and Adams, D.R. 2003. Development of a marine natural product-based antifouling paint. Biofouling. 19:197- 205.
- Campbell, N.A., Reece J.B. and Mitchell, L.G. 2002. Biology, 5<sup>th</sup> ed. Alih Bahasa: Wasmen Manalu. Erlangga. Jakarta.
- Cappucino, J.G. & Sherman, N. 1987. Microbiology: A Laboratory Manual. The Benjamin Cummings Publishing Company Inc. California USA.
- Carpenter, K.E. and Niem, V.H. 1998. The Living Marine Resources of The Western Central Pacific, Vol.1. Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome.
- Kurnia, A. 2012. Isolasi Bakteri. <http://www.scribd.com/doc/73251543/Materi-Praktikum>. 25 Agustus 2012.
- Nofianti, R. 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. Jurnal Natur Indonesia. 10 (2): 120-125.
- Solem, M.L., Jiang, Z.D. and Gerwick, W.H. 1989. Three New and Bioactive Icosanoids from the Temperate Red Marine Alga. Farlowia-Mollis Lipids. 24:256-260.
- Ventosa A, Nieto JJ, Oren A. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. Microbiol Mol Biol Rev 62:504-544.
- Yan, L., Boyd, Adams, D.R. and Burgess, J.G. 2003. Biofilm specific cross species induction of antimicrobial compounds in bacilli. Appl Environ Microbiol. 69: 3719-3727.