

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Asosiasi Tunicata Yang Dikoleksi dari Perairan Pulau Karimunjawa

Isolation And Purification of Tunicate-Associated Bacteria Collected from Karimunjawa Island

Siwi Setyaningrum¹, Diah Ayuningrum², Aninditia Sabdaningsih², Rosa Amalia³

¹Program Studi S1 Manajemen Sumber Daya Perairan

Departemen Sumber Daya Akuatik Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas

Diponegoro Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah-50275

²Departemen Sumber Daya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas

Diponegoro Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah-50275

³Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Jacub Rais, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah-50275

Corresponding authors: diahayuningrum21@lecturer.undip.ac.id

Diserahkan: 04 September 2024; Direvisi: 06 November 2025; Diterima: 08 November 2025.

ABSTRAK

Tunicata merupakan hewan filter feeder sehingga memungkinkan adanya bakteri yang masuk ke dalam tubuhnya dan menjadi bakteri asosiasi untuk bertahan hidup dari predator. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mempurifikasi bakteri asosiasi tunicata yang diperoleh dari Karimunjawa sehingga dapat mengetahui kelimpahannya. Penelitian ini merupakan dengan metode deskriptif eksploratif dengan teknik *purposive sampling* pada pengambilan sampel. Metode yang digunakan pada isolasi bakteri adalah *spread plate* sedangkan purifikasi bakteri adalah metode *streak plate*. Hasil penelitian menunjukkan kelimpahan tertinggi bakteri asosiasi tunicata diperoleh dari pada sampel KJ2-01 yang diisolasi dari *unidentified* tunicata, yaitu $78,1 \times 10^{(-2)}$ CFU/mL lalu diikuti oleh sampel KJ1-01 yang diisolasi dari *Eusynstyela hartmeyer*, yaitu $49 \times 10^{(-2)}$ CFU/mL.

Kata Kunci: bakteri, isolasi, kelimpahan, purifikasi, tunicata

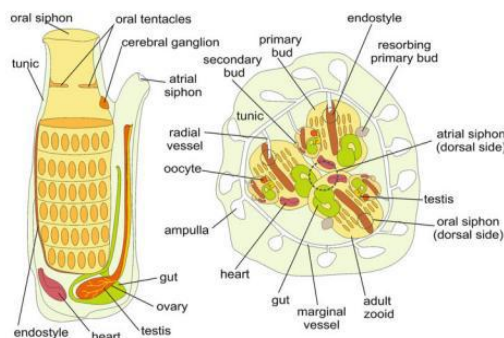
ABSTRACT

Tunicates are filter feeder animals, allowing bacteria to enter their bodies and become associated bacteria to survive from predators. This research aims to isolate and purify tunicate associated bacteria obtained from Karimunjawa so that we can determine their abundance. This research uses an exploratory descriptive method with a purposive sampling technique for sampling. The method used for bacterial isolation and purification is the streak plate method. The results showed that the highest abundance of tunicate-associated bacteria was obtained from tunicates.

Keywords: bacteria, isolation, abundance, purification, tunicata

PENDAHULUAN

Tunicata merupakan hewan *filter feeder* sehingga memungkinkan adanya bakteri yang masuk ke dalam tubuhnya dan menjadi bakteri asosiasi untuk bertahan hidup dari predator. Menurut Saputri *et al.* (2019), tunicata merupakan organisme yang bersifat *filter feeder*, yaitu mendapatkan makanan dengan cara menyaring. Struktur anatomi tunikata disajikan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Representasi skematis ascidia soliter (kiri) dan kolonial (kanan) (Sumber: Vanni et al. 2022)

Menurut Ayuningrum *et al.* (2019), mikrobioma tunicata dapat dianggap sebagai sumber daya hayati yang menjanjikan bagi strain bakteri yang menghasilkan senyawa dengan aktivitas antibakteri. Senyawa aktif yang dihasilkan oleh bakteri asosiasi tunicata berpotensi sebagai anti bakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai kelimpahan bakteri asosiasi tunicata agar bermanfaat bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kelimpahan bakteri asosiasi tunicata yang dihasilkan dari isolasi dan purifikasi pada bakteri asosiasi tunicata asal Karimunjawa.

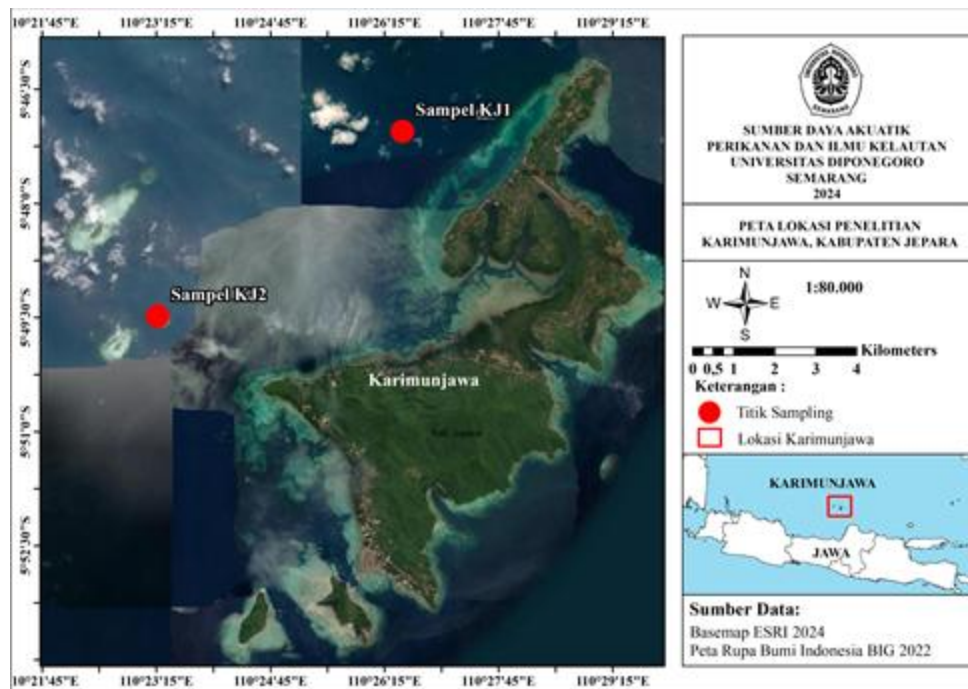
METODE PENELITIAN

Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan pada November 2023-Maret 2024. Penelitian merupakan penelitian deksriptif eksploratif dengan metode pengambilan sampel *purposive sampling*. Sampel tunicata diambil pada dua titik lokasi. Sampel KJ1 diambil pada titik koordinat 5°47'3.39"S 110°26'29.03"E di perairan pulau Karimunjawa sedangkan sampel KJ2 diambil pada koordinat titik 5°49'28.94"S 110°23'15.91"E di perairan pulau Kemujan seperti disajikan pada Gambar 2. Sampel tersebut kemudian dianalisis di Laboratorium *Tropical Marine Biotechnology* (TMB) dan Laboratorium Pengelolaan Sumber Daya Ikan dan Lingkungan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Metode identifikasi tunicate mengacu pada sesuai dengan buku identifikasi dari Ayuningrum *et al.* (2023) dan Ayuningrum *et al.* (2025)

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam pengambilan sampel adalah alat tulis, label, GPS, kertas tagging, cool box, ziplock, falcon, tray, dan kamera bawah air. Alat yang digunakan dalam laboratorium adalah mortar dan alu, bunsen, erlenmeyer, tabung reaksi, plastik wrap, petri dish, microtube, gelas ukur, hot plate, timbangan analitik, autoclave, Laminar Air Flow (LAF), mikropipet, blue tip, vortex, inkubator, Bahan yang digunakan antara lain etanol 96 %, alcohol 70%, chelex, media Zobell, , air laut, spiritus, dan aquades.



Gambar 2. Peta lokasi pengambilan sampel

Prosedur penelitian

Isolasi bakteri asosiasi tunicata

Satu gram spesimen tunicata dihaluskan menggunakan mortal dan alu steril serta diberikan 1 ml air laut steril, lalu dihomogenkan. Setelah itu, larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril (pengenceran 10^0). Kemudian, 1 ml sampel dimasukkan ke dalam 9 ml air laut steril lainnya (pengenceran 10^{-1}), lalu begitu seterusnya sampai dengan pengenceran 10^{-3} . 35 μ l-100 μ l hasil pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} diisolasikan dengan teknik *spread plate* secara aseptis dalam media *Zobell* padat (Ayuningrum *et al.*, 2019).

Perhitungan Total Plate Count (TPC)

Koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya dihitung kelimpahannya dengan perhitungan *Total Plate Count* (TPC). Perhitungan TPC merujuk pada *Standar Plate Count* (SPC) yaitu koloni bakteri dapat dihitung dalam kisaran 30-300 koloni per cawan petri. Rumus perhitungan TPC yang digunakan menurut Garre *et al.*, (2019):

$$N \text{ (CFU/mL)} = \text{Jumlah koloni yang dihitung} \times \frac{1}{V_{\text{plate}}}$$

Keterangan:

N (CFU/mL) = kepadatan koloni per sampel dalam satuan *Colony Forming Unit* (CFU) / mL

V_{plate} = faktor pengenceran x volume inokulasi (mL)

Purifikasi bakteri asosiasi tunicata

Sampel yang telah tumbuh kemudian dilakukan proses purifikasi. Purifikasi bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang murni. Proses ini dilakukan dengan mengamati morfologi isolat berupa bentuk, warna, elevasi, dan tepi margin pada koloni bakteri. Setiap koloni bakteri yang berbeda secara morfologi dipisahkan dan dikultur ulang sampai menghasilkan isolat bakteri yang benar-benar murni. Menurut Fadhila *et al.* (2023), purifikasi merupakan suatu proses pemisahan koloni bakteri untuk mendapatkan biakan murni menggunakan metode gores (*streak plate*), yaitu menginokulasikan bakteri pada media baru menggunakan jarum ose yang telah dipanaskan di atas bunsen dengan metode goresan kuadran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asosiasi Tunicata

Penelitian ini mengisolasi bakteri asosiasi tunicata dengan metode sebar (*spread plate*). Metode *spread plate* dipilih karena akan memudahkan dalam pengamatan terhadap morfologi koloni bakteri yang berhasil ditumbuhkan, bakteri tidak terpapar pada suhu media, dan mendapatkan nutrisi yang merata dari media tumbuhnya (Suratmi *et al.* 2020). Penelitian ini menemukan sebanyak enam sampel spesies tunicata, yaitu *Eusynstyela hartmeyer*, *Didemnum conchyliatum*, *Clavelina robusta*, *Diazona* sp., *Lissoclinum* sp., dan satu buah sampel tunicata yang masih *unidentified*

Kelimpahan bakteri asosiasi tunicata

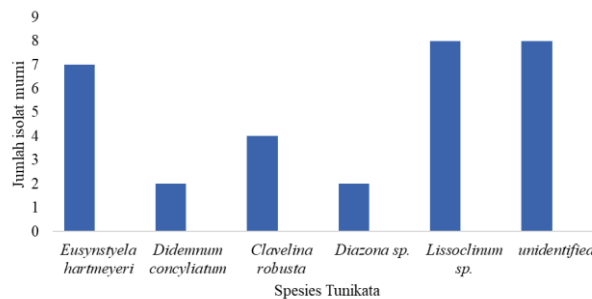
Hasil perhitungan *Total Plate Count* (TPC) pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa kelimpahan tertinggi terdapat pada sampel KJ2-01 yang diisolasi dari *unidentified* tunicata, yaitu $78,1 \times 10^{(-2)}$ CFU/mL lalu diikuti oleh sampel KJ1-01 yang diisolasi dari *Eusynstyela hartmeyer* $49,5 \times 10^{(-2)}$ CFU/mL.

Tabel 1. Hasil Perhitungan *Total Plate Count* (TPC)

Kode Sampel	Kode Isolat	Jumlah koloni	TPC (CFU/mL)
KJ1-01	KJ1-01 ⁽⁻²⁾	49	4900
	KJ1-01 ⁽⁻³⁾	5	5000
rata-rata			$49,5 \times 10^{(-2)}$
KJ1-02	KJ1-02 ⁽⁻²⁾	2	200
	KJ1-02 ⁽⁻³⁾	1	1000
rata-rata			$6 \times 10^{(-2)}$
KJ1-07	KJ1-07 ⁽⁻²⁾	27	2700
	KJ1-07 ⁽⁻³⁾	2	2000
rata-rata			$23,5 \times 10^{(-2)}$
KJ1-10	KJ6-10 ⁽⁻²⁾	58	5800
	KJ6-10 ⁽⁻³⁾	9	9000
rata-rata			$14,8 \times 10^{(-2)}$
KJ1-11	KJ1-11 ⁽⁻²⁾	4	400
	KJ1-11 ⁽⁻³⁾	4	4000
rata-rata			$2,2 \times 10^{(-2)}$
KJ2-01	KJ2-01 ⁽⁻²⁾	148	14200
	KJ2-01 ⁽⁻³⁾	142	142000
rata-rata			$78,1 \times 10^{(-2)}$

Purifikasi bakteri asosiasi tunicata

Berdasarkan hasil purifikasi pada **Gambar 3**, didapatkan sejumlah 31 koloni bakteri bakteri murni di mana terdapat tujuh isolat yang didapatkan dari sampel KJ1-01 (*Eusynstyela hartmeyer*), dua isolat dari sampel KJ1-02 (*Didemnum conchyliatum*), empat isolat dari sampel KJ1-07 (*Clavelina robusta*), dua isolat dari sampel KJ1-10 (*Diazona* sp.), delapan isolat dari sampel KJ1-11 (*Lissoclinum* sp.), dan delapan isolat dari sampel KJ2-01 (*unidentified*). Berdasarkan data tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa jumlah isolat murni terbanyak diperoleh dari sampel tunicata KJ1-11 (*Lissoclinum* sp.) dan KJ2-01 (*unidentified*), yaitu sebanyak delapan isolat. Menurut Ayuningrum *et al.* (2019), dari 37 spesimen tunicata yang didapatkan, 16,2% diisolasi dari *Clavelina* sp. dan 13,5 % dari *Lissoclinum* sp. Menurut Ayuningrum (2021), jenis *ascidian* yang ditemukan pada *shipwreck* di Karimunjawa antara lain *Atrilium* sp, *Botrylloides*, *Clavelina robusta*, *Didemnum molle*, *Didemnum* sp., *Leptoclinides*, *Lissoclinum*, *Policitorella*, dan *Rhopoides*.



Gambar 3. Jumlah Isolat Murni pada Setiap Spesies Tunicata

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan penelitian ini adalah penelitian ini mengisolasi enam sampel tunicata dan diperoleh 31 isolat bakteri murni di mana isolat bakteri terbanyak diperoleh dari sampel tunicata KJ1-11 (*Lissoclinum* sp.) dan KJ2-01 (*unidentified*), yaitu sebanyak delapan isolat. Hasil perhitungan *Total Plate Count* (TPC) menunjukkan bahwa kelimpahan tertinggi terdapat pada sampel KJ2-01 yang diisolasi dari *unidentified* tunicata, yaitu $78,1 \times 10^{(-2)}$ CFU/mL lalu diikuti oleh sampel KJ1-01 yang diisolasi dari *Eusynstyela hartmeyeri* sp. $49,5 \times 10^{(-2)}$ CFU/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dana hibah Riset Publikasi Internasional (RPI) Universitas Diponegoro Tahun Anggaran 2023 Nomor: 609-68/UN7.D2/PP/VIII/2023 yang telah mendanai penelitian ini, serta kepada tim penelitian dan seluruh pihak yang telah membantu, memberikan semangat, kritik, saran dan perbaikan dalam proses penyusunan artikel dan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayuningrum, D., Y. Liu, M. T. Riyanti, Sibero, R. Kristiana, M. A. Asagabaldan, Z. G. Wuisan, A. Trianto, O. K. Radjasa, A. Sabdono dan T. F. Schäberle. 2019. Tunicate Associated Bacteria Show a Great Potential for the Discovery of Antimicrobial Compounds. *PLoS ONE*. 14(3): 1-14.
- Ayuningrum, D., Suryanti, A. Sabdaningsih, W. Taufani, R. Kristiana, M. A. Asagabaldan, K. Lundin, T.F. Schaberle dan M. P. Jones. 2021. Bountiful Marine Invertebrates in Indonesia (Diversity and Management). UNDIP Press Semarang.
- Ayuningrum, D., L. M. Nydam, N. M. Prabowo dan R. H. Pradekso. 2025. Pedoman Identifikasi Tunicata (Sub-Filum Urochordata) Bagian 1: Dari Kelas Sampai Family. Universitas Diponegoro, Undip Press, 145 hlm.
- Ayuningrum, D. 2023. Keanekaragaman dan Bioprospeksi Ascidiacea di Habitat Shipwreck Karimunjawa. Universitas Diponegoro, Undip Press, 62 hlm.
- Garre, A., J. A. Egea, A. Esnoz, A. Palop dan P. S. Fernandez. 2019. *Tail Or Artefact? Illustration Of The Impact That Uncertainty Of The Serial Dilution And Cell Enumeration Methods Has On Microbial Inactivation*. *Food Research International*. 119: 76-83.
- Saputri, N. M. P. M., D. N. N. Putra dan W. Karim. 2019. Kelimpahan dan Keanekaragaman Tunicata (Ascidiacea) di Perairan Jemeluk dan Penuktukan, Bali. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*. 5(1): 11-21.
- Suratmi, S., A. E. Fadillah dan S. Haryanto. 2020. Isolasi, Identifikasi Morfologi, dan Patogenisitas Bakteri dari Feses Ikan Kerapu Hibrida Cantang. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*. 18(2): 157-161.
- Vanni, V., L. Ballarin, F. Gasparini, A. Peronato, L. Manni. 2022. Studying Regeneration in Ascidians: An Historical Overview. In: Blanchoud, S., Galliot, B. (eds) *Whole-Body Regeneration. Methods in Molecular Biology*, vol 2450. Humana, New York, NY.