

IDENTIFIKASI BAKTERI PADA RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii* YANG TERINFEKSI PENYAKIT ICE-ICE

IDENTIFICATION OF BACTERIA IN SEAWEED *Kappaphycus alvarezii* AFFECTED BY ICE-ICE DISEASE

Syamsuliah

Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan
Correspondence Author : syamsuliahfaisal@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit *ice-ice* pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* telah mengakibatkan menurunnya produksi rumput laut. Penyakit *ice-ice* ini disebabkan oleh perubahan lingkungan seperti meningkatnya suhu, salinitas, defisiensi nutrient serta arus yang lemah, sehingga menimbulkan stress pada rumput laut. Bakteri merupakan penyebab kedua (secondary impact) timbulnya penyakit ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri, mengidentifikasi dan menguji patogenitas dari rumput laut *Kappaphycus alvarezii* berpenyakit *ice-ice*. Bakteri diisolasi dari tallus rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berpenyakit *ice-ice*, kemudian dikultur pada media TSA + NaCl 1% dan diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 30°C (Cappuccino dan Sherman, 1987). Koloni yang tumbuh kemudian diamati bentuk, warna, tepi dan elevasinya. Identifikasi bakteri dimulai dengan pengamatan morfologi yaitu dengan pewarnaan gram, untuk melihat bentuk sel dan tipe penggandengan sel. Kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia seperti uji reaksi gram, uji KOH, uji oksidasi/fermentative, uji MIO, uji katalase, dan uji MR-VP (Capuccino dan Sherman, 1987). Hasil isolasi bakteri dari rumput laut berpenyakit *ice-ice* diperoleh lima jenis isolat bakteri yaitu Ib1 (isolat bakteri1), Ib2, Ib3, Ib4 dan Ib5, kemudian setelah uji patogenisitas diperoleh tiga isolat bakteri patogen yaitu Ib2, Ib3 dan Ib4. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ke-3 isolat bakteri masuk dalam genus *Microbacterium* (isolat Ib2), *Micrococcus* (isolat Ib3) dan *Vibrio* (isolat Ib4).

Kata kunci : bakteri, patogen, *ice-ice*.

ABSTRACT

*Ice-ice disease in *Kappaphycus alvarezii* seaweed has caused a decrease in seaweed production. Ice-ice disease is caused by environmental changes such as increasing temperature, salinity, nutrient deficiency and weak currents, causing stress on seaweed. Bacteria are the second cause (secondary impact) of this disease. This study aims to isolate bacteria, identify and test the pathogenicity of seaweed *Kappaphycus alvarezii* with ice-ice disease. The bacteria were isolated from the seaweed *Kappaphycus alvarezii* tallus with ice-ice disease, then cultured on TSA + 1% NaCl media and incubated for 24-48 hours at 30°C (Cappuccino and Sherman, 1987). The growing colonies were then observed for their shape, color, edge and elevation. Identification of bacteria begins with morphological observations, namely by gram staining, to see the shape of the cell and the type of cell coupling. Then proceed with biochemical tests such as gram reaction test, KOH test, oxidation/fermentative test, MIO test, catalase test, and MR-VP test (Capuccino and Sherman, 1987). The results of bacterial isolation from seaweed with ice-ice disease obtained five types of bacterial isolates namely Ib1 (bacterial isolate1), Ib2, Ib3, Ib4 and Ib5, then after pathogenicity test obtained three isolates of pathogenic bacteria namely Ib2, Ib3 and Ib4. The identification results showed that the 3 bacterial isolates belonged to the genus *Microbacterium* (isolate Ib2), *Micrococcus* (isolate Ib3) and *Vibrio* (isolate Ib4).*

Keywords: bacteria, pathogens, *ice-ice*.

PENDAHULUAN

Penyakit ice-ice adalah penyakit yang paling banyak ditemui pada budidaya rumput laut *Kappaphycus alvarezii*, yang dapat menurunkan produksi petani rumput laut. dan penurunan kandungan karaginan. Penelitian yang dilakukan oleh Amiluddin, NM (2007) yang mengkaji pertumbuhan dan kandungan karaginan rumput laut kappaphycus alvarezii yang terkena penyakit ice ice di perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu meunjukkan adanya penurunan kandungan karaginan.

Penyakit ini ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi putih pada tangkai dan ujung talus. Penyebarannya sangat cepat dan dapat menyebabkan kematian Penyebab utamanya adalah perubahan kondisi perairan yang terjadi secara tiba-tiba seperti perubahan salinitas, suhu dan intensitas cahaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Largo et.al dalam Erbabley N dan Kelabora DM (2018).

Perubahan kondisi lingkungan secara tiba-tiba dapat menimbulkan stress sehingga mudah terinfeksi penyakit, diantaranya adalah infeksi bakteri. Keberadaan bakteri merupakan penyebab sekunder dari penyakit ice-ice (*secondary impact*).). Wulandari AS., dkk.,2020 dalam peneltiannya mendapatkan Kelimpahan komunitas bakteri penyakit *Ice-ice* pada rumput laut *K. alvarezii* dipengaruhi oleh strafikasi kedalaman air laut pada yang berbeda

. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri dan mengidentifikasi serta menguji patogenitas bakteri yang diisolasi dari talus rumput laut *Kappaphycus alvarezii* berpenyakit ice-ice.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan untuk isolasi bakteri dan uji aktivitas antibakteri, sedangkan untuk uji patogenisitas dilakukan pada Laboratorium Basah Akuakultur Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan. Sedangkan lokasi pengambilan sampel rumput laut *K. alvarezii* yang terkena penyakit ice-ice yaitu diperairan pantai desa Mandalle

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah , *grinder mills* , cawan petri (Pyrex), jarum ose, *laminary air flow* (Envirco), *hot plate with magnetic stirer*, autoklaf ,mikropipet (Jencons), oven (Jumo), *rotary evaporator* (Buchi), *freeze drayer* (Bucchi), tabung Eppendorf, timbangan analitik (Sartorius), microwave

(Electrolux), vortex, lemari pendingin, mikroskop (Olympus), inkubator (imperial III).

Bahan-bahan yang digunakan adalah rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang terinfeksi penyakit *ice-ice*, kertas saring Whatman no.41 (Whatman), larutan fisiologis 0,85%, medium TSA (*Triptic soy Agar*), medium OF(Oksidatif Fermentatif), medium MIO (*Motile indol ornitin*) ,medium gelatin, KOH 3%, H₂O₂ 3%, kertas sitokrom, safranin, lugol, alkohol, kristal violet, spiritus, tetrasiklin, minyak immersi.

Prosedur Penelitian

1. Isolasi Bakteri Rumput Laut Berpenyakit *Ice-Ice*

Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berpenyakit *ice-ice* dicuci hingga bersih untuk menghilangkan kotoran-kotorannya dengan menggunakan akuades steril, kemudian bagian tallus yang terinfeksi bakteri dipotong untuk diambil sebanyak 1 g lalu digerus dengan menggunakan mortal. Setelah digerus dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis NaCl 0,9 % selanjutnya diaduk dengan menggunakan vortex selama 5 menit, larutan ini merupakan larutan stok . Untuk membuat pengenceran 10⁻¹ diambil 1 ml dari larutan stok lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis NaCl 0,9% kemudian diaduk dengan menggunakan vortex. Selanjutnya dibuat sampai pengenceran 10⁻⁶. Kemudian diambil sebanyak 0,1 ml untuk dikultur pada media TSA + NaCl 1% dengan menggunakan metode sebar, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 30°C (Cappuccino dan Sherman, 1987; Schaad dkk., 2001).

Koloni yang tumbuh kemudian diamati bentuk, warna, tepi dan elevasinya. Selanjutnya koloni yang terpilih diisolasi kembali untuk mendapatkan biakan murni. Biakan yang sudah murni siap untuk diidentifikasi.

2. Uji Patogenitas

- Penyiapan rumput laut

Wadah yang digunakan dalam uji patogenitas adalah toples volume 2 liter. Sebelum digunakan wadah dicuci terlebih dahulu dengan detergen kemudian dikeringkan lalu diisi dengan air laut steril. Rumput laut yang sehat dan masih segar dicuci dengan menggunakan air laut kemudian ditimbang sebanyak 35 g dan dimasukkan kedalam toples, kemudian dilakukan pengukuran kualitas air yaitu suhu 28°C, salinitas 35 ppt dan pH 7,5 .

- Penyiapan bakteri

Bakteri yang digunakan untuk uji patogenisitas diperoleh dari hasil isolasi rumput laut yang terserang penyakit *ice-ice*. Biakan bakteri diambil satu ose kemudian dikultur pada media *nutrient broth* lalu diinkubasi dan dishaker selama 24 jam. Isolat bakteri yang sudah dikultur 24 jam dihitung kepadatannya dengan menggunakan metode Mc. Farland (1987) Kepadatan bakteri dibuat dimulai dari kepadatan 10^{-1} sampai 10^{-6} .

- **Uji tantang**

Isolat bakteri yang sudah dikultur 24 jam dihitung kepadatannya dengan menggunakan metode Mc. Farland (1987). Selanjutnya bakteri dimasukkan ke dalam toples pemeliharaan rumput laut. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat proses transmisi bakteri terhadap rumput laut.

3. Identifikasi Bakteri

Dari hasil uji patogenisitas diperoleh tiga isolat yang terbukti bakteri patogen. Ketiga isolat bakteri tersebut selanjutnya diidentifikasi untuk mengetahui genusnya. Identifikasi dimulai dengan pengamatan morfologi yaitu dengan pewarnaan gram, untuk melihat bentuk sel dan tipe penggandengan sel. Kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia seperti uji reaksi gram, uji KOH, uji oksidasi/fermentative, uji MIO, uji katalase, dan uji MR-VP (Capuccino dan Sherman, 1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolat Bakteri Dari Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii*

Isolat bakteri dari rumput laut *K.alvarezii* berpenyakit *ice-ice* setelah diamati bentuk, warna, elevasi dan tepian koloni didapatkan lima jenis isolat yaitu isolat Ib1 (isolat bakteri 1), Ib2, Ib3, Ib4, dan Ib5. Pengamatan koloni kelima isolat bakteri memperlihatkan morfologi koloni yang berbeda, isolat Ib1 mempunyai tipe menyebar tidak beraturan, berwarna krem, elevasi datar, permukaan mengkilap dan tepian bergelombang. Isolat Ib2 berbentuk bulat, berwarna kuning, elevasi cembung, tepian lurus dan permukaan mengkilap. Isolat Ib3 berbentuk bulat, warna kuning muda, elevasi datar, tepian bergerigi dan permukaan mengkilap. Isolat Ib4 berwarna krem, tepian lurus, permukaan mengkilap. Sedangkan isolat Ib5 berbentuk bulat, warna putih susu, elevasi datar, dan permukaan mengkilap.

Tabel 1. Morfologi koloni isolat bakteri rumput laut *K. alvarezii* berpenyakit ice-ice.

Isolat	Pengamatan koloni				
	Medium	Warna	Bentuk koloni	Permukaan	Pertumbuhan
Ib1	TSA	krem	IEU	mengkilap	sedang
Ib2	TSA	kuning	CECo	mengkilap	sedang
Ib3	TSA	kuning muda	CECo	mengkilap	sedang
Ib4	TCBS	krem	IEFI	mengkilap	cepat
Ib5	TSA	putih susu	CLFI	mengkilap	sedang

Keterangan : - C=Circular, I=Irregur, E=Entire, L=Lobate, U=Undulate, F=Flat, Co=Convex

2. Hasil Uji Patogenisitas

Pengamatan terhadap transmisi ke lima isolat bakteri terhadap rumput laut *K. alvarezii* dengan konsentrasi kepadatan bakteri 10^{-6} sel/ml dilakukan secara dekriptif. Hari pertama (H1) dan hari kedua (H2) belum memperlihatkan gejala terjangkitnya penyakit, kecuali pada isolat Ib2, pada hari ketiga sudah mulai terlihat bercak putih pada ujung-ujung cabang talus rumput laut yaitu sebesar 2 mm hingga pada hari kelima (H5) sudah mencapai 10 mm.

Isolat Ib2 menunjukkan tingkat transmisi paling cepat, isolat Ib3 dan isolat Ib4 menunjukkan tingkat transmisi sedang, kemudian isolat Ib1 dan isolat Ib5 tidak memperlihatkan adanya tanda-tanda terinfeksi bakteri penyakit ice-ice.

3. Hasil Identifikasi

Berdasarkan hasil identifikasi yang mengacu pada buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Whitman W.B. dkk., 2012) diketahui ketiga isolat tersebut adalah sebagai berikut :

1. Isolat Ib2 merupakan *Microbacterium* sp

Bakteri ini berbentuk coccus, tergolong kedalam Gram-positif, bentuk koloni bulat, tepian lurus, elevasi cembung, permukaan mengkilap, berwarna kuning, bersifat aerob, non motil, katalase positif dan reaksi oksidase positif.

2. Isolat Ib3 merupakan *Micrococcus* sp.

Koloni bakteri ini berbentuk bulat, tepian lurus, elevasi cembung, permukaan mengkilap warna kuning muda, merupakan Gram-negatif, katalase positif, non motil, oksidase negatif, bersifat aerob dan reaksi oksidase negatif.

3. Isolat Ib4 merupakan *Vibrio* sp.

Koloni dari bakteri ini berbentuk menyebar tidak beraturan, tepian lurus, elevasi datar, berwarna krem, permukaan mengkilap, berbentuk koma, bersifat Gram-negatif, katalase positif, motil, oksidase positif.

Penelitian yang dilakukan oleh Wulandari S.A., dkk. (2020) yang megambil sampel rumput laut *K.alvarezii* yang berpenyakit ice-ice di desa Palasa Sumenep, Jawa Timur setelah diidentifikasi menemukan bakteri dari genus *Bacillus* dan *Vibrio*. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Saraswati, S.A. dan Darmasetyawan,MS. (2016) yang mengidentifikasi bakteri pada *Euchema spinosum* yang diambil dari perairan pantai Kutuh menemukan bakteri *Vibrio alginoliticus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil penelitian Erbabley NYGF. dan Kelabora DM. (2018) yang melakukan identifikasi bakteri pada rumput laut *Kappaphycus alvarezii* di perairan Maluku Tenggara menemukan bakteri yang menginfeksi rumput laut yaitu bakteri *Pseudomonas stutzeri*, dan *Aeromonas faecalis*, *Vibrio alginolitycus*, *Pseudomonas fluorescens*.

Tabel 2. Hasil uji Biokimia

Isolat	Uji									
	Pewarnaan Gram	Motil	Indol	Ornitin	H2S	MRVP	OF	Katalase	Oksidase	
IB2	+	Non Motil	-	+	-	-	oksidatif	+	+	
IB3	-	Motil	-	+	-	-	oksidatif	+	+	
IB4	-	Motil	-	+	-	+	Fermentatif	+	+	

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Isolat bakteri dari rumput laut *K.alvarezii* berpenyakit ice-ice setelah diamati bentuk, warna, elevasi dan tepian koloni didapatkan lima jenis isolat yaitu isolat Ib1 (isolat bakteri 1), Ib2, Ib3, Ib4, dan Ib5.
2. Dari lima jenis Isolat bakteri yang diisolasi dari *K.alvarezii* berpenyakit ice-ice terdapat tiga bakteri yang bersifat pathogen yaitu Ib2, Ib3, dan Ib4.
3. Hasil identifikasi bakteri diketahui isolat bakteri Ib2 adalah *Microbacterium sp.*, isolat Ib3 adalah *Micrococcus sp.* dan isolat Ib4 adalah *Vibrio sp.*

DAFTAR PUSTAKA

- AMILUDDIN N.M. 2007. Tesis. Kajian Pertumbuhan dan Kandungan Karaginan Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terkena Penyakit Ice Ice di Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu.Institut Pertanian Bogor.
- Cappuccino, J. G. dan N. Sherman. 2014. Microbiology a laboratory manual (10th Ed). San Fransisco: Pearson Education, Inc, Publishing as Benjamin Cummings.Dawes C. J. 1981. Marine Botany. Jhon Wiley & Sons, Inc.
- Erbabley N. dan Kelabora DM. 2018.Identifikasi Bakteri Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* Berdasarkan Musim Tanam di Perairan Maluku Tenggara. Jurnal Akuatika Indonesia Vol. 3 No. 1/ Maret 2018 (19-25).
- Saraswati, S.A. dan Darmasetyawan,MS. (2016). Identifikasi Bakteri pada Rumput Laut *Euchema spinosum* yang Terserang Penyakit Ice-Ice di Perairan Pantai Kutuh. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Udayana.
- Whitman W.B., dkk. 2012. Bergey's Manual of Sistematic Bakteriology Volume 5. Depatrment of Microbiolgy527.Bological Science Building, University of Georgia.
- Wulandari A.S., Isdiantoni, Prasetyo EN.. 2020. Analisis Fisika-Kimia Perairan dan Komunitas Bakteri terkait Kemunculan Penyakit Ice-ice pada Rumput laut (*Kappaphycus alvarezii*) Science Education and Application Journal (SEAJ)September, Tahun. 2020 Vol. 2, No:2.