

**Kajian perubahan sifat fisika kimia bakteri *Vibrio harveyi* di berbagai jenis media pada suhu penyimpanan -20°C**

***Study of changes in the physical and chemical properties of Vibrio harveyi bacteria in various types of media at a storage temperature of -20°C***

**Fauziah Nurdin<sup>1\*</sup>, Bustamin<sup>1</sup>, Ridwan<sup>1</sup> dan Seniati<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan

\*Corresponding author : uci\_nurdin@yahoo.com

Diterima Tanggal 15 Juni 2021, Disetujui Tanggal 29 Juli 2021

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode penyimpanan yang tepat, sifat dan karakteristik *V. harveyi* selama masa penyimpanan, dan waktu penyimpanan yang aman bagi *V. harveyi*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan dengan menggunakan *V. harveyii* yang bersumber dari BBRBAP Maros. Penelitian ini berlangsung selama 3 bulan, menggunakan 4 jenis media penyimpanan yaitu aquades steril, media TSB, media solid, dan gliserol pada suhu -20 °C. Pengamatan perubahan sifat fisika *V. harveyi* dilakukan pada minggu ke-2, minggu ke-4, minggu ke-6 dan minggu ke-8 masa penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada minggu ke-2 masa penyimpanan tidak terjadi perubahan bentuk koloni, koloni tampak tetap tunggal dan menyebar. Namun pada minggu ke-4 hingga minggu ke-8 masa penyimpanan terjadi perubahan bentuk penyebaran koloni. Koloni tampak bersatu, melebar dan menebal. Pengamatan selanjutnya adalah sifat dan karakteristik sel. Penyimpanan yang berbeda tidak memberi pengaruh pada bentuk dan serapan warna sel *V. harveyi* selama masa penyimpanan. Sel *V. harveyi* tetap berbentuk batang halus menyerupai koma dan menyerap warna pink muda sehingga tampak bentuk sel yang sangat halus. Pengamatan tipe penggandengan sel di semua media penyimpanan pada minggu ke-2, tidak terdapat perbedaan mencolok. Sel bakteri *V. harveyi* tetap menyebar tunggal merata di slide pewarnaan, akan tetapi pada minggu ke-4 tampak beberapa sel mulai berikatan dua (diploid) dan pada minggu ke-8 sel *V. harveyi* sebagian besar bergerombol pada media penyimpanan TSB, media solid dan gliserol, sedangkan pada media penyimpanan aquades steril tampak sebagian kecil yang bergerombol dan sebagian besar masih menyebar tunggal.

**Kata Kunci :** bakteri, media, metode, penyimpanan, *V.harveyi*

**Abstract**

This study determines the appropriate storage method, the nature and characteristics of *V. harveyi* during storage, and the safe storage time for *V. harveyi*. This research was conducted at the Fish Health Laboratory using *V. harveyii* sourced from BBRBAP Maros. This study lasted for 3 months, using 4 types of storage media, namely, sterile distilled water, TSB media, solid media, and glycerol at -20°C. Observations of changes in physical properties of *V. harveyi* were carried at the 2<sup>nd</sup> week, 4<sup>th</sup> week, 6<sup>th</sup> week and 8<sup>th</sup> week of storage. The results showed that in the 2<sup>nd</sup> week of storage there was no change in the shape of the colonies, the colonies looked stable. single and diffuse. However, in the 4th to 8th week of storage there was a change in the shape of the spread of the colony. Colonies appear united, widen and thickened. The next observation is the nature and characteristics of the cells. Different storage conditions did not affect the shape and color absorption of *V. harveyi* cells during storage. Cells of *V. harveyi* remain in the form of smooth rods resembling commas and absorb the light pink so that they appear very fine cell shapes. Observation of the type of cell coupling in all storage media at 2<sup>nd</sup> week, there was no significant difference. *V. harveyi* bacterial

cells remained uniformly distributed on the staining slide, but at 4<sup>th</sup> week, some cells began to bind in two (diploid) and at 8<sup>th</sup> week the *V. harveyi* cells were mostly clustered in TSB storage media, solid media and glycerol, whereas in sterile aquadest storage media, few they were seen in clusters and most of them were still scattered singly.

**Keywords:** bacteria, media, method, storage, *V.harveyi*

## PENDAHULUAN

Posisi Indonesia yang terletak di daerah tropis merupakan sumber biodiversitas yang sangat luas, termasuk mikroba jenis bakteri. Disamping beragam jenisnya, bakteri juga sangat mudah mengalami perubahan sifat dan karakteristik sehingga dapat memunculkan strain baru yang berbeda dengan aslinya. Hal ini menjadi salah satu penyebab yang mempercepat tumbuh dan berkembangnya biodiversitas tersebut. Oleh karena itu perlu melakukan koleksi, penyimpanan dan memelihara bakteri dengan tepat, baik untuk kebutuhan sehari-hari, untuk jangka menengah maupun untuk jangka panjang sehingga kemungkinan untuk munculnya strain baru lebih kecil (Hidayat, et al. 2006)

Penyimpanan bakteri dengan metode yang tepat dapat menjaga biakan tetap hidup, ciri-ciri genetiknya tetap stabil dan tidak berubah serta hemat biaya dan tenaga. Metode yang dipilih sangat tergantung pada sifat mikroba dan tujuan preservasi (Elliot, 1975). Sifat bakteri dapat diketahui melalui ciri-ciri morfologi, fisiologi dan biokimia serta kemampuan bakteri dapat bertahan hidup pada lingkungan alaminya maupun pada lingkungan buatan.

Tujuan koleksi dan preservasi bakteri mencakup jangka pendek dan jangka panjang. Preservasi jangka pendek dilakukan untuk keperluan rutin sehari-hari misalnya untuk kegiatan praktikum mahasiswa dan kegiatan penelitian. Preservasi jangka panjang dilakukan dalam kaitannya dengan koleksi dan konservasi jangka panjang plasma nutfah bakteri, sehingga apabila suatu saat diperlukan dapat diperoleh kembali sesuai dengan sifat dan karakteristik semula ([http://hg.wustl.edu/hdk\\_lab/manual/plasmid/plsmid02.html](http://hg.wustl.edu/hdk_lab/manual/plasmid/plsmid02.html)).

Penentuan metode yang tepat untuk penyimpanan dan pengawetan bakteri baik jangka pendek, menengah maupun jangka panjang memerlukan penelitian yang rumit,

jangka waktu yang lama, pemantauan serta dana yang besar. Hal ini sangat terkait dengan tujuan utama preservasi, yaitu (1) mereduksi atau mengurangi laju metabolisme dari bakteri hingga sekecil mungkin dan dapat mempertahankan viabilitas (daya hidupnya) dan (2) memelihara sebaik mungkin biakan bakteri, sehingga didapatkan angka kehidupan (survival) yang tinggi dengan perubahan sifat dan karakteristik yang minimum.

Saat ini berbagai metode preservasi bakteri secara umum telah tersedia dalam berbagai buku referensi, namun referensi untuk setiap spesies bakteri masih sangat terbatas. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian/kajian metode yang tepat untuk penyimpanan bakteri tertentu baik jangka pendek, menengah maupun jangka panjang, misalnya bakteri *V. harveyi*. Bakteri ini paling sering dijumpai dalam dunia perikanan, baik di perikanan air tawar, air payau maupun air asin. Bahkan bakteri ini merupakan salah satu bahan yang sering digunakan dalam dunia pendidikan baik sebagai bahan praktikum maupun bahan penelitian, sehingga intensitas kebutuhannya di laboratorium sangat tinggi. Oleh karena itu perlu dilakukan kajian metode penyimpanan *V. harveyi* yang tepat sehingga ketersediaannya di laboratorium selalu berkesinambungan serta ciri-ciri genetiknya selalu terjaga.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode penyimpanan yang tepat bagi bakteri *V. harveyi* pada jenis media yang berbeda, mengetahui sifat dan karakteristik bakteri *V. harveyi* selama masa penyimpanan, dan mengetahui lama waktu penyimpanan yang aman bagi bakteri *V. harveyi* dari perubahan sifat, ciri-ciri genetik serta viabilitasnya.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini berlangsung selama 3 bulan yang dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan

Jurusan Budidaya Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

### **Bahan dan Alat**

Bakteri uji adalah *V. harveyi* merupakan koleksi Balai Besar Riset Budidaya Air Payau Maros. Media untuk biakan bakteri adalah aquadest steril, TSB, media solid, dan gliserol. Media uji fisika dan kimia bakteri adalah media MIO, OF, oksidatif disk, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, KOH, safranin, kristal violet, lugol, alkohol, MR-Vp dan TSIA. Alat dan bahan untuk mengkultur/ mengisolasi bakteri adalah jarum ose, cawan petri, tabung reaksi, bunsen, eppendorf, laminar air flow, inkubator, oven, shaker, refrigerator, microwave, kapas, tisu, cling wrap, aluminium foil, label dan spidol permanen.

### **Prosedur Penelitian**

#### **a. Inokulasi Bakteri *V. harveyi***

Langkah awal adalah menginokulasi bakteri *V. harveyi* pada media TSA/TCBS selama 24-48 jam yang bertujuan untuk meremajakan bakteri. Selanjutnya biakan siap untuk dikultur pada media sesuai dengan perlakuan.

Percobaan penyimpanan biakan bakteri *V. harveyi* dilakukan dengan metode jangka pendek dan menengah, 5 perlakuan (jenis media berbeda) yaitu 1) aquades steril, 2) media TSB, 3) media solid, dan 4) gliserol. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan 5 kali dengan waktu pengamatan hari ke-0, minggu ke-2, minggu ke-4, minggu ke-6, dan minggu ke-8, pengamatan populasi, parameter sifat fisika, kimia dan viabilitas bakteri *V. harveyi* dilakukan disetiap waktu pengamatan.

#### **b. Penyimpanan Jangka Pendek dan Menengah**

Bakteri *V. harveyi* yang berumur 24-48 jam disebar pada media aquades steril, media TSB, media solid, dan gliserol dengan bantuan jarum ose. Dilakukan pengulangan 5 kali setiap jenis media penyimpanan. Diinkubasi selama 24-48 jam, Populasi *V. harveyi* dihitung sebelum penyimpanan dengan

menggunakan metode TPC. Selanjutnya semua perlakuan disimpan pada freezer -20°C. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-2, minggu ke-4, minggu ke-6, dan minggu ke-8 umur penyimpanan.

#### **c. Pengamatan Parameter Uji**

##### **Sifat fisika bakteri;**

Pengamatan sifat fisika bakteri berupa morfologi bakteri yaitu pengamatan koloni (bentuk, warna, tepi dan elevasi), bentuk sel dan tipe penggandengan sel. Tahap awal yang dilakukan adalah pewarnaan gram bakteri yang kemudian dilanjutkan dengan pengamatan secara mikroskopis.

##### **Sifat kimia bakteri;**

Melakukan uji biokimia yakni : uji KOH, uji katalase, uji motil, uji indol, uji ornithin, uji oksidatif/fermentatif, uji gula-gula, uji gelatinase, H<sub>2</sub>S.

##### **Viabilitas bakteri;**

Mengkultur bakteri *V. harveyi* dari setiap perlakuan pada media TSA/BHIA untuk mengetahui daya tahan hidupnya dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan metode TPC.

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dari perlakuan penyimpanan jangka pendek dan menengah, berupa sifat, karakteristik dan viabilitas bakteri. *V. harveyi* dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan data dari setiap tahap penelitian. Sedangkan data populasi bakteri pada setiap perlakuan dianalisis secara statistik dengan SPSS.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pengamatan tipe penggandengan sel dilakukan setiap 2 minggu masa penyimpanan. Pengamatan ini dilakukan untuk memantau penyebaran dan penggandengan sel *V. harveyi*. Hasil pengamatan tipe penggandengan sel *V. harveyi* selama masa penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Tipe penggandengan sel bakteri *V. harveyi*

No.	Kode perlakuan	Waktu pengamatan				
		hari ke-0	Minggu ke-2	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
1	FA (aquadest steril)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Beberapa sel berikatan dua (diploid)	Sebagian kecil bergerombol
2	FB (TSB)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Beberapa sel berikatan dua (diploid)	Sebagian besar bergerombol
3	FC (media solid)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Beberapa sel berikatan dua (diploid)	Sebagian besar bergerombol
4	FD (gliserol)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Menyebar tunggal (haploid)	Beberapa sel berikatan dua (diploid)	Sebagian besar bergerombol

Pengamatan tipe penggandengan sel pada semua media penyimpanan pada minggu ke-0 hingga minggu ke-4, tidak banyak mengalami perubahan. Sel bakteri *V. harveyi* tetap menyebar tunggal (haploid) merata di slide pewarnaan, namun pada minggu ke-6 nampak beberapa sel mulai berikatan dua atau dikenal dengan istilah diploid. Pada minggu ke-8 sel *V. harveyi* sebagian besar bergerombol pada media penyimpanan TSB, media solid dan gliserol, sedangkan pada media penyimpanan aquadest steril hanya sebagian kecil yang bergerombol dan sebagian besar masih menyebar tunggal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua jenis media penyimpanan mampu mempertahankan tipe penggandengan sel hingga minggu ke-4 masa penyimpanan, namun pada minggu selanjutnya mulai nampak perubahan besar yaitu sebagian besar sel *V. harveyi* bergerombol.

Gliserol memiliki daya larut yang tinggi dengan media cair tryptic soy broth (TSB) walaupun pada kondisi suhu dingin, memiliki daya penetrasi sampai ke dalam sel dan memiliki daya toksisitas yang rendah. Menurut Herdis *et al.* (2003), gliserol mampu mencegah pengumpulan molekul-molekul air dan kristalisasi es pada titik beku larutan. Gliserol juga akan memodifikasi kristal es yang terbentuk di dalam medium pembekuan sehingga menghambat kerusakan sel secara mekanis.

Penyimpanan bakteri *V. harveyi* selama 8 minggu pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  pada media

aquadest steril, media TSB, media solid dan gliserol menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara satu parameter uji dengan parameter uji lainnya. Misalnya tipe penggandengan sel *V. harveyi* mengalami perubahan pada minggu ke-6 hingga ke-8 masa penyimpanan di semua jenis media. Sebagian besar mulai berikatan dua (diploid) dan bahkan beberapa yang membentuk kelompok. Hal ini berkaitan dengan perubahan yang terjadi pada bentuk, tipe pertumbuhan dan penyebaran koloni *V. harveyi*. Pada minggu yang sama masa penyimpanan, koloni yang terbentuk mulai tidak menyebar secara haploid (tunggal), akan tetapi beberapa koloni berkumpul dan bahkan berkelompok sehingga koloni membesar dan menebal. Hubungan korelasinya adalah, sel bakteri *V. harveyi* mulai tidak mampu berdiri sendiri setelah disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  minimal 6 minggu, sehingga sel lebih suka berkelompok untuk mempertahankan kehidupannya. Dengan kecenderungan sel bakteri *V. harveyi* berkelompok menyebabkan penampakan koloni juga secara berkelompok. Hal inilah yang menyebabkan semakin lama masa penyimpanan *V. harveyi* pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  maka penyebaran sel semakin sedikit dan lebih cenderung untuk berkelompok, sehingga tampaklah koloni yang tumbuh juga cenderung berkumpul sehingga membentuk koloni yang besar dan menebal guna mempertahankan keberlangsungan hidupnya yang cenderung semakin menurun.

### Bentuk, Tipe Pertumbuhan dan Penyebaran Koloni *V. harveyi*

Koloni bakteri merupakan sekumpulan bakteri sejenis yang membentuk satu kesatuan. Koloni *V. harveyi* yang tumbuh pada media umum TSA plus NaCl umumnya berbentuk bulat kecil-kecil berwarna kekuningan, cembung, permukaan mengkilap, sedikit transparan dan menyebar secara merata (haploid) di seluruh permukaan media. Koloni *V. harveyi* mengalami perubahan pertumbuhan dan penyebaran di akhir masa penyimpanan. Koloni lebih cenderung berkumpul atau berkelompok.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bentuk dan tipe pertumbuhan koloni *V. harveyi* pada semua jenis media uji penyimpanan tetap berwarna kuning muda, berbentuk bulat dan menyebar secara terpisah-pisah hingga minggu

ke-4 masa penyimpanan. Kemudian pada minggu ke-6 dan seterusnya mulai terlihat ada perubahan penyebaran koloni. Koloni lebih cenderung berkumpul dan menebal sehingga tidak nampak jelas bentuk asli dari koloni *V. harveyi*. Hal ini terjadi kemungkinan disebabkan karena sel *V. harveyi* tidak mampu berdiri sendiri pada suhu dingin lebih dari 4 minggu. Perubahan penyebaran koloni yang terjadi pada minggu ke-6 berkorelasi dengan perubahan yang terjadi pada bentuk dan tipe penggandengan sel, dimana pada minggu ke-6 masa penyimpanan, sel *V. harveyi* mulai berikatan dua dan bahkan cenderung berkumpul atau bergerombol. Hasil pengamatan pertumbuhan dan penyebaran koloni dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Bentuk, tipe pertumbuhan dan penyebaran koloni *V harveyi*

No.	Kode perlakuan	Waktu pengamatan				
		Hari ke-0	Minggu ke-2	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
1	FA (aquadest steril)	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni berkumpul dan menebal	Koloni berkumpul, melebar di permukaan cawan dan menebal
2	FB (TSB)	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni berkumpul dan menebal	Koloni berkumpul, melebar di permukaan media dan menebal
3	FC (media solid)	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni berkumpul dan menebal	Koloni berkumpul, tidak melebar dan menebal
4	FD (gliserol)	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni bulat kecil berpisah	Koloni berkumpul dan menebal	Koloni berkumpul dan menebal

### Sifat Kimia Sel *V. harveyi*

Pengamatan sifat kimia selama masa penyimpanan perlu dilakukan, untuk menjaga keutuhan sifat kimia dan karakteristik bakteri *V. harveyi*. Hasil uji biokimia dari bakteri *V.*

*harveyi* adalah hasil positif pada uji katalase dan oksidase, bahkan pada penyimpanan aquadest steril menunjukkan sifat oksidase yang sangat kuat yang diberi tanda (++) . Uji KOH<sub>3</sub> memberi hasil negatif yang memperkuat

hasil uji reaksi gram (-). Pada uji indol menunjukkan hasil positif dan bersifat motil yang ditandai dengan pergerakan bakteri secara horizontal dan vertikal ke permukaan media MIO. Sementara itu, bila diujikan pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), hasil yang muncul adalah bagian atas (*slant*) menunjukkan warna merah yang berarti

bersifat basa, dan bagian bawah (*butt*) berwarna kuning yang berarti bersifat asam, dan tidak ada terbentuk gas dan H<sub>2</sub>S. Pada uji ornitin dekarboksilase *V. harveyi* memberi hasil positif. Hasil uji kimia kemudian dibandingkan dengan sifat kimia bakteri *V. harveyi* berdasarkan Austin & Austin (1994).

Tabel 3. Hasil uji kimia selama masa penyimpanan

No	Kode perlakuan	Waktu pengamatan	Reaksi Gram	KOH 3%	Katalase	Oksidase	Motil	Indol	Ornithin	OF	H <sub>2</sub> S	Gas	Gelatinase	TSIA
1	FA	0 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		2 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	F				K/A
		4 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		6 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	(L) F	-	-	+	K/A
		8 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	(L)	-	-	+	K/A
2	FB	0 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		2 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		4 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		6 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	(L) F	-	-	+	K/A
		8 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	(L)	-	-	+	K/A
3	FC	0 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		2 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		4 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		6 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	(L) F	-	-	+	K/A
		8 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	(L)	-	-	+	K/A
4	FD	0 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		2 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		4 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	F	-	-	+	K/A
		6 Minggu	Gram -	+	+	+	+	+	+	(L) F	-	-	+	K/A
		8 Minggu	Gram -	+	+	++	+	+	+	(L)	-	-	+	K/A

Sifat kimia bakteri *V. harveyi* selama penyimpanan tidak mengalami perubahan yang mendasar. Hanya pada uji O/F sedikit mengalami perubahan pada minggu ke-6 dan ke-8, dimana hasil uji menunjukkan sifat fermentasi dari bakteri *V. harveyi* nampak lemah yang ditandai dengan warna media OF yang berwarna kuning lemah.

#### Tingkat Kelangsungan Hidup Bakteri *V. harveyi*

Tingkat kelangsungan hidup bakteri *V. harveyi* merupakan kemampuan suatu *V. harveyi* untuk mempertahankan kelulusan hidupnya. Karena itu viabilitas erat kaitannya dan bergantung pada perjuangan/tindakan perjuangan yang dilakukan oleh *V. harveyi*

untuk tetap bertahan hidup dan mampu bersaing hidup dengan bakteri lainnya.

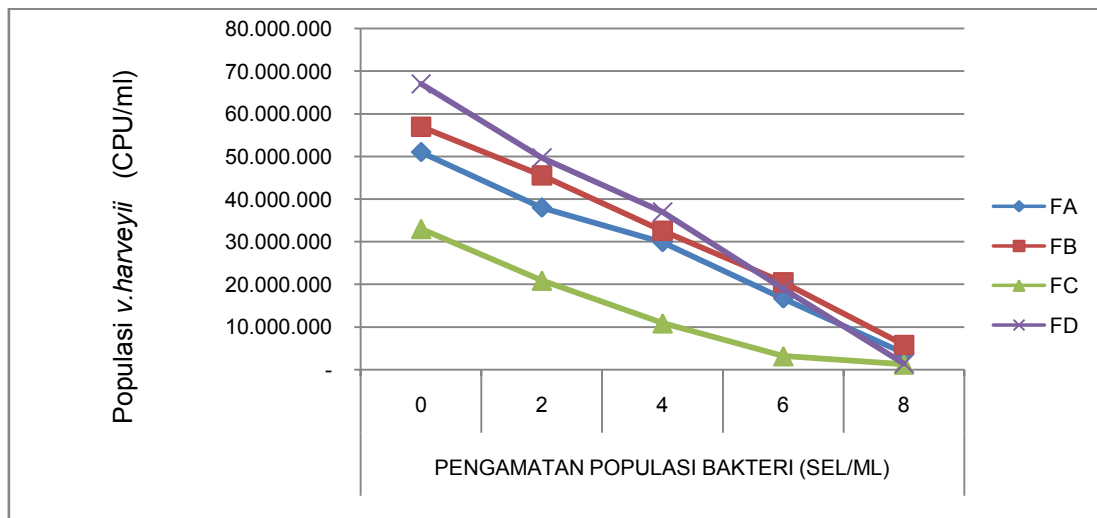
Pengamatan keberlangsungan hidup bakteri *V. harveyi* sangat perlu dilakukan agar sifat dan karakteristiknya tetap terjaga. Parameter yang digunakan untuk mengukurnya adalah dengan menghitung populasinya menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Perhitungan dilakukan secara berkala yaitu jangka pendek dan menengah. Penyimpanan jangka pendek meliputi 2-4 minggu sedangkan jangka menengah meliputi 4-8 minggu. Setiap 2 minggu kembali dilakukan perhitungan populasi *V. harveyi* untuk melihat tingkat kemampuannya bertahan hidup pada suhu penyimpanan  $-20^{\circ}\text{C}$  sebagaimana yang terlihat pada Tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Keberlangsungan hidup bakteri *V. harveyi* selama masa penyimpanan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$

No	Perlakuan	Pengamatan populasi sel bakteri (cfu/ml)				
		0 minggu	2 minggu	4 minggu	6 minggu	8 minggu
1	Fa	51,000,000	38,000,000	29,900,000	16,700,000	3,913,636
2	Fb	57,000,000	45,600,000	32,600,000	20,500,000	5,831,818
3	Fc	33,000,000	20,900,000	10,900,000	3,200,000	1,250,000
4	Fd	67,000,000	49,700,000	37,000,000	19,000,000	1,440,000

Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi *V. harveyi* mengalami penurunan selama masa penyimpanan. Kepadatan populasi *V. harveyi* pada hari pertama berkisar pada  $33-67 \times 10^7$  cfu/mL. Selanjutnya

mengalami penurunan hingga pada minggu ke-8 masa penyimpanan. Kepadatan populasi *V. harveyi* berkisar pada  $1,1-3,9 \times 10^6$  cfu/mL. Grafik prosentase penurunan populasi bakteri *V. harveyi* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik penurunan populasi bakteri *V. harveyi*

Populasi bakteri *V. harveyi* pada minggu ke-2 mengalami penurunan sekitar 20-30% di semua media penyimpanan. Kemudian pada minggu ke-4 masa penyimpanan, penurunan populasi mikroba *V. harveyi* sekitar 40-60% dan pada minggu ke-6 sekitar 60-90%. Penurunan tertinggi terjadi pada media penyimpanan solid yaitu 67% pada minggu ke-4 dan 90% pada minggu ke-6. Kemudian pada minggu ke-8 masa penyimpanan, penurunan mencapai  $\pm 90\%$  pada semua jenis media penyimpanan. Prosentase penurunan dihitung dari total mikroba pada minggu ke-0. Kepadatan populasi bakteri *V. harveyi* pada minggu ke-0 berada pada  $10^7$  cfu/ml dan pada minggu ke-8 masa penyimpanan, kepadatan bakteri *V. harveyi* berada pada  $10^6$  cfu/mL. Penurunan yang terjadi pada semua jenis media penyimpanan, besar kemungkinan disebabkan oleh ketidakmampuan bakteri *V. harveyi* untuk mempertahankan hidupnya pada suhu  $-20^\circ\text{C}$  dalam jangka waktu yang cukup lama. Penurunan populasi dari kepadatan  $10^7$  cfu/ml menjadi  $10^6$  cfu/mL selama 8 minggu masa penyimpanan, masih dianggap berada pada nilai kewajaran. Kepadatan  $10^6$  cfu/mL masih tergolong jumlah yang cukup tinggi untuk populasi bakteri secara umum.

Keberlangsungan hidup bakteri *V. harveyi* selama masa penyimpanan terus mengalami penurunan. Pada minggu ke-8 masa penyimpanan, penurunan mencapai  $\pm$

90% pada semua jenis media. Murwantoko (2008) menyatakan bahwa tidak ada teknik penyimpanan yang bisa merecovery 100% bakteri yang disimpan. Metode penyimpanan menghasilkan tingkat recovery yang berbeda-beda, tergantung pada spesies bakteri yang disimpan. Rendahnya viabilitas bakteri yang didapatkan pada penelitian ini dipengaruhi oleh faktor nutrisi, kadar/konsentrasi bahan preservasi (penyimpanan) dan suhu. Waluyo (2012), menyatakan bahwa sel sangat memerlukan nutrisi untuk mensintesis protoplasma sebagai sumber karbon, sumber nitrogen, metabolit penting (vitamin) dan juga asam amino. Bakteri tumbuh pada lingkungan yang sesuai, apabila lingkungannya tidak optimal maka pertumbuhan bakteri akan berjalan lambat, tidak tumbuh atau bahkan mati.

Persentase viabilitas *V. harveyi* tertinggi berada pada media penyimpanan TSB. Media TSB mengandung kasein dan pepton kedelai yang menyediakan asam amino dan substansi nitrogen lainnya yang membuatnya menjadi media bernutrisi untuk bermacam mikroorganisme. Dextrosa adalah sumber energi dan natrium klorida mempertahankan kesetimbangan osmotik (Anonim, 2014<sup>a</sup>). Medium Nutrient Broth merupakan medium yang memiliki kegunaan sebagai medium untuk menumbuhkan bakteri sama seperti medium NA (Anonim, 2014<sup>b</sup>).



Persentase viabilitas terendah berada pada media penyimpanan aquades steril. Aquades steril tidak mampu menyediakan nutrisi yang cukup bagi *V. harveyi* dalam jangka waktu yang lama. Beberapa jenis bakteri, terutama yang berbentuk batang dan bereaksi Gram negatif seperti *Pseudomonas* dapat disimpan cukup lama dalam aquades steril pada suhu ruang atau suhu 10-15°C. Tidak semua bakteri dapat disimpan dengan baik menggunakan cara ini, misalnya pada anggota genus *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, dan *Curtobacterium*. Pada kondisi penyimpanan ini bakteri yang disimpan masih berpeluang tumbuh dengan lambat, sehingga tidak dapat dijamin stabilitas genetiknya untuk jangka panjang. Penyimpanan dengan cara ini juga memungkinkan terjadinya kontaminasi. Oleh karena itu, cara ini lebih dianjurkan sebagai alternatif penyimpanan jangka sedang atau sebagai pendamping penyimpanan jangka panjang (De Vay & Schnathorst, 1963; McGinnis *et al.*, 1974).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara tipe penggandengan sel, type penyebaran dan pertumbuhan koloni, serta viabilitas *V. harveyi*. kecenderungan sel untuk berkelompok, menyebabkan koloni yang tumbuh juga cenderung berkumpul sehingga membentuk koloni yang besar dan menebal guna mempertahankan viabilitasnya yang cenderung semakin menurun.

Sifat kimia bakteri *V. harveyi* selama masa penyimpanan tidak mengalami perubahan yang mendasar. Hanya pada uji O/F sedikit mengalami perubahan pada minggu ke-6 dan ke-8, dimana hasil uji menunjukkan sifat fermentasi dari bakteri *V. harveyi* nampak lemah yang ditandai dengan warna media OF yang berwarna kuning lemah.

Viabilitas bakteri *V. harveyi* mengalami penurunan secara linier dengan waktu penyimpanan. Populasi bakteri *V. harveyi* pada awal penyimpanan sekitar  $10^7$  cfu/mL dan setelah disimpan selama 8 minggu pada suhu - 20°C populasi menurun menjadi  $10^6$  cfu/mL.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (2014<sup>a</sup>). Media Pertumbuhan Mikroba. [www.asalkamutahuaja.blogspot.com](http://www.asalkamutahuaja.blogspot.com). Diakses tanggal 20 Februari 2014.
- Anonim. (2014<sup>b</sup>). Komposisi Nutrien Agar dan Nutrient Broth. [www.dianaph.blogspot.com](http://www.dianaph.blogspot.com). Diakses tanggal 16 Januari 2014. Ariwulan, DR. 2013. Metode Penyimpanan Mikroba. <http://nightray13-kuro.blogspot.com/2013/01/boiteknologireviewtugas2.html>. Diakses tanggal 4 Nopember 2013.
- Austin, B., & Austin, D.A. (1994). Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. John Wiley and Sons. Chichester. 364 p.
- De Vay, J.E. & Schnathorst, W.C. (1963). Single-cell isolation and preservation of bacterial cultures. Nature, London 1999. p. 775-777
- Elliot, R.F. (1975). Methods for preserving mini cultures of fungi under mineral oil. Laboratory Practice. 24:751.
- Herdis, Kusuma I.M., & Surachman, R. E. (2003). Optimalisasi Kualitas Semen Beku Domba Garut dengan Pemberian Glycerol. Prosiding Seminar Teknologi untuk Negeri, Vol II. Bogor.
- Hidayat, N., Masdiana, C.P, & Sri Suhartini. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Machmud, M. (2001). Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. Buletin AgroBio. (4): 24-32.
- McGinnis, M.R., Padhye, A.A., & Ajello, L. (1974). Storage of stock culture of filamentous fungi, yeast and some aerobic actinomycetes in sterile distilled water. Applied Microbiology 28:218-222
- Murwantoko. (2008). Preservasi Bakteri. Pelatihan Metode Standar Pemeriksaan HPIK. 21-26 April 2008. Yogyakarta
- Waluyo, L. (2012). Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang.