

FENOMENA BIOLUMINESSENSI IKAN LOMEK (*Harpadon nehereus*) BERASAL DARI BAKTERI LUMINESEN

by Delianis Pringgenies

Submission date: 12-Jun-2019 11:48AM (UTC+0700)

Submission ID: 1142812737

File name: 3_Turnitin.pdf (480.82K)

Word count: 2721

Character count: 16873

**FENOMENA BIOLUMINESENSI IKAN LOMEK (*Harpadon nehereus*)
BERASAL DARI BAKTERI LUMINESEN**

Kartika Dewi¹, Delianis Pringgenies², Haeruddin¹, Sakti Imam Muchlissin³

*The Bioluminescence Phenomenon of Lomek Fishes (*Harpadon nehereus*)
with their Luminous Bacteria*

PENDAHULUAN

Ikan lomek memiliki rasa yang gurih dan banyak ditemukan di sepanjang perairan Pulau Tanjung Balai Karimun, Kepulauan Riau. Ikan yang memiliki nama lokal nomei, lembe-lembe, dan acang-acang juga ditemukan di Pantai Utara Kalimantan, Pantai Barat Sumatera (Aceh, Padang, Pariaman, Pekanbaru) (Nugroho *et al.* 2015; Nugroho *et al.* 2014). Ikan ini termasuk dalam ordo Aulopiformes dari keluarga *Synodontidae*, dengan ciri memiliki mulut yang menganga dengan gigi yang panjang dan runcing, mata yang kecil dan tubuh yang lembek dengan 90% kandungan air (Haneda 1950; Kakatkar *et al.* 2003). Ikan ini hidup di pantai dangkal yang berlumpur dengan kedalaman kira-kira sampai 50 m (Fishbase 2018).

Berdasarkan pengamatan, ikan lomek yang mati saat tertangkap dapat memancarkan cahaya. Fenomena pemancaran cahaya disebut dengan bioluminesensi yang dihasilkan oleh makhluk hidup (Dunlap 2009). Kemampuan bioluminesensi banyak dimiliki oleh organisme laut, sekitar 80% organisme bioluminesensi mendiami lautan dan dapat dijumpai di kedalaman kurang dari 1000 m (Shimomura 2006; Herring dan Widder 2001). Salah satu organisme laut yang memiliki kemampuan ini adalah kelompok ikan, bioluminesensi yang ada pada ikan dapat dijumpai pada sekitar 43 famili dari 11 ordo bony fishes termasuk di dalamnya ordo Aulopiformes dan 3 famili dari satu ordo shark (Herring dan Widder 2001; Paitio *et al.* 2016).

Bioluminesensi merupakan hasil dari proses reaksi kimia alami, produksi dan emisi cahaya dihasilkan oleh energi lewat oksidasi dari substrat (*lucifen*) yang dikatalis oleh enzim (*luciferase*) (Haddock *et al.* 2010; Schroepe 2007; Herring dan widder 2001). Ikan dapat memperoleh enzim *luciferase* dengan berbagai cara, salah satunya adalah lewat simbiosis dengan bakteri luminesen pada organ cahayanya, contohnya pada jenis ikan *ponyfish*, *pinecone fish*, *deep-sea anglerfishes*, (Herring dan Widder 2001), *cardinasfishes*, *flashlight fishes* (Hellinger 2017). Bakteri luminesen adalah bakteri yang secara alami memiliki gen untuk menghasilkan enzim

luciferase dan memproduksi rantai panjang aldehid yang dibutuhkan dalam reaksi kimia bioluminesensi. Bakteri luminesen selain bersimbiosis dengan organ cahaya organisme laut, juga dapat ditemukan bercahaya pada kulit organisme laut (Dunlap 2009).

Haneda (1950) menduga bahwa bakteri menjadi penyebab bioluminesensi pada tubuh ikan lomek, tetapi, masih banyak informasi yang belum diketahui mengenai bioluminesensi pada ikan lomek di antaranya benarkah bakteri menjadi penyebab bioluminesensi saat setelah kematian ikan ini, serta belum diketahui pula bagian mana dari tubuh ikan yang mampu memancarkan cahaya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan asal cahaya yang terdapat pada ikan lomek dengan hipotesis bahwa bakteri luminesen menjadi penyebab proses pemancaran cahaya, serta mendiskripsikan aktivitas bioluminesensinya dan melakukan isolasi bakteri luminesen, sehingga akan mengetahui apa yang menyebabkan aktivitas bioluminesensi pada ikan lomek.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah air laut steril, bahan pembuatan media *Zobell* padat yang terdiri dari agar (*Oxoid*), *yeast* (*Oxoid*), *peptone* (*Oxoid*), dan air laut, dan bahan-bahan untuk uji biokimia yaitu alkohol 70% (*Onemed*), senyawa *kovacks*, pereaksi oksidasi, reagen H_2O_2 , medium MR (*Merck*), medium VP (*Merck*), medium urea (*Merck*), medium acid (*Merck*), medium sitrat (*Merck*), medium glukosa (*Merck*), laktosa (*Merck*), sukrosa (*Merck*), maltosa (*Merck*). Alat yang digunakan adalah *autoclave* HVE-50 (*Hirayama*), petri dish (*Pyrex*), jarum ose, bunsen, erlenmeyer (*Duran*), tabung reaksi (*Iwaki*), tabung durham (*Iwaki*), spreader (*Iwaki*), vortex (*corning*), shaker (*Corning*), mikropipet (*Corning*) dan mikrotip (*Biologix*), wadah (*Lion star*).

Metode Penelitian

Pengambilan dan persiapan sampel

Sampel ikan lomek segar sebanyak 20 ekor berukuran panjang ± 23 cm diperoleh dari perairan Pulau Tanjung Balai Karimun,

Kepulauan Riau. Sampel ⁷ dimasukkan ke dalam *cool box* yang berisi es. Sampel segera dibawa ke laboratorium untuk penelitian lebih lanjut.

Pengamatan aktivitas bioluminesensi

Pengamatan pola bioluminesensi ikan lomek dilakukan dengan acuan Bolelli *et al.* (2016). Pengamatan dilakukan dengan 2 perlakuan yang berbeda yaitu 10 ekor ikan lomek segar dicuci dengan air laut steril dan dibiarkan terbuka pada suhu ruang, sedangkan 10 ekor lainnya disiapkan tanpa dicuci terlebih dahulu. Sampel tersebut kemudian diletakkan hingga jam ke-13 dan diamati perubahan apa yang terjadi. Air laut steril adalah air laut yang disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Isolasi bakteri luminesen

Bagian permukaan tubuh ikan lomek yang bercahaya diambil sebanyak 1 gram untuk dijadikan sampel seri pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} , kemudian ditaman dalam pada media *Zobell* padat dan diperiksa setiap 8 jam sekali di dalam ruangan gelap untuk melihat bioluminesensi pada koloni (Pringgenies dan Sejati 2004). Koloni yang bercahaya dipilih dan diinokulasikan ke dalam media baru dengan metode *streak quadran*, selanjutnya dilakukan purifikasi hingga didapatkan koloni tunggal yang masih bercahaya untuk dipelajari karakteristik biokimianya.

Karakterisasi biokimia dari bakteri meliputi pewarnaan Gram, uji indol, katalase, urease dan oksidase, uji metil red, uji Voges-Proskauer, asimilasi citrat, dan uji pemanfaatan sumber karbon dengan mengikuti metode standar (Colome 2001). Pengamatan morfologi diamati dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 100x10.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Bioluminesensi

Aktivitas bioluminesensi terjadi pada permukaan tubuh ikan lomek berkisar antara bagian anterior yang ditunjukkan oleh 4 ikan sampel, sedangkan 4 ikan sampel lainnya menunjukkan bagian area caudal yang bercahaya lebih dulu, dan sisanya, 2 ekor ikan sampel menunjukkan bagian posterior yang mulai bercahaya lebih dulu (*Table 1*).

Bioluminesensi pada ikan yang dicuci air laut steril terjadi setelah 8 jam ikan dibiarkan dalam keadaan terbuka pada suhu ruang. Pengamatan 2- 3 jam kemudian bagian yang bercahaya mulai menyebar lebih luas ke area permukaan yang lebih basah dari area yang lain dan bioluminesensi bisa dilihat hingga ke dalam daging ikan. Hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa tidak adanya pola yang konstan pada sebaran jangkauan bioluminesensi pada permukaan tubuh ikan lomek. Perbandingan pola bioluminesensi dengan sampel ikan lomek yang sebelumnya tidak dicuci terlebih dulu dengan air laut steril, menunjukkan hasil yang berbeda.

Table 1 Bioluminescence activity of washed fish

Sample	Start luminesce	Luminous peaks	The first luminous part
1	After 8 hours	After 10 hours	Around anterior
2	After 6 hours	After 11 hours	Around anterior
3	After 8 hours	After 10 hours	Around anterior
4	After 8 hours	After 10 hours	Around anterior
5	After 6 hours	After 12 hours	Caudal area
6	After 7 hours	After 10 hours	Caudal area
7	After 8 hours	After 10 hours	Caudal area
8	After 6 hours	After 11 hours	Caudal area
9	After 9 hours	After 13 hours	Around posterior
10	After 9 hours	After 13 hours	Around posterior

Bioluminesensi sulit terjadi dan dari 10 sampel hanya 1 sampel yang memiliki area yang bercahaya dengan area penyebaran yang tidak terlalu luas (Table 2). Hal ini dapat diasumsikan bahwa bakteri luminesen menjadi penyebab bioluminesensi.

Hasil kultur murni bakteri hasil isolasi yang ditumbuhkan dalam *Zobell* padat dapat memancarkan cahaya di dalam ruangan gelap. Fenomena ini membuktikan bahwa cahaya yang dipancarkan ikan lomek berasal dari bakteri yang hidup dalam permukaan tubuh ikan lomek (Figure 1 dan 2).

Bioluminesensi pada ikan bisa dihasilkan melalui *photopore* yang secara intrinsik

memiliki sel-sel khusus yang disebut *photocytes*, tersebar di tubuh ikan atau bioluminesensi juga bisa dihasilkan oleh organ cahaya ikan yang bersimbiosis dengan bakteri luminesen (Herring dan Widder 2001; Claes *et al.* 2009; Pearcy *et al.* 2009). Berdasarkan pengamatan pola sebaran bioluminesensi yang terjadi di kulit ikan lomek, tidak ditemukan adanya *photopore* maupun organ cahaya. Bioluminesensi ini terjadi karena adanya bakteri luminesen pada permukaan tubuh ikan lomek. Menurut Haneda (1950) tubuh ikan lomek mengandung jumlah air yang sangat banyak, Kakatkar *et al.* (2003) melaporkan ikan ini memiliki tubuh yang

Table 2 Bioluminescence activity of unwashed fish

Sample	After 8 hours	After 10 hours	Luminous part
1	Non luminous	Luminous	Around caudal
2	Non luminous	Non luminous	-
3	Non luminous	Non luminous	-
4	Non luminous	Non luminous	-
5	Non luminous	Non luminous	-
6	Non luminous	Non luminous	-
7	Non luminous	Non luminous	-
8	Non luminous	Non luminous	-
9	Non luminous	Non luminous	-
10	Non luminous	Non luminous	-



Figure 1 (a) the bacteria were colonized on surface of fish skin (b) fresh lomek fish

lembek dan mengandung 90% air, sehingga ikan ini bisa menjadi media yang tepat untuk pertumbuhan bakteri luminesen.

Mikroorganisme laut yang memiliki kemampuan bioluminesensi ada 3, yaitu bakteri, dinoflagelata dan radiolarians (Herring dan Widder 2001). Bakteri luminesen adalah bakteri yang secara alami memiliki gen untuk menghasilkan enzim *luciferase* dan memproduksi rantai panjang aldehyd yang dibutuhkan dalam reaksi kimia bioluminesensi (Dunlap 2009). Enzim *luciferase* adalah enzim yang bertanggung jawab dalam mengkatalis substrat *luciferin* sehingga bisa menghasilkan cahaya tampak dalam proses reaksi kimia bioluminesensi.

Bakteri luminesen dapat ditemukan dalam bentuk bebas di lautan, tetapi lebih umum dijumpai bercahaya jika bersimbiosis pada organ cahaya ikan atau cumi-cumi (Herring dan Widder 2001; Pringgenies dan Sejati 2004) atau bakteri ini juga dapat bercahaya jika berkumpul pada kulit hewan laut (Dunlap 2009). Bakteri tidak dapat berkolonisasi untuk membentuk kerapatan yang sangat tinggi karena kondisi lautan yang sangat luas, sehingga bakteri tidak dapat memancarkan cahaya (Pringgenies dan Sejati 2004). Bakteri luminesen ini membutuhkan tempat yang kaya nutrisi untuk berkumpul dan membentuk kerapatan kemudian mencapai densitas sel yang cukup untuk quorum sensing dan bercahaya.

Quorum sensing merupakan respon biologi khusus dari bakteri dengan membentuk sebuah molekul sinyal yang disebut autoinduser. Mekanisme ini merupakan bentuk komunikasi bakteri untuk memastikan jumlah sel mencukupi sebelum menghantarkan ekspresi gen. Molekul sinyal yang disebut autoinduser akan dilepaskan sel bakteri dan sel-sel yang lain akan menangkap sinyal tersebut, kemudian merespon sinyal tersebut dan membentuk kerapatan antar sel. Menurut Bassler (2002) jika jumlah sel telah mencukupi ambang batas *quorum sensing* maka setiap sel bakteri tersebut akan mengeluarkan ekspresi gen (enzim *luciferase*) secara serentak dan bersama-sama, kemudian terjadilah bioluminesensi.

Quorum sensing pada bakteri secara biokimia mampu mendeteksi minimal akumulasi autoinduser untuk mengantarkan ekspresi gen pada jumlah sel yang luas, jika ambang batas terpenuhi maka koloni bakteri akan melepaskan autoinduser dan terbentuklah bioluminesensi. Oleh karena itu, individual bakteri luminesen tidak akan bercahaya sampai membentuk koloni dengan densitas sel yang cukup (Side *et al.* 2015). Bakteri luminesen harus mencapai jumlah sel yang cukup serta membutuhkan tempat yang kaya nutrisi untuk bertumbuh, melepaskan autoinduser dan membentuk kerapatan. Tempat yang kaya nutrisi itu misalnya organ cahaya atau pada kulit dari organisme laut (Dunlap 2009; Bolelli *et al.* 2016), oleh sebab itu bakteri luminesen juga bisa diisolasi dari kulit organisme laut dan menjadi penyebab pemancaran cahaya pada permukaan tubuh ikan.

Hasil pengamatan pola bioluminesensi pada kulit ikan lomek, menunjukkan bahwa pola bioluminesensi sampel berbeda-beda atau dengan kata lain tidak memiliki pola yang konstan. Koloni bakteri yang bercahaya lebih banyak ditemukan di area yang lebih basah misalnya pada cekungan di area anterior (*Figure 2b*). Hal ini didukung dari hasil uji motilitas, bahwa bakteri luminesen ini bersifat motil. Beberapa jenis bakteri yang bersifat motil, dengan flagella polar akan membantu bakteri untuk berenang pada lingkungan yang berair (Carter 2004), dengan berenang bakteri luminesen akan meraih tempat yang kaya akan nutrisi lebih cepat dan akan bercahaya lebih terang dibandingkan dengan tidak berenang (Sasaki *et al.* 2009). Bakteri juga menyukai area yang lebih basah di bandingkan area yang kering, karena area yang basah memungkinkan flagella sebagai alat motilitas tetap berukuran panjang sehingga memudahkan bakteri untuk berenang, sedangkan area yang kering membuat flagella bakteri memendek yang dapat menghambat motilitas bakteri (Berg 2005).

Ikan lomek yang dicuci dengan air laut steril dapat menghasilkan fenomena bioluminesensi lebih terang dibandingkan dengan ikan yang tidak dicuci. Fungsi lain



Figure 2 (a) The part that is more moist located in the anterior (b) Luminous bacteria are accumulated in the wet surface of fish skin

dari air laut steril tersebut adalah memberikan salinitas yang sesuai agar bakteri bisa bercahaya karena salah satu faktor untuk bakteri luminesen bisa bercahaya adalah salinitas (Shilo dan Yetinson 1979).

Kemampuan bioluminesensi ditemukan pada *flashlight fishes* dan ikan laut dalam *anglerfishes*. Ikan-ikan ini memiliki organ cahaya yang tidak terhubung dengan saluran pencernaan tetapi organ cahaya mereka terbuka di air laut. Bakteri masuk ke dalam organ cahaya melalui pori-porinya (Herring dan Widder 2001). Bakteri luminesen tersebut berenang di area yang basah, setelah menempel dan masuk ke pori-pori tubuh ikan, kemudian memperoleh nutrisi dan dengan salinitas yang sesuai untuk pertumbuhan, bakteri bertumbuh terus-menerus, melepaskan molekul sinyal (autoinduser), membentuk kerapatan hingga mencapai ambang batas minimal untuk meraih *quorum sensing*, kemudian bercahaya (Side *et al* 2015).

Isolat bakteri luminesen

Bakteri bioluminesensi didapatkan dari seri pengeceran pertama dari sampel permukaan tubuh ikan lomek yang sedang bercahaya. Hasil pengeceran dituang pada

media *Zobell* padat dan diinkubasi selama 48 jam. Hasil karakteristik morfologi bakteri luminesen dapat dilihat pada *Table 3* dan *Figure 3*.

Morfologi dari isolat bakteri luminesen yaitu berbentuk batang dan termasuk kelompok bakteri Gram negatif (warna merah). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri yang tumbuh dalam media *zobell* padat dapat bercahaya bila di dalam ruangan gelap, ini membuktikan bahwa bakteri ini memiliki kemampuan bioluminesensi. Koloni tunggal yang bercahaya dipilih, kemudian dipelajari karakteristik biokimianya. Hasil dari karakteristik biokimia isolat bakteri luminesen dapat dilihat pada *Table 4*.

Hasil uji indol negatif menunjukkan bahwa bakteri luminesen ini tidak membentuk indol dari asam amino triptofan sebagai sumber karbon. Uji MR positif artinya bakteri ini menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam MR-VP. Uji VP negatif menunjukkan bahwa hasil akhir fermentasi bakteri ini bukan asetil metil karbinol (asetolin). Katalase positif menunjukkan bakteri ini memiliki enzim katalase (Colome 2001).

Table 3 Morphological characteristics of isolated luminous bacteria

Characteristics	Luminous colonies
Colonies surface	Smooth
Colony pigmentation	White-yellow
Size	Pin point
Shape	Round
Margin	Lobate
Elevation	Raised

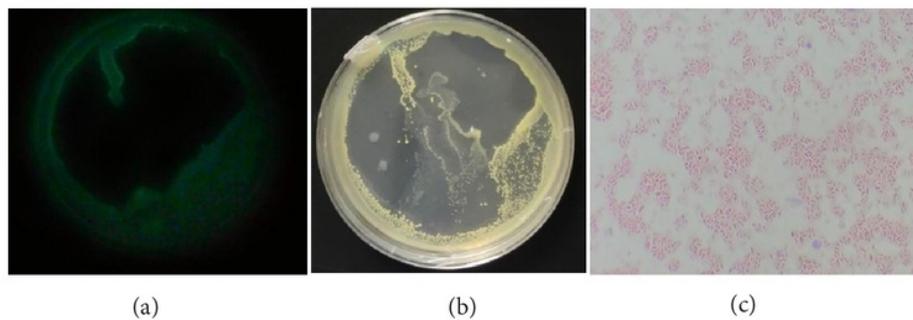


Figure 3 (a) Colonies of luminous marine bacterium observed in the dark room and (b) same plate observed in the light (c) isolated bacteria obtained by microscope with 100 x10 magnification

Table 4 The biochemical characterization of isolated bacteria

Biochemical characteristics	Result
Bioluminescence	+
Oxidase reaction	+
Catalase reaction	+
Lysin deaminase	-
Ornithin	+
Citrate assimilation	-
Urea hydrolysis	-
Esculin hydrolysis	-
Indole production	-
Methyl red test	+
Voges-Proskauer test	-
Motility	+
Glucose fermentation	+
Sucrose fermentation	-
Lactose fermentation	-
Maltose assimilation	+

Hasil uji biokimia juga menunjukkan bahwa isolat bakteri luminesen tersebut mampu menghasilkan enzim oksidase dan enzim katalase. Uji oksidase merupakan uji untuk membedakan antara anggota-anggota dalam genus *Pseudomonas*, yang merupakan oksidase positif, dan *Enterobacteriaceae* yang merupakan oksidase negatif. Enzim oksidase juga merupakan salah satu enzim yang dihasilkan oleh beberapa bakteri aerob

(Volk dan Wheeler 1993). Sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri luminesen bukan dari keluarga *Enterobacteriaceae* dan bakteri ini termasuk bakteri aerob.

Bakteri aerob menghasilkan senyawa H_2O_2 dari respirasi aerobik. Senyawa ini berbahaya bagi bakteri itu sendiri, oleh karenanya bakteri akan menghasilkan enzim katalase untuk mengkatalis senyawa tersebut (Volk dan Wheeler 1993). Hanya

bakteri yang bersifat aerob yang mampu menghasilkan enzim katalase. Uji Simmon's Citrat digunakan untuk melihat kemampuan organisme enterik berdasarkan kemampuan memfermentasi sitrat sebagai sumber karbon (Volk dan Wheeler 1993). Organisme enterik merupakan organisme yang umumnya berada di saluran pencernaan. Isolat bakteri luminesen diketahui memiliki hasil negatif pada uji Simmon's Citrat sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri ini memang bukan berasal dari pencernaan. Berdasarkan uji biokimia juga diketahui bahwa isolat bakteri luminesen hanya mampu memfermentasikan glukosa dari tiga gula yaitu sukrosa, fruktosa dan laktosa.

Bakteri luminesen yang tercatat pada umumnya memiliki ciri-ciri Gram negatif, tidak membentuk spora, motil, *chemoorganotrophs*, aerob fakultatif, mampu memfermentasi gula untuk mendapatkan energi jika oksigen dan terminal penerima elektron yang cocok tidak tersedia (Dunlap 2009). Beberapa dari ciri-ciri tersebut sesuai dengan hasil uji biokimia isolat bakteri luminesen dari ikan lomek yaitu bakteri ini termasuk bakteri Gram negatif, motil dan mampu memfermentasikan glukosa.

KESIMPULAN

Permukaan tubuh ikan lomek (*Harpadon nehereus*) dapat memancarkan cahaya setelah 8 hingga 9 jam kematian. Asal cahaya yang terdapat pada permukaan tubuh ikan ini berasal dari bakteri luminesen. Bakteri ini termasuk bakteri Gram negatif, *motile* dan mampu memfermentasikan glukosa.

FENOMENA BIOLUMINESSENSI IKAN LOMEK (Harpadon nehereus) BERASAL DARI BAKTERI LUMINESEN

ORIGINALITY REPORT

10%

SIMILARITY INDEX

6%

INTERNET SOURCES

1%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

Submitted to Padjadjaran University

Student Paper

2%

2

Submitted to Universitas Diponegoro

Student Paper

2%

3

ejournal.undip.ac.id

Internet Source

2%

4

vdocuments.site

Internet Source

1%

5

documents.tips

Internet Source

1%

6

Sanae Fukuda, Emi Yamano, Takako Joudoi, Kei Mizuno et al. "Effort-Reward Imbalance for Learning is Associated with Fatigue in School Children", Behavioral Medicine, 2010

Publication

1%

7

id.123dok.com

Internet Source

<1%

8	Internet Source	<1%
9	indahjayantikumalasari.blogspot.com Internet Source	<1%
10	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	<1%
11	thp.fpik.ipb.ac.id Internet Source	<1%
12	yunussabatudung.blogspot.com Internet Source	<1%
13	gilroypheromones.com Internet Source	<1%
14	Submitted to University of Bedfordshire Student Paper	<1%

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

FENOMENA BIOLUMINESSENSI IKAN LOMEK (Harpadon nehereus) BERASAL DARI BAKTERI LUMINESEN

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9
