

**ISOLASI DAN MORFOLOGI
ISOLAT BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK (BFA)
ASAL PERAIRAN TAMBAK SERANG DAN SEGARA ANAKAN**

Muhammad Badjoeri*, Tri Widiyanto*, Vidya Indarwati* dan Dede Syaifullah**

** Puslitbang Limnologi – LIPI, Cibinong*

*** Mahasiswa Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto*

PENDAHULUAN

Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) adalah kelompok bakteri yang dapat melakukan fotosintesis tanpa menggunakan H₂O sebagai sumber elektron sehingga pada akhir proses fotosintesisnya tidak dihasilkan oksigen (Brock dan Madigan, 1991)..

BFA banyak ditemukan dan hidup pada berbagai habitat perairan, baik perairan tawar maupun laut. Bahkan pada habitat yang mempunyai pH, salinitas dan suhu yang ekstrim sekalipun BFA masih dapat ditemukan, seperti pada sumber air panas dan danau “arctic” (Imhoff, 1988 dan Pfennig, 1977). Akan tetapi habitat umumnya BFA hidup pada perairan yang masih terdapat intensitas cahaya (*photic zone*), banyak mengandung H₂S dan kandungan oksigen rendah (Badjoeri *et al*, 1998).

Pada habitatnya BFA mempunyai peranan ekologis yang penting selain sebagai produsen primer karena dapat berfotosintesis (Fuhrman *et al*, 1993), BFA juga mampu mereduksi (memanfaatkan dalam metabolismenya) senyawa H₂S, ammonia, nitrit, karbon organik (protein, lemak, karbohidrat) dan logam berat. Dalam perkembangan sekarang ini BFA telah dikembangkan dan diuji untuk di jadinya salah satu alternatif pemanfaatan mikroorganisme sebagai biokondisioner (biokontrol) kualitas lingkungan perairan (Widiyanto, 1998 dan Rusmana dan Widiyanto, 1998). Atas dasar inilah maka perlu dilakukan isolasi dan seleksi BFA untuk mendapatkan BFA yang unggul dan terseleksi.

Bakterioklorofil dan karotenoid adalah piranti fotosintetik yang dimiliki BFA, piranti ini mempunyai fungsi yang mirip dengan klorofil pada tumbuhan tingkat tinggi dan algae. Bakterioklorofil dan karotenoid ini merupakan salah satu ciri dasar untuk identifikasi BFA karena merupakan pigmen yang memberikan warna yang khas pada kultur BFA.

Rusmana *et al* (1998) telah berhasil mengisolasi BFA dari estuari daerah Kerawang, Serang dan Sukabumi sebanyak 27 isolat yang termasuk Rhodospirillaceae (bakteri ungu non sulfur).

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mendapatkan koleksi isolat-isolat BFA dari daerah perairan tambak dan untuk keperluan penelitian BFA selanjutnya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium mikrobiota Puslitbang Limnologi-LIPI, Cibinong, dari bulan Juni s/d Agustus 2000.

Bakteri (BFA) diisolasi dari sampel air dan sedimen (sebagai sumber isolat) diambil dari perairan tambak udang di wilayah Serang, Banten dan Segara Anakan, Cilacap – Jawa Tengah. Lokasi pengambilan sampel dicantumkan pada table 1.

Tabel 1. Lokasi pengambilan sampel air dan sedimen untuk isolasi BFA

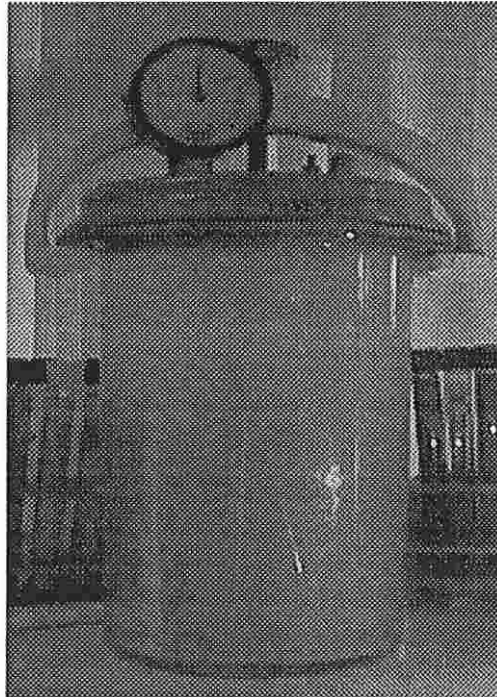
| No. | Kabupaten | Daerah |
|-----|----------------------|---|
| 1 | Serang, Banten | Kasemen, Kramat Watu, Pontang dan Tirtayasa |
| 2. | Cilacap, Jawa Tengah | Segara anakan |

Sebanyak $\pm 2 - 3$ gram sedimen (tanah) dan $3 - 5$ ml air dari tambak dan inlet tambak diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi bertutup ulir yang berisi media selektif SWC (Sea Water Complete) 100 % (tabel 2).

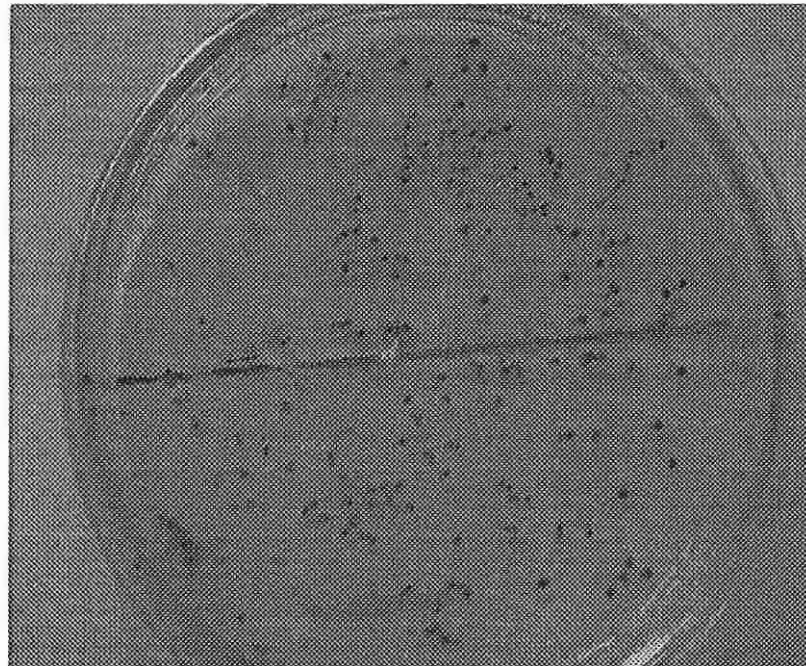
Tabel 2. Komposisi media selektif SWC 100% (Widiyanto, 1995)

| No | Komposisi | Jumlah |
|----|---------------|---------|
| 1 | Bakto pepton | 5 gram |
| 2 | Ekstrat yeast | 1 gram |
| 3 | Gliserol | 3 gram |
| 4 | Bakto agar | 15 gram |
| 5 | Airlaut | 750 ml |
| 6 | Aquadet | 250 ml |

Sumber isolat (sampel) yang diinokulasi pada media SWC cair kemudian diinkubasi (tahap 1) pada kondisi yang cocok untuk pertumbuhan BFA, yaitu pada suhu kamar dan $20 - 30$ cm didepan cahaya lampu tungsrang 40 W selama $4 - 7$ hari (gambar 1).



Gambar 2. Inkubasi isolat BFA dalam ruang *anaerobic jar*



Gambar 3. Koloni isolat BFA yang terpisah (Isolat murni)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode kultur selektif dan pengkayaan (*selective and enrichment culture*) (Rusmana *et al*, 1998 dan Seeley and VanDemark, 1972). adalah metode yang cukup baik dan dengan metode ini berhasil didapatkan isolat murni BFA dari Serang dan Segara anakan.

Sebanyak 11 isolat murni didapatkan dari Segara anakan yang diberi kode MA1 s/d MA 11 dan 2 isolat murni dari Serang yang diberi kode B1 dan B2 (tabel 3).

Tabel 3. Hasil isolasi isolat BFA dari wilayah Serang dan Segara anakan

| No | Kode Isolat | Sampel | Warna kultur | | Morfologi sel | Gram | Asal |
|----|-------------|---------|--------------|-------|---------------|---------|----------------|
| | | | Cair | Agar | | | |
| 1 | MA 1 | Air | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 2 | MA 2 | Air | Coklat | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 3 | MA 3 | Air | Coklat | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 4 | MA 4 | Air | Coklat | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 5 | MA 5 | Air | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 6 | MA 6 | Air | Coklat | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 7 | MA 7 | Air | Coklat | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 8 | MA 8 | Air | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 9 | MA 9 | Air | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 10 | MA 10 | Sedimen | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 11 | MA 11 | Sedimen | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Segara anakan |
| 12 | B1 | Air | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Serang, Banten |
| 13 | B2 | Sedimen | Merah | Merah | Batang pendek | Negatif | Serang, Banten |

Media pengkayaan berupa SWC 100 % merupakan media yang cukup selektif untuk menumbuhkan BFA karena selain media tersebut mendukung untuk pertumbuhan BFA dan tidak mendukung untuk pertumbuhan bakteri yang lain sehingga bakteri yang lain terhambat pertumbuhannya. Setelah masa inkubasi 4 – 7 hari, pada suhu kamar dan disinari oleh cahaya lampu tungsramp 40 W pada kultur terlihat BFA tumbuh baik dan dominan terlihat dari warna kultur kuning kemerahan, merah sampai merah kecoklatan yang merupakan ciri khas dari karotenoid yang terkandung dalam sel BFA (tabel 3).

Ada dua kelompok yang termasuk BFA yaitu, bakteri ungu dan bakteri hijau. Bakteri ungu terdiri dari tiga famili yaitu bakteri ungu sulfur (*Chromatiaceae*), bakteri ungu non sulfur (*Rhodospirillaceae*) dan *Ectothiorhodospiraceae*. Sedangkan bakteri

hijau terdiri dari dua famili yaitu, bakteri hijau sulfur (*Chlorobiaceae*) dan bakteri hijau berfilamen multiseluler (*Chloroflexaceae*), (Pfennig dan Truper, 1989).

Menurut Brock dan Madigan (1991) dan Pfennig dan Truper (1989), bakteri ungu non sulfur bersifat anaerobik fakultatif dimana bakteri ini dapat tumbuh dan berkembang dengan baik pada kondisi oksigen rendah. Pada kondisi inilah didapatkan 13 isolat murni BFA asal Serang dan Segara anakan, sehingga diduga kuat BFA murni yang didapatkan adalah BFA dari famili bakteri non sulfur (*Rhodospirillaceae*). Sedangkan famili BFA lainnya bersifat anaerob obligat (hidup pada kondisi tidak ada oksigen).

Pengamatan morfologi sel BFA dengan pewarnaan gram dan secara mikroskopi, menunjukkan semua isolat murni yang didapatkan berbentuk batang dan bersifat gram negatif (tabel 3). Hasil reaksi gram ini mendukung dugaan tersebut karena menurut (Pfennig dan Truper, 1989) bakteri ungu non sulfur bersifat gram negatif dan sel berbentuk batang, oval atau spiral.

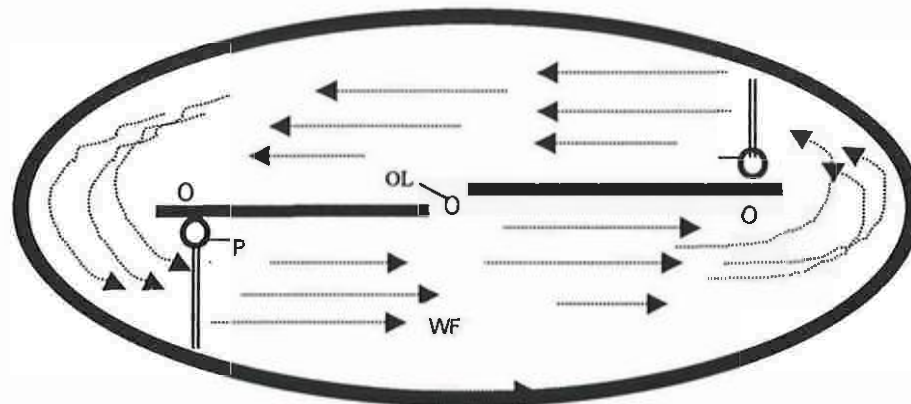
DAFTAR PUSTAKA

Seeley, H. W. and P. J. VanDemark. 1972. *Microbes in Action. A Laboratory Manual of Microbiology*. 2nd (ed.). W.H. Freeman and Company. San Francisco. 181 pp.

perkembangan kualitas air pada kolam, viabilitas BFA dan pertumbuhan udang windu yang dibudidaya pada kolam alir.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Puslitbang Limnologi dari bulan November s/d bulan Desember 2000. Kolam alir yang digunakan berupa kolam dari semen (beton) berbentuk oval berukuran 3 m x 9 m x 1,5 m dengan satu sekat ditengah (gambar 1), volume kolam yang terisi air sekitar 30 m³ atau luasan lahan 27 m² sebagai sarana budidaya udang windu dan uji BFA pada tambak skala pilot. Air kolam digerakan dengan 2 buah pompa submersibel (kapaistas 90 liter/detik dan 120 liter/detik).



Gambar 1. Skema Kolam alir (*race way*) model "Foster-Lucas"

Keterangan: P = pompa sub mersibel (2 buah)

OL = Lubang pembuangan

WF = arus air

Waktu penelitian selama 4 bulan (24 Novembar 2000 – akhir Maret 2001). dan air laut yang digunakan iperoleh dari laut jakarta (ancol, sea world).

Parameter kualitas air yang diamati ialah: pH, suhu, konduktivitas, turbiditas, DO, salinitas, total N, total P, BOD₅, Alkalinitas, nitrit, ammonia dan TOM. Sedangkan pengamatan kualitas air kolam harian hanya parameter pH, suhu, salinitas konduktivitas, turbiditas, kecerahan, warna air dan DO.

Tabel 1. Metode pengukuran parameter kualitas air

| No. | Parameter kualitas air | Metode/alat pengukuran |
|-----|--------------------------|--|
| 1 | pH air | <i>Water quality checker</i> (Horiba U-10) |
| 2 | Conduktivitas (mS/cm) | <i>Water quality checker</i> (Horiba U-10) |
| 3 | Turbiditas (NTU) | <i>Water quality checker</i> (Horiba U-10) |
| 4 | Suhu (°C) | <i>Water quality checker</i> (Horiba U-10) |
| 5 | Salinitas (ppt) | <i>Water quality checker</i> (Horiba U-10) |
| 6 | DO (mg/l) | Titrimetri (Winkler) |
| 7 | Total N (mg/l) | Spektrofotometri |
| 8 | Total P (mg/l) | Spektrofotometri |
| 9 | BOD ₅ (mg/l) | Titrimetri (Winkler) |
| 10 | TOM (mg/l) | Gravimetri |
| 11 | N-NO ₂ (mg/l) | Spektrofotometri |
| 12 | N-NH ₄ (mg/l) | Spektrofotometri |
| 13 | Alkalinitas (mg/l) | Titrimetri |

Parameter biologi yang diamati ialah : populasi bakteri fotosintetik anoksigenik alami yang ada dikolam, komposisi jenis dan kelimpahan plankton, dan pertumbuhan udang windu (melihat panjang dan berat udang).

Sampel plankton diambil secara komposit pada kolam alir dengan menyaring air sebanyak 20 liter dengan menggunakan net plankton NO. 25, kemudian disimpan pada botol sampel volume 16 ml, sampel diawetkan dengan larutan lugol 1%. Identifikasi plankton dilakukan di laboratorium puslitbang Limnologi dengan menggunakan panduan Davis (1955), Prescott (1962), Mizuno (1970), Newell and Newell (1971) dan Yamaji (1984).

Analisis data untuk menilai struktur komunitas plankton yaitu dengan melakukan penghitungan indeks keragaman Shannon Winer (H') dan indeks keseragaman (E), Odum (1971).

1. Indeks Keragaman Shannon Winer (H')

$$H' = - \sum P_i \ln P_i$$

dimana:

P_i = perbandingan antara individu ke-i dengan total individu.

2. Indeks Keseragaman (E), dengan rumus :

$$E = H' / \ln S$$

dimana: H' = indeks keragaman Shannon

S = jumlah jenis

Untuk mendapatkan isolat BFA yang terdapat dikolam alir dilakukan pengmabilan sampel air sebanyak 100 ml dan sedimen sebanyak 5 gr dengan menggunakan botol dan petridish steril. BFA diinokulasi dengan menggunakan media SWC agar (bakto pepton 5 gr, ekstrak yeas 1 gr, gliserol 3 gr, air laut 750 ml dan aquadest 250 ml dan bakto agar 15 gr), media disterilisasi pada autoklaf suhu 121 °C, tekanan 1 atm, selama 20 menit). Inokulasi BFA menggunakan metoda "*spread plate*" dengan pengenceran sampai 10^6 , inkubasi dilakukan selama 4 - 7 hari pada suhu kamar dengan diberi sinar lampu tungstram 40 watt. unit koloni BFA yang tumbuh dihitung dengan dmenggunakan *counter*.

Pengamatan pertumbuhan udang dengan mengukur panjang dan berat udang umur 47 hari sebanyak 35 ekor dengan menggunakan mistar skala 1 mm dan timbangan analitik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini masih berlangsung dan sebagian sampel masih dianalisa, seperti pengamatan plankton masih dalam proses identifikasi dan pembuatan BFA mutan rifamfisins (BFA rif) masih dalam proses isolasi, sehingga aplikasi BFA belum dapat dilaksanakan. Sampai tahap ini (15 Januari 2001) pengamatan yang sudah dapat dilaporkan adalah perkembangan kualitas air dikolam (tabel 2) dan pengamatan BFA alami dan pengamatan pertumbuhan udang windu pada umur 47 hari (gambar 1 dan 2).

(cawan tebar) dengan pengenceran 10^6 . BFA diinkubasi selama 1 sampai 2 x 24 jam pada kondisi seperti tersebut diatas.

Pengamatan populasi BFA dengan menghitung unit koloni BFA yang terbentuk dengan menggunakan konter dan jumlah sel BFA dihitung dengan rumus :

Sel BFA (mL) = $(1000/\text{vol BFA yang diinkulasi}) \times \text{Jumlah koloni} \times \text{Pengenceran}$

HASIL DAN PEMBAHASAN

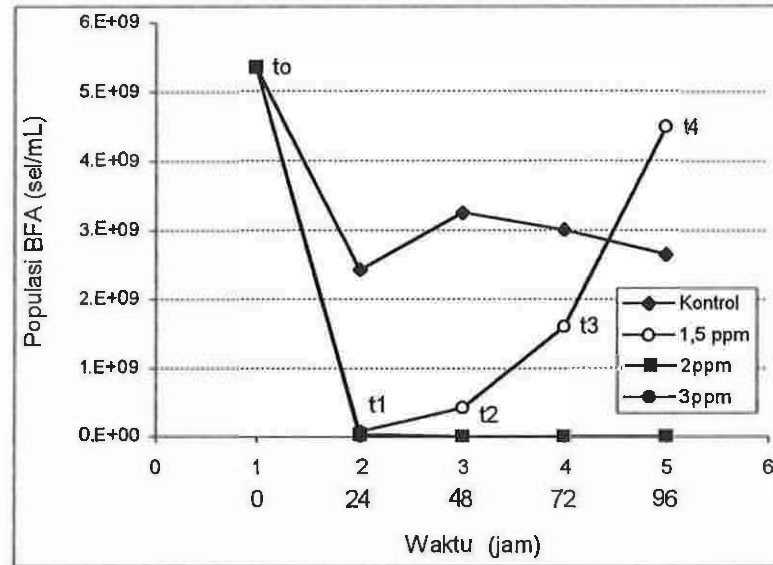
Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan BFA dapat tumbuh pada lingkungan yang mengandung logam berat Cu sampai konsentrasi 1,5 pp, sedangkan pada lingkungan yang mengandung Cu 2 hanya dapat bertahan setelah inkubasi 24 jam (Gambar 1).

Populasi BFA pada awal inkubasi (t_0) terjadi penurunan yang tajam baik pada kontrol maupun pada perlakuan, hal ini diduga karena BFA masih dalam fase adaptasi. Memasuki inkubasi setelah 24 jam (t_1) menuju ke masa inkubasi 48 jam, BFA memasuki fase Lag dimana bakteri mulai pertumbuhan lambat dan pembelahan konstan dan dilanjutkan dengan fase akselerasi (eksponensial) dimana terjadi kenaikan populasi sel yang cepat pada kontrol dan perlakuan logam Cu 1,5 ppm (perlakuan A).

Pada kontrol (tanpa perlakuan logam Cu) kenaikan populasi begitu cepat sehingga mencapai optimal pada inkubasi 48 jam dan setelah memasuki masa inkubasi 72 jam populasinya mulai menurun karena memasuki fase decline growth dimana jumlah bakteri dan makanan (nutrien) tidak seimbang dan semakin menurun ketika memasuki fase endogenous pada inkubasi 96 jam dimana jumlah bakteri yang mati bertambah dan bakteri hanya menggunakan energi simpanan ATP untuk respirasinya, selanjutnya bakteri mati. Kondisi ini terjadi diduga karena jumlah nutrien yang tersedia pada media (lingkungan) sudah berkurang sedangkan fase pertumbuhan masih terus berjalan sehingga kondisi BFA pada kontrol terjadi kompetisi makanan (*food competition*) sehingga fase stasionernya berlangsung cepat, dimana proses pembelahan sel (pertumbuhan) dan proses kematian berimbang. Sedangkan memasuki inkubasi 96 jam proses kematian sel lebih cepat karena sudah memasuki fase endogenous dimana proses pembelahan sel sudah terhenti dan bakteri hanya memanfaatkan energi simpanan.

Kondisi BFA yang tumbuh pada lingkungan yang mengandung logam Cu 2 ppm dan 3 ppm diperlihatkan pada gambar 2. Pada penambahan logam Cu sebesar 2 ppm,

terjadi kematian atau penurunan populasi BFA sampai 93,6% dalam waktu 24 jam (dari t_0 ke t_1) dan kematian BFA masih terus berlangsung hingga pada inkubasi 48 jam (t_2) jumlah bakteri yang tersisa hanya 3,2% dari jumlah awal penanaman bahkan pada 72 jam (t_3) dan 96 jam (t_4) semua sel BFA mati.

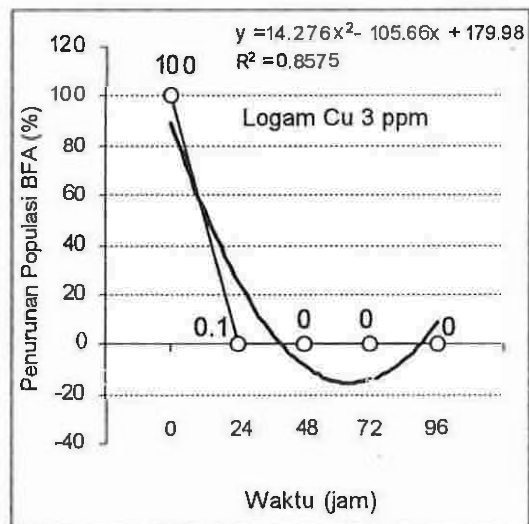
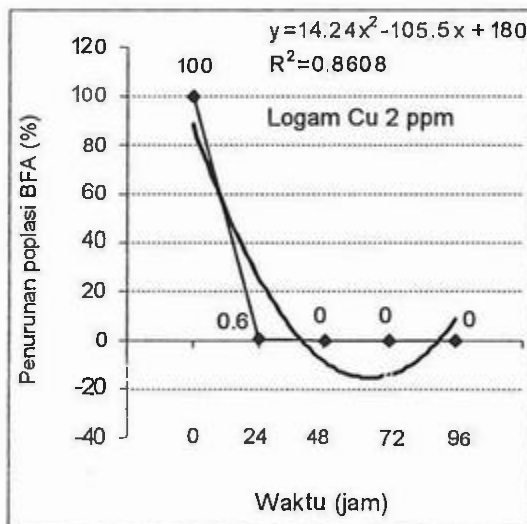
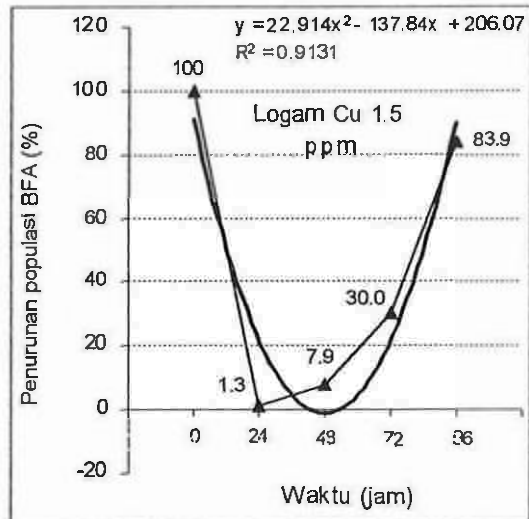
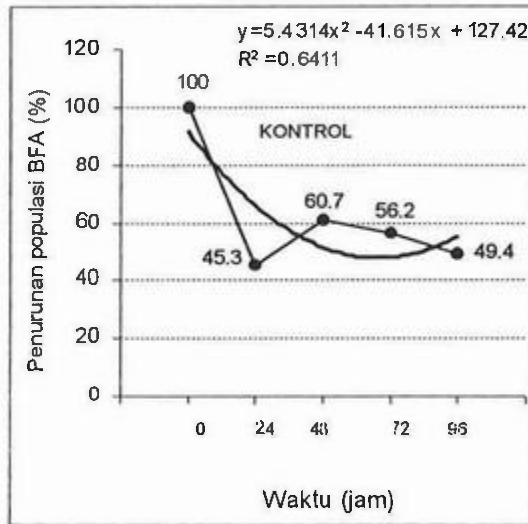


Gambar 2. Pertumbuhan BFA (%) pada lingkungan yang mengandung logam berat Cu dengan konsentrasi berbeda.

Penambahan logam Cu sebesar 3 ppm kematian BFA yang lebih besar lagi dibanding pada penambahan logam Cu 2 ppm yaitu 99,2% dalam waktu 24 jam (t_1) dan pada inkubasi 48 jam (t_2) tersisa hanya 0,3%. Pada inkubasi 72 jam (t_3) dan 96 jam (t_4) BFA sudah tidak ditemukan lagi pada medium. Ini menunjukkan bahwa kadar logam Cu 2 ppm dan 3 ppm sudah tidak dapat ditolerir dan konsentrasi mematikan bagi pertumbuhan BFA.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :



BFA dapat tumbuh pada lingkungan yang mengandung logam berat Cu (tembaga) konsentrasi 1,5 ppm, sedangkan pada konsentrasi 2 dan 3 ppm BFA sudah mati selang inkubasi 24 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. and R, Bartha, 1987. *Microbial Ecology, Fundamental and Aplications*. The Benyamin/Cumings Publ. Co. Menlo Park. California.
- Brock, T. D. and T. D. Madigan. 1991. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, New Jersey.
- Rusmana, I. , T. Widiyanto dan M. Badjoeri. 1988. Isolasi Bakateri Fotosintetik Anoksigenik dari Estuarin Daerah Karawang, Serang dan Sukabumi. Hasil-Hasil Penelitian Puslitbang Limnologi-LIPI. Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Hal. 391 – 397.
- Tjahyadi, R. M., S.L. Angka and A. Suwanto. 1994. Isolation and Evaluation of Marine Bacteria for Biocontrol of Luminous Bacterial Disease in Tiger Shrimp Larvae (*Penaeus monodon* Fab.). *Aspac. J. Mol. Biol. Biotechnol.* 2:347-352.
- Widiyanto, T. 1996. Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Sebagai Biokondisioner di Tambak Udang: Pengurangan Produksi H₂S dan Pengaruhnya pada Pertumbuhan *Vibrio harveyi*. Thesis. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor. 68 hal.
- Widiyanto, T., S. Yoyok dan M. Badjoeri. 1998. Uji Coba Pendahuluan Kemampuan Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA) Dalam Mereduksi Logam Berat Tembaga (Cu). Hasil-Hasil Penelitian Puslitbang Limnologi-LIPI. Pusat Penelitian dan Pengembangan Limnologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Hal 444 –448.