

ANALISIS KOMPARATIF DIVERSITAS BAKTERI PERAIRAN ANTAR LOKASI BERDASARKAN DAMPAK UMBALAN AIR DI WADUK CIRATA

Ike Rustikawati, M. Untung K.A, Rosidah dan Yuniar Mulyani

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad, Bandung

ike_rustikawati@yahoo.co.id

ABSTRAK

Waduk Cirata merupakan salah satu waduk yang di manfaatkan oleh masyarakat Jawa Barat sebagai tempat budidaya ikan dengan sistem keramba jaring apung (KJA). Pengembangan budidaya di KJA telah memberikan dampak positif dalam peningkatan produksi ikan dan pendapatan masyarakat. Tetapi fenomena umbalan air (*turn over*) yang seringkali terjadi di waduk Cirata menimbulkan kerugian yang sangat besar, karena menimbulkan kematian masal bagi ikan yang dibudidayakan di KJA yang terdampak, terutama pada ikan mas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis diversitas bakteri perairan Waduk Cirata dan membandingkan diversitas bakteri antara perairan yang sering terkena *turn over* dan jarang terkena *turn over*. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi keberhasilan dalam penanggulangan kematian ikan mas di KJA Waduk Cirata sehingga dapat meningkatkan produksi ikan mas di KJA Waduk Cirata. Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemeriksaan kualitas air Waduk Cirata dan analisis diversitas bakteri perairan secara molekuler meliputi isolasi DNA metagenome bakteri perairan, amplifikasi menggunakan primer gen 16s rRNA, DGGE dan analisis data. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan diversitas bakteri antara dua kondisi perairan yang berbeda di waduk Cirata, yaitu yang sering terkena *turn over* dan tidak terkena *turn over*.

Kata kunci : *Diversitas Bakteri Perairan, Gen 16s rRNA, DNA Metagenom, Turn over, Waduk Cirata*

PENDAHULUAN

Waduk Cirata merupakan salah satu waduk yang di manfaatkan oleh masyarakat Jawa Barat sebagai tempat budidaya ikan dengan sistem keramba jaring apung (KJA). Pengembangan budidaya di KJA telah memberikan dampak positif dalam peningkatan produksi ikan dan pendapatan masyarakat. Tetapi fenomena *turn over* yang seringkali terjadi di waduk Cirata menimbulkan kerugian yang sangat besar, karena menimbulkan kematian masal bagi ikan yang dibudidayakan di KJA yang terdampak, terutama pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Turn over* merupakan pembalikan massa air yang disebabkan oleh adanya perbedaan berat jenis air. Biasanya fenomena *turn over* ini terjadi saat curah hujan di hulu sungai menyebabkan volume air yang memiliki berat jenis tinggi akan

masuk ke badan perairan waduk. Menurut pembudidaya lokal, ikan mas Cirata dulu merupakan primadona di Jawa Barat, tetapi saat ini ikan tersebut mulai tersaingi oleh nila karena saat ini budidaya ikan mas di Cirata keuntungannya rendah. Hal ini dikarenakan ikan tersebut lebih rentan terhadap penyakit, dan apabila terjadi *turn over*, ikan tersebut yang terkena dampak kerugian paling besar.

Pembudidaya ikan di Waduk Cirata memiliki beberapa cara untuk membudidayakan ikan dalam KJA, salah satunya adalah KJA polikultur. Pada KJA polikultur di waduk Cirata, ikan di budidayakan dengan jenis ikan lain dalam satu KJA dan waktu yg bersamaan. Ikan yang berbeda jenis tersebut di pisahkan dengan menggunakan jaring tingkat. Pada umumnya jenis ikan nila di pelihara pada jaring bagian bawah dan ikan jenis lain seperti mas, patin, dan gurame di pelihara pada jaring bagian atas. Pada KJA polikultur ini pembudidaya memiliki segi keuntungan dari pakan ikan, karena pakan ikan yang tidak termakan oleh ikan jaring bagian atas akan terjatuh ke bawah dan di makan oleh ikan jaring bagian bawah. Namun memiliki kekurangan, yaitu semakin banyak ikan yang di budidayakan dalam KJA yang sama maka semakin banyak pula kandungan bahan organik dalam suatu perairan yang berasal dari sisa metabolisme ikan (feses dan urin). Akumulasi sisa pakan dan buangan hasil metabolisme yang tinggi akan meningkatkan resiko terhadap sumberdaya perikanan saat terjadi *turn over*. Pencampuran/pengadukan material organik di kolom air waduk dapat menyebabkan perubahan struktur komunitas bakteri di badan perairan tersebut. Limpasan material organik yang berasal dari dasar perairan pada saat terjadi *turn over* menjadi sumber kekayaan nutrien di badan perairan yang dapat memicu pertumbuhan komunitas bakteri yang memanfaatkan keberadaan nutrien yang ada (Jordaen and Bezuidenhout, 2013)

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis diversitas bakteri perairan Waduk Cirata dan membandingkan diversitas bakteri antara perairan yang sering terkena *turn over* dan jarang terkena *turn over* berdasarkan analisa DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*). Hasilnya diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi upaya penanggulangan kematian ikan mas di KJA Waduk Cirata sehingga dapat meningkatkan produksi ikan mas di KJA Waduk Cirata.

BAHAN DAN METODE

Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemeriksaan kualitas air Waduk Cirata dan analisis diversitas bakteri perairan secara molekuler meliputi isolasi DNA metagenome bakteri perairan, amplifikasi menggunakan primer gen 16s rRNA, DGGE dan analisis data.

Lokasi pengambilan sampel air meliputi daerah yang sering terkena *turn over* dan tidak pernah terkena, masing-masing dua titik, sehingga pengambilan sampel meliputi empat titik. Titik pengambilan sampel yang terpilih yaitu daerah Jangari dan Maleber tengah untuk daerah *non turn over*, serta Ciputri dan Kebon buah untuk daerah yang sering terkena *turn over*. Pengukuran parameter kualitas air dilakukan bersamaan dengan pengambilan sampel ikan mas pada tiap-tiap KJA yang telah ditentukan lokasinya. Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah suhu air, pH, tingkat kecerahan, DO (*Dissolved Oxygen*), BOD₅ (*Biological Oxygen Demand*), dan NH₃ (Amoniak).

Isolasi DNA Metagenom dari sampel air dilakukan dengan metode Bacosa *et. al.* (2010). DNA metagenom yang dihasilkan kemudian disimpan pada suhu - 20°C untuk keperluan penelitian tahap selanjutnya. DNA metagenom hasil isolasi kemudian juga divisualisasi melalui gel elektroforesis.

DNA yang telah diekstraksi dari perairan waduk Cirata kemudian dijadikan sebagai *template* dalam proses PCR untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA dengan menggunakan metode *nested* PCR. Proses PCR pertama dilakukan dengan menggunakan primer 27F dan 902R. PCR kedua merupakan amplifikasi menggunakan primer 338F-GC dan 518R, dan hasil PCR pertama digunakan sebagai *template* DNA. Produk PCR dianalisis dengan elektroforesis menggunakan gel agarosa 1%.

Pemisahan fragmen DNA yang berukuran sama namun berbeda urutan basa nukleotidanya dilakukan dengan menggunakan metode DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) berdasarkan protokol Muyzer *et. al.* (1993). Proses DGGE dilakukan melalui beberapa tahap yaitu peniapan larutan dan pembuatan gel, elektroforesis dan pewarnaan gel menggunakan *silver staining*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan sampel air dilakukan di 4 (empat) lokasi berbeda yang terkait kondisi turn over. Lokasi Maleber dan Jangari merupakan lokasi yang mewakili daerah yang jarang terjadi turn over, sedangkan lokasi kebon buah dan ciputri merupakan lokasi yang mewakili daerah yang terkena turn over. Dari data kualitas air yang tersaji pada Tabel 1 terlihat bahwa lokasi Maleber dan Jangari memiliki profil kualitas air yang relatif mirip. Kelarutan Oksigen (DO) di dua lokasi tersebut berada di kisaran 5,1 dan 6,1, dengan kondisi BOD berkisar 4,85 mg/L. Kondisi ini termasuk kondisi yang cukup menunjang pertumbuhan komunitas mikroba aerob di badan perairan waduk. Sementara itu Kebon Buah, lokasi yang menurut informasi dari pembudidaya setempat terkena dampak turn over sekitar sebulan yang lalu dari saat pengambilan sampel, ternyata memiliki profil karakter kualitas air yang menunjukkan kondisi pemulihan (*recovery*), terlihat dari nilai kelarutan oksigen (DO) yang berada di 7,5 dan BOD pada 11,35 mg/L. Hal ini berbeda dengan kondisi pada lokasi Ciputri, dimana lokasi ini merupakan lokasi yang kurang dari 4 hari dari saat pengambilan sampel mengalami dampak turn over. Kondisi DO yang rendah (4,4 mg/L) mengindikasikan adanya balikan material organik dari dasar perairan (Jordaan and Bezuidenhout, 2013)

Tabel 1. Data kualitas air sampel dari perairan Waduk Cirata

Parameter Kualitas Air	Stasiun/ lokasi			
	Kebon Buah (TO)	Maleber Tengah	Jangari	Ciputri (TO)
DO	7,5	5,1	6,1	4,4
BOD (mg/L)	11,35	4,85	4,85	3,25
Total NH ₄ (mg/L)	0,227	0,600	0,200	0,280
pH	8,55	8,39	8,07	8,00
Suhu (°C)	30	29	30	29
Kecerahan (cm)	74	64	89	64

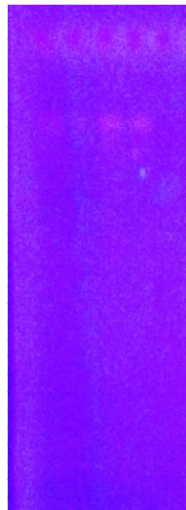
Keterangan : TO : daerah yang sering terkena turn over

Elektroforesis DNA metagenom bakteri perairan waduk Cirata

Analisis diversitas bakteri perairan secara molekuler diawali dengan isolasi DNA. Pendekatan analisis bakteri dapat melalui kultur, tetapi tidak semua bakteri dapat dikultur (*unculturable*) sehingga pada penelitian ini dilakukan pendekatan metagenom untuk menganalisis diversitas bakteri perairan agar pengamatan tidak terbatas pada bakteri yang dapat dikultur, tetapi diharapkan bakteri yang *unculturable* juga dapat teramati (Rivas, *et. al.*, 2009)

Hasil elektroforesis DNA metagenom merupakan isolat DNA dari berbagai macam organisme yang terdapat pada sampel. Elektroforegram pada Gambar 1 menunjukkan adanya pita tegas, walaupun sampel Jangari dan Maleber lebih tipis dibandingkan dengan Kebon Buah dan Ciputri. Hal ini mungkin disebabkan karena organisme dari perairan yang sering terkena turn over lebih banyak kuantitasnya, tetapi dari segi jenis bakterinya belum dapat teramati.

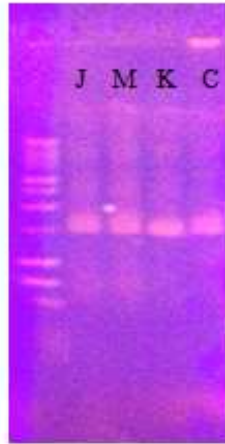
J M K C



Gambar 1. Elektroforegram Isolat DNA metagenom dari sampel air menggunakan gel agarosa 1%. (J) lokasi Jangari; (M) lokasi Maleber; (K) lokasi turn over Kebon Buah; (C) lokasi turn over Ciputri (TO)

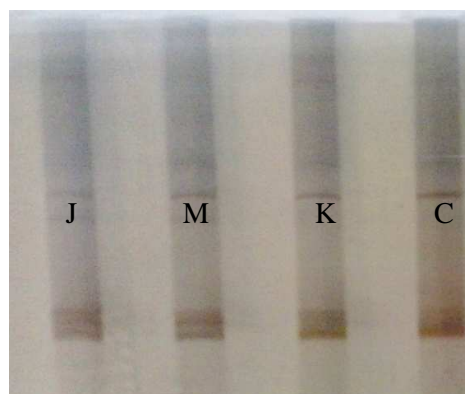
PCR dengan menggunakan primer 16s rRNA

DNA yang telah diekstraksi dari perairan waduk Cirata kemudian dijadikan sebagai *template* dalam proses PCR untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA. Keempat sampel yang diamplifikasi menghasilkan ampikon pada posisi sekitar 1000 bp (*base pairs*). Kemudian hasil amplifikasi tersebut di reamplifikasi dengan primer yang memiliki GC-clamp untuk kepentingan analisis DGGE.

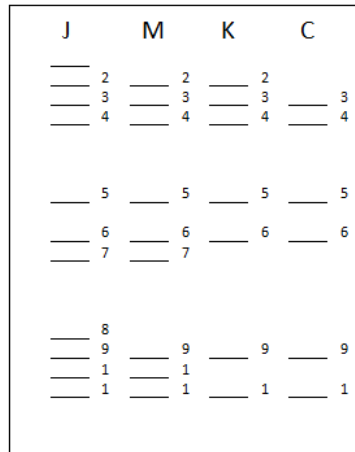


Gambar 2. Elektroforegram Fragmen gen 16S rRNA dari sampel air menggunakan gel agarosa 1%. (J) lokasi Jangari; (M) lokasi Maleber; (K) lokasi turn over Kebon Buah; (C) lokasi turn over Ciputri.

Profil DGGE fragmen 16S rRNA Sampel air Cirata



Gambar 3. Elektroforegram hasil DGGE dari komunitas bakteri dari sampel air menggunakan gel polyacrylamide 7% dengan gradien 30-80%. (J) lokasi Jangari; (M) lokasi Maleber; (K) lokasi turn over Kebon Buah; (C) lokasi turn over Ciputri.



Gambar 4. Ilustrasi profil hasil DGGE dari komunitas bakteri dari sampel air menggunakan gel polyacrylamide 7% dengan gradien 30-80%. (J) lokasi Jangari; (M) lokasi Maleber; (K) lokasi turn over Kebon Buah; (C) lokasi turn over Ciputri.

Berdasarkan analisa DGGE, dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan diversitas bakteri dari keempat lokasi pengambilan sampel. Lokasi Jangari dan Maleber memiliki kemiripan pada pola pita yang dihasilkan pada profil DGGE, artinya komunitas bakterinya juga memiliki kemiripan, karena lokasi-lokasi tersebut merupakan lokasi yang jarang terkena turn over. Begitu pula dengan pola pita yang dihasilkan pada profil DGGE di lokasi Kebon Bibit dan Ciputri memiliki kemiripan pada pola pitanya. Sebaliknya, pola pita komunitas bakteri yang dihasilkan antara Jangari dan Maleber cukup berbeda dibandingkan dengan lokasi Kebon Bibit dan Ciputri yang perairannya sering terjadi turn over. Jadi, perbedaan pola diversitas bakteri pada perairan antara lokasi yang jarang terjadi turn over dengan yang sering terjadi turn over berhasil dianalisis dengan metode DGGE.

KESIMPULAN

Hasil penelitian berdasarkan analisis DGGE menunjukkan adanya perbedaan diversitas bakteri antara dua kondisi perairan yang berbeda di waduk Cirata, yaitu yang sering terkena turn over dan tidak terkena turn over.

DAFTAR PUSTAKA

- Bacosa, H suto, k., and Inouc, C.2010. Refernctial Degradation Of Aromatic Hydrocarbons In Kerosene By A Microbial Consortium . Int. Biodeterior.Biodeg. Vol. 64(8), 702-710
- Debroas, D., Humbert, JF., Enault,F. Broner, G., Faubladier,M. And Cornillot,E. 2009. Metagenomic approach studying the axonomic and functional diversity of the bacterial community in a mesotrophic lake (Lac du Bourget – France). Environmental Microbiology (2009) 11 (9), 2412-2424.
- Jordaan, K. and CC Bezuidenhout. 2013. The Impact of phsyco-chemical water quality parameters on bacterial diversity in the Vaal River, South Africa. Water SA Vol, 39 No. 3.
- Muyzer, G., de Waal E.C., and Uitterlinden A.G. 1993.Profiling Of Complex Microbial Population By Denaturing Gradient Gel Elctrophoresis Analysis Of Polymerase Chain Reaction-Amplified Genes Coding For 16S rRNA. Applied And Envronmental Microbiolog, 59: 95-700
- Rivas, R., Fraile, PG., Mateos, PF,. Molina, EM,. Velazquez, E. 2009. Phylogenetic Diversity of Fast-Growing Bacteria Isolated from Superficial Water of Lake Martel, a Saline Subterranean Lake in Mallorca Island (Spain) Formed by Filtration from the Mediterranean Sea through Underground Rocks. Advance Studies in Biology, Vol. 1, no. 7, 333 – 344.