

## ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI NITRIFIKASI DI TAMBAK UDANG

Tri Widiyanto \*

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mencari dan menseleksi bakteri yang potensial sebagai biokondisioner senyawa metabolit toksik di tambak udang. Sampel air dan sedimen diambil dari tiga tambak dengan umur tanam udang yang berbeda, masing-masing 3 minggu (tambak Indokor di Serang), umur 2 bulan (tambak rakyat di Tangerang) dan umur 3 bulan (tambak semi-intensif di Kendari Sulawesi Tenggara). Seleksi dilakukan secara bertingkat terhadap kemampuan pemanfaatan senyawa amonia, nitrit dan nitrat. Kondisi kualitas air tambak di lokasi pengambilan sampel cukup baik, pH 7,2 – 8,76, konduktivitas 28,0 – 57,6 mS/cm, turbiditas 33,2 – 100,0 NTU dan DO 5,0 – 6,75 mg/L. Populasi bakteri heterotrofik pada lokasi pengambilan sample adalah: PT. Indokor di badan air  $28 \times 10^3$  sel/mL dan sedimen  $26,4 \times 10^5$  sel/mL, tambak Tangerang di badan air  $28 \times 10^4$  sel/mL dan sedimen  $5,3 \times 10^6$  sel/mL, tambak semi-intensif Kendari di badan air  $6,88 \times 10^9$  sel/mL dan sedimen  $23,3 \times 10^9$  sel/mL. Bakteri nitrifikasi yang terseleksi sebanyak 12 isolat dan yang potensial sebanyak 4 isolat yaitu ASL 2, ASL 3, ASR 2 dan ASR 3 yang mampu mengoksidasi ammonia, masing-masing sebesar 99,0%, 95,6%, 95,6% dan 89,6%.

**Kata kunci :** perairan budidaya tambak, ammonia, nitrit, nitrat, bakteri nitrifikasi, dan biokondisioner.

### ABSTRACT

**ISOLATION AND SELECTION OF NITRIFICATION BACTERIA ON SHRIMP POND.** The purpose of this study was to explore and select these bacteria as bioconditioner of toxic metabolite. Water and sediment sample was taken from 3 ponds location, i.e. intensive systems (PT Indokor, Serang, shrimp of 14-day-old from stocking time), semi-intensive systems (Kendari, South East Sulawesi, shrimp of 3-month-old from stocking time) and extensive systems (Tangerang Pond, shrimp of 2-month-old from stocking time). The isolation and selection by enrichment process was carried out in selective media and the capability to use toxic metabolite was analyzed. The ponds water quality condition was relatively good: i.e. pH 7.2 – 8.76, conductivity 28.0 – 57.6 mS/cm, turbidity 32.2- 100.0 NTU and dissolved oxygen 5.0 – 6.75, except at Tangerang shrimp pond, its salinity and temperature was relatively high, that was 3.8‰ and 31.4°C. The population of heterotrophic bacteria in PT Indocor was  $28 \times 10^3$  CFU/ml in water column,  $26.4 \times 10^5$  CFU/ml in sediment; Tangerang pond,  $28 \times 10^4$  CFU/ml in water and  $5,3 \times 10^6$  CFU/ml in sediment; Kendari pond  $6,88 \times 10^9$  CFU/ml in water and  $23,3 \times 10^9$  CFU/ml in sediment. The number of isolated nitrification bacteria was 12 isolates, and 4 isolates are potentials as bioconditioner of ammonia, those are ASL 2, ASL 3, ASR 2 and ASR 3, capable to oxidize ammonia, each of 99.0%, 95.6%, 95.6% and 89.6% respectively.

**Key word :** Shrimp culture, ammonia, nitrate, nitrite, nitrification bacteria, and bioconditioner.

---

\* Staf Peneliti Puslit Limnologi-LIPI Email : [tri@limnologi.lipi.go.id](mailto:tri@limnologi.lipi.go.id).

## PENDAHULUAN

Akumulasi senyawa organik, khususnya senyawa protein yang berasal dari sisa pakan sering kali menimbulkan dampak negatif bagi pertumbuhan udang yang dibudidayakan, yaitu akan diproduksinya senyawa metabolit toksik seperti ammonia, nitrit dan hidrogen sulfida. Hal ini berpengaruh terhadap tingkat kualitas air pada sistem tambak udang. Secara alamiah bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi merupakan kelompok bakteri yang mempunyai peranan sangat penting dalam proses degradasi senyawa tersebut.

Senyawa amonia juga bersifat toksik bagi udang. Mekanisme toksisitas ammonia pada organisme udang masih belum jelas diketahui (Schwedler, *et. al.*1985). Tetapi jumlah dan gejala fisiologis pada organisme yang dibudidayakan sudah dapat diketahui, yaitu terjadinya peningkatan jumlah senyawa ammonia pada jaringan dan darah. Kondisi tersebut akan berpengaruh pada nilai pH darah yang akan mengganggu reaksi enzimatik yang terdapat pada udang tersebut

Bakteri nitrifikasi berperan dalam mengoksidasi senyawa ammonia menjadi senyawa nitrit atau nitrat dalam kondisi aerobik. Sedangkan bakteri denitrifikasi berperan dalam reduksi nitrat, nitrit menjadi gas nitrogen. Bakteri denitrifikasi mempunyai 3 jenis enzim nitrat reduktase, yaitu sitoplasma assimilatori (Nas), membran respiratori (Nar) dan periplasma desimilatori (Nap). Sebagai ko-faktor dari enzim tersebut adalah molibdenum. Kondisi tersebut memungkinkan aktivitas kelompok bakteri denitrifikasi pada kondisi aerobik maupun an-aerobik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri nitrifikasi endemik yang berasal dari perairan tambak Indonesia yang potensial dikembangkan sebagai pengendalian senyawa metabolit toksik. Mengidentifikasi dan melihat karakteristik isolat terseleksi.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini akan dilakukan selama 12 bulan pada bulan September 2003 sampai dengan Agustus 2004. Lokasi penelitian di Lab. Mikrobiota dan Lab. Basah Puslit Limnologi LIPI, Sampel air diambil dari lingkungan tambak udang PT. Indocor, tambak rakyat di Serang dan tambak semi intensif di Kecamatan Moramo Kabupaten Kendari, Sulawesi Tenggara. Terhadap masing-masing tambak lokasi sampling dilakukan pengamatan beberapa parameter kualitas air secara umum, dengan menggunakan *Water Quality Checker* Horiba U -10 dan deteksi populasi bakteri heterotrofiknya. Media yang akan digunakan untuk isolasi dan seleksi, adalah : media cair dan agar amonium sulfat, media nitrat, dan media basal (Cappucino dan Sherman, 1983). Peralatan yang akan digunakan meliputi: *Anaerobic Jar* BBL (Oxoid) lengkap dengan generator gas pak.

Parameter kimia yang dianalisis pada kegiatan ini meliputi: konsentrasi amonia, nitrit, dan nitrat. Pengukuran konsentrasi amonia digunakan dasar kolorimetri, metode *phenate* (Cleseri *et al.* 1989). Metode yang digunakan untuk analisis senyawa nitrit adalah metode sulfanilamide (Cleseri *et al.* 1989). Penetapan senyawa nitrit didasarkan pada reaksi diazotasi, dimana nitrit dengan amina aromatik pada sulfanilamide akan membentuk diazonium. Senyawa tersebut dengan NED (*N-1-Naphtyl ethylene diamine dihydrochloride*) membentuk gugus kromofor yang berwarna merah muda dan dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Metode yang digunakan untuk analisis senyawa nitrat adalah metode brusin (Cleseri *et al.* 1989). Senyawa nitrat akan dihidratasi oleh H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, membentuk nitrit yang bersifat elektrofilik reaktif. Senyawa tersebut akan bereaksi dengan brusin (C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) membentuk gugus kromofor (N-NO<sub>2</sub>), yang akan memberi warna kuning pada brusin

(MERCK, Jerman) dan dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm.

Pengambilan Contoh Air pada Tambak Udang, Sampel air diambil secara langsung dari setiap lokasi tambak udang menggunakan botol sampel steril volume 500 ml (SCHOTT DURAN, Jerman). Sampel diambil pada bagian *inlet* (pemasukan air) dan *outlet* (pengeluaran air), bagian tambak yang relatif tenang (tidak terdapat sirkulasi air aktif), pada bagian sudut kolam, serta bagian sisi kolam yang terdapat sirkulasi air aktif. Sampel air diambil pada permukaan tambak. Contoh air dan sedimen tersebut dimasukkan dalam kotak es volume 24 liter. Analisis dilakukan di laboratorium Mikrobiota Puslit Limnologi LIPI Cibinong–Bogor.

Media yang digunakan untuk isolasi dan seleksi terdiri dari dua macam, yaitu media autotrof (tanpa sumber karbon organik) dan media heterotrof (glukosa sebagai sumber karbon) dengan amonia sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Komposisi media nitrifikasi adalah sebagai berikut: 13,5 g  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ ; 0,7 g  $KH_2PO_4$ ; 0,1 g  $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ ; 0,5 g  $NaHCO_3$ ; 0,014 g  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ; 0,18 g  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ; 0,1 g  $NH_4Cl$ ; 0,2 g EDTA, 0,5 g glukosa (untuk media heterotrof), dan 15 g agar Bakto (untuk media padat) dalam 1000 ml aquades. Untuk media autotrof tidak ditambahkan glukosa (Rodina, 1972).

Media cair steril tersebut dituangkan ke dalam 15 buah Erlenmeyer steril volume 125 ml, masing-masing sebanyak 25 ml. Sebanyak 5 ml untuk contoh air ditambahkan ke dalam 25 ml medium pengkayaan pada Erlenmeyer 250 ml. Inkubasi dilakukan selama 21 hari pada suhu ruang (28–31) $^{\circ}C$  di atas inkubator berpeggoyang. Suspensi kultur yang memperlihatkan pertumbuhan dilakukan deteksi secara kualitatif senyawa nitrit atau nitrat dengan metode sulfanilamid dan metode brusin (Cleseri *et al.* 1989). Hasil

positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah dan kuning.

Sebanyak 5 ml suspensi diinokulasikan pada media cair dengan sumber amonia dari amonium klorida dalam konsentrasi dan kondisi inkubasi yang sama pada tahap isolasi. Sebanyak 1 lup kultur hasil pengkayaan digoreskan dengan metode kuadran pada media agar nitrifikasi dan diinkubasi pada suhu ruang, selama empat hari. Koloni yang terpisah dimurnikan kembali dengan digores ulang pada media agar nitrifikasi tersebut (Cappucino dan Sherman, 1983).

Seleksi tahap awal dilakukan untuk melihat pola pertumbuhan isolat bakteri nitrifikasi, baik pada mediaum kaya maupun miskin akan nutrien. Seleksi selanjutnya dilakukan untuk mencari isolat bakteri nitrifikasi yang mempunyai aktivitas oksidasi senyawa amonia paling baik. Masing-masing isolat bakteri hasil isolasi ditumbuhkan pada media cair nitrifikasi pada suhu ruang (28 – 31) $^{\circ}C$  selama 2 hari. Sebanyak 1 ml biakan starter diinokulasikan ke dalam 25 ml media nitrifikasi baru dengan konsentrasi amonia sekitar 4,65 mM di dalam Erlenmeyer 150 ml. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang (28 - 31) $^{\circ}C$  di atas inkubator berpeggoyang dengan kecepatan 80 rpm, selama 14 hari. Sebagai kontrol digunakan media yang sama yang tidak diinokulasi isolat bakteri. Analisis sampel kultur diambil pada waktu inkubasi 7 hari. Suspensi bakteri uji dipisahkan terlebih dahulu dengan cara disaring dengan kertas saring steril Whatman *Cellulose nitrate* nomor 7140 104 tipe WCN, dengan mesh 0,45  $\mu m$ , diameter 47 mm, pada pompa vakum *Nalgene filter holder* PSF diameter 47 mm Volume 500 ml (Rochester, USA) dan digunakan Aspirator EYELA Tipe A-3S (Rikakikai Co. Ltd. Jepang). Konsentrasi amonia, nitrat dan nitrit dalam filtrat diukur dengan metode spektrofotometri (Cleseri *et al.* 1989).

Kemudian dihitung persentase jumlah amonia yang teroksidasi dan senyawa nitrat atau nitrit yang terbentuk dihitung. Uji aktivitas nitrifikasi lebih lanjut dari isolat bakteri nitrifikasi hasil isolasi dilakukan dengan metode yang sama seperti sebelumnya dengan interval waktu pengamatan yang lebih pendek, yaitu pada hari ke 0, 2, 3, 5 dan 7. Parameter yang diamati meliputi: konsentrasi amonia, nitrat, nitrit dan nilai kerapatan optik sel (OD) pada media uji pada spektrofotometer UV VIS – 120-20 Shimadzu, Jepang pada panjang gelombang 540 nm. Sebanyak 4 ml suspensi kultur dimasukkan ke dalam tabung kuvet dan diukur nilai absorbansinya, sebagai kontrol (absorbansi yang dibuat nol) digunakan media steril. Hasil analisis uji tersebut dipilih empat isolat yang mempunyai aktivitas mengoksidasi amonia dengan baik untuk digunakan dalam uji seleksi selanjutnya (sinergisme aktivitas bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi skala laboratorium).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran fisik dan pola tanam tambak dapat dilihat pada Tabel 1. Secara umum keadaan parameter kimia dan biologis kualitas air pada ketiga tambak

pengambilan contoh air dan sedimen cukup baik, namun pada tambak rakyat di Tangerang mempunyai suhu dan salinitas yang tinggi, mencapai 31,4°C dan 3,8% (Tabel 2). Hal tersebut disebabkan oleh kondisi tambak yang dangkal dengan kedalaman air sekitar 80 cm. Sedangkan salinitas air yang tinggi disebabkan oleh sistem pergantian air yang tidak sempurna, yaitu hanya mengandalkan pasang surut air laut. Poernomo (1988) mengemukakan bahwa salinitas yang optimal untuk budidaya udang windu sekitar 1,5-2,5% dan pertumbuhan udang akan terhambat pada salinitas air sebesar 3,5-4,0%.

Parameter pH, oksigen terlarut, konsentrasi nitrit dan amonia dari ketiga tambak kondisinya masih relatif baik untuk pertumbuhan udang. Nilai pH dari ketiga tambak pengambilan sampel berkisar antara 7,8-8,7, oksigen terlarut nilainya antara 5,0-6,8 mg/l, konsentrasi nitrit antara 0,001–0,016 mg/l, dan konsentrasi amonia antara 0,06-0,36 mg/l. Lester dan Pante (1992) mengemukakan bahwa nilai pH, oksigen terlarut dan konsentrasi amonia yang dianjurkan dalam usaha budidaya udang adalah sebagai berikut pH : 7,0-9,0; oksigen terlarut sekitar 3,5 mg/l–jenuh; dan amonia yang aman bagi pertumbuhan udang adalah lebih kecil dari 0,25 mg/l.

Tabel 1. Kondisi fisik dan pola budidaya pada ketiga tambak tempat pengambilan contoh air dan sedimen

No.	Kondisi fisik	Serang	Kendari	Tangerang
1.	Luasan kolam (m <sup>2</sup> )	3000	3600	6000
2.	Padat penebaran (ekor benur / m <sup>2</sup> )	12	20	1
3.	Kedalaman air (cm)	120	100	80
4.	Umur udang dari mulai tebar (hari)	21	100	60
5.	Aerasi/sirkulasi air	kincir, 4 buah	kincir, 2 buah	tidak ada
6.	Sistem budidaya	intensif *	semi-intensif	ekstensif/polikultur dengan bandeng
7.	Pergantian air	pompa	pompa	pasang surut

\* Berdasarkan teknologi yang digunakan, tetapi padat penebaran rendah karena merupakan operasional awal (tidak berproduksi selama sekitar 4 tahun).

Jumlah total bakteri heterotrofik yang hidup pada badan air memperlihatkan kecenderungan yang meningkat dengan bertambahnya umur udang atau waktu tebar. Pada tambak udang yang baru tebar (umur udang masih muda), jumlah bakteri heterotrofiknya lebih kecil dan jumlahnya semakin tinggi pada tambak udang yang menjelang panen. Pada tambak di Serang (PT Indokor), dengan umur udang atau waktu tebar 21 hari memperlihatkan jumlah bakteri heterotrofik yang paling kecil, yaitu sekitar  $2,8 \times 10^4$  cfu/ml pada badan air dan  $2,6 \times 10^6$  cfu/gram pada sedimen. Sedangkan tambak di Kendari - Sulawesi dengan umur udang mencapai 100 hari memperlihatkan jumlah bakteri heterotrofik yang paling tinggi, yaitu sebesar  $6,9 \times 10^9$  cfu/ml pada badan air dan  $23,3 \times 10^9$  cfu/gram pada sedimen.

pada sedimen sebesar  $1,2 \times 10^6$  cfu/gram. Oleh karena itu kondisi bakteri heterotrofik pada ketiga tambak pengambilan sampel tersebut masih relatif baik untuk kelangsungan hidup udang yang dibudidayakan.

### Isolasi dan Karakterisasi Morfologis Bakteri Nitrifikasi

Sebanyak delapan sampel air dan enam sampel sedimen yang berasal dari tambak udang di Serang, Tangerang, dan Kendari telah dapat diisolasi sebanyak 13 isolat yang diduga merupakan isolat bakteri nitrifikasi. Lima isolat berasal dari tambak Serang (PT Indokor), yang terdiri dari tiga isolat berasal dari media yang bersifat autotrof dan dua isolat berasal dari media yang bersifat heterotrof (media nitrifikasi yang ditambah dengan glukosa 0,1%). Tiga

Tabel 2. Kondisi kualitas air pada tambak pengambilan contoh air dan sedimen

No.	Parameter	Satuan	Serang	Kendari	Tangerang
1.	pH		7,6 - 7,9	7,2 - 7,5	8,3 - 8,8
2.	Konduktifitas	mS/cm	28,0	63,4	57,6
3.	Turbiditas	NTU	33,2	55,7	100,0
4.	DO	mg/l	6,8	6,2	5,0
5.	Salinitas	%	1,7	2,6	3,8
6.	Suhu air	°C	29,0	30,5	31,4
7.	Amonia	mg/l	0,37	0,11	0,06
8.	Nitrit	mg/l	0,001	0,016	0,001
9.	Bakteri heterotrofik badan air	cfu/ml	$2,8 \times 10^4$	$6,9 \times 10^9$	$2,8 \times 10^5$
10.	Bakteri heterotrofik sedimen	cfu/gram	$2,6 \times 10^6$	$23,3 \times 10^9$	$5,3 \times 10^6$

Jumlah bakteri pada sedimen lebih tinggi dari pada di badan airnya. Kondisi tersebut diakibatkan oleh adanya kandungan nutrisi yang berbeda, yang berasal dari sisa pakan tambahan (pellet). Devaraja, *et al.* (2002) melaporkan bahwa kandungan bakteri heterotrofik pada badan air tambak sistem intensif dengan produksi udang sebesar 4,9 - 5,8 ton ha<sup>-1</sup>, berkisar antara  $1,8 \times 10^4$  cfu/ml sampai  $6,3 \times 10^4$  cfu/ml. Sedangkan kandungan bakteri heterotrofik

isolat berasal dari tambak tradisional di Tangerang, sebanyak dua isolat berasal dari media autotrof dan satu isolat dari media heterotrof. Sedangkan dari tambak semi-intensif di Kendari diperoleh lima isolat, yang terdiri dari tiga isolat berasal dari media yang bersifat autotrof dan dua isolat dari media yang bersifat heterotrof. Secara morfologis isolat-isolat tersebut memperlihatkan koloni berwarna putih, putih susu, kuning keputihan, dan kuning

kehijauan, dengan tiga ukuran koloni yang berbeda, yaitu kecil ( $\leq 0,2$  mm), sedang ( $0,2 - 0,5$  mm) dan besar ( $\geq 0,5$  mm).

Morfologi sel dan koloni isolat bakteri nitrifikasi hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil pewarnaan Gram memperlihatkan bahwa 11 isolat bersifat Gram negatif dan satu isolat bersifat Gram positif, yaitu isolat HSRT1. Sebanyak enam isolat berbentuk batang, enam isolat berbentuk bulat, dan satu isolat berbentuk spiral. Buchanan dan Gibbon, (1974) mengemukakan bahwa bakteri nitrifikasi umumnya bersifat Gram negatif, dan bersifat aerobik dengan habitat yang menyebar, yaitu di air laut, air tawar maupun tanah. Hasthings *et al.* (1998), melaporkan bahwa deteksi secara molekular bakteri nitrifikasi pada sistem perairan danau air tawar pada umumnya termasuk dalam jenis bakteri *Nitrosospira* dan tidak terdeteksi dari jenis *Nitrosomonas*.

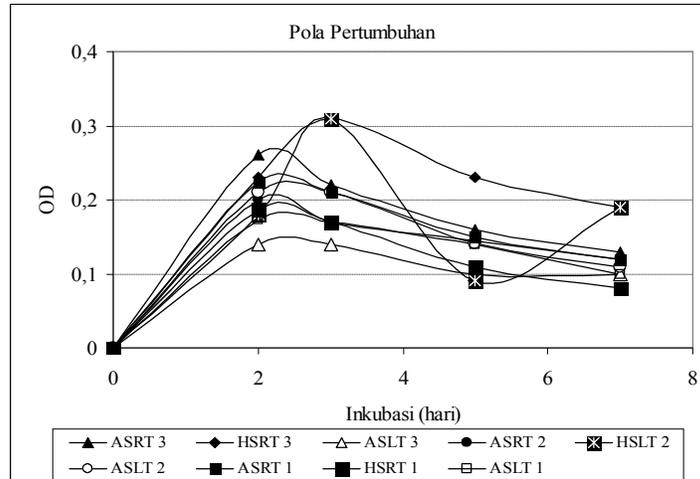
(HSRT2) dan Tangerang (HTRT3) pertumbuhannya paling cepat dengan nilai OD pada panjang gelombang 540 nm, maksimal sebesar 0,33 dan 0,31 yang dicapai pada inkubasi tiga hari pada suhu ruang ( $28-31$ ) $^{\circ}$ C. Sedangkan isolat yang berasal dari media yang bersifat autotrof mempunyai laju pertumbuhan yang relatif lebih lambat dengan nilai OD yang lebih rendah (Gambar 1). Hal ini disebabkan media yang digunakan bersifat heterotrof, sehingga memberikan kondisi yang lebih sesuai untuk kelompok isolat bakteri yang berasal dari media heterotrof. Isolat yang berasal dari media heterotrof akan memanfaatkan sumber karbon dari glukosa. Isolat tersebut akan mengoksidasi glukosa melalui siklus asam sitrat. Proses tersebut didapatkan 38 ATP per molekul glukosa. Sedangkan isolat yang berasal dari media autotrof hanya akan memanfaatkan amonia sebagai sumber energinya. Proses oksidasi

Tabel 3. Morfologi koloni dan sel isolat bakteri nitrifikasi hasil isolasi dari tambak di Tangerang, Serang dan Kendari.

No.	Kode Isolat	Asal	Media isolasi	Kenampakan koloni	Bentuk sel
1.	ASRT1	Serang	autotrof	kecil, kuning putih	Bulat
2.	ASRT2	Serang	autotrof	sedang, kuning tua	Bulat
3.	ASRT3	Serang	autotrof	sedang, kuning tua	Batang pendek
4.	HSRT1	Serang	heterotrof	kecil, merah tua	Spiral
5.	HSRT2	Serang	heterotrof	besar, tengah kuning, pinggir bening	Batang
6.	ASLT1	Kendari	autotrof	sedang, putih susu	Batang panjang
7.	ASLT2	Kendari	autotrof	kecil, putih susu	Bulat
8.	ASLT3	Kendari	autotrof	besar, kuning, sisi, bergerigi bening	Bulat
9.	HSLT1	Kendari	heterotrof	sedang, kuning kehijauan	bulat
10.	HSLT2	Kendari	heterotrof	kecil, putih bening	Batang pendek
11.	ATRT1	Tangerang	autotrof	kecil, putih susu	Batang pendek
12.	ATRT2	Tangerang	autotrof	sedang, putih susu kekuningan	Batang pendek
13.	HTRT3	Tangerang	heterotrof	sedang, putih susu	Bulat

Seleksi Aktivitas Isolat Bakteri Nitrifikasi, Pertumbuhan isolat bakteri nitrifikasi pada media cair dengan sumber amonia dari Amonium Klorida yang bersifat heterotrof memperlihatkan pola yang berbeda. Isolat yang berasal dari media yang bersifat heterotrofik dari tambak Kendari

dari satu molekul amonia hanya menghasilkan 2 ATP per molekulnya, sehingga mendapatkan energi yang lebih sedikit dari pada isolat yang berasal dari media heterotrof. Hal ini yang menyebabkan perbedaan pertumbuhan dari kedua kelompok isolat tersebut.

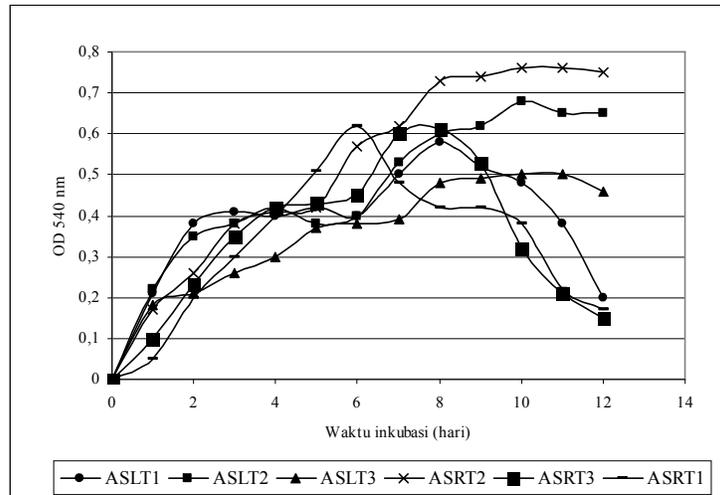


Gambar 1. Pertumbuhan Isolat Bakteri Nitrifikasi Hasil Isolasi pada Media Cair Dengan Sumber Nitrogen Amonium Klorida dan Bersifat Heterotrof Pada Suhu Ruang (28–31)<sup>o</sup>C.

Sedangkan pola pertumbuhan semua isolat hampir seragam, dengan fase eksponensial dicapai pada inkubasi hari ke satu hingga hari ke dua, fase stasioner pada inkubasi hari ke dua sampai ke tiga. Inkubasi hari ke empat, pertumbuhan sudah masuk pada fase kematian. Pada inkubasi hari ke empat diperkirakan nutrisi yang tersedia pada media sudah mengalami penurunan. White (1995) mengemukakan bahwa nutrisi merupakan salah satu faktor pembatas dalam pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu secara keseluruhan semua isolat uji dapat tumbuh dengan baik pada media nitrifikasi yang bersifat heterotrof.

Pertumbuhan isolat nitrifikasi

pada media cair SWC 10% (media dengan kandungan nutrisi rendah) memperlihatkan pola yang berbeda. Isolat ASRT2 mempunyai kepadatan populasi yang paling tinggi (OD maksimal ± 1,09) dan mencapai pertumbuhan stasioner pada inkubasi hari ke-7. Isolat ASRT2 dan ASLT2 menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang paling baik, yaitu sampai inkubasi hari ke-12 masih memperlihatkan fase pertumbuhan stasioner, sedangkan isolat lainnya (ASRT1, ASRT3, ASLT1, dan ASLT3) sudah mengalami fase kematian. Isolat ASLT1 memperlihatkan kepadatan populasi yang paling rendah, yaitu mempunyai nilai OD maksimal ± 0,58 pada inkubasi hari ke delapan (Gambar 2).



Gambar 2. Pola pertumbuhan isolat bakteri nitrifikasi hasil isolasi pada media cair *SWC* 10%, suhu ruang (28-31)°C.

Isolat-isolat bakteri nitrifikasi dalam mengoksidasi senyawa amonia selama tujuh hari inkubasi memperlihatkan kemampuan yang berbeda, yaitu berkisar antara 20,7% - 99,0%. Tujuh isolat mempunyai aktivitas oksidasi amonia yang tinggi, yaitu 89,6 - 99,0% dari amonia yang ditambahkan (4,65 mM). Isolat-isolat tersebut terdiri dari lima isolat yang berasal dari media yang bersifat autotrof (ASRT1, ASRT2, ASRT3, ASLT2, dan ASLT3), dan dua isolat yang berasal dari media yang bersifat heterotrof, yaitu HSRT1 dan HSRT2 (Tabel 4).

Amonia yang teroksidasi diubah menjadi senyawa nitrat. Hal ini dapat dilihat dari terbentuknya senyawa nitrat pada media, walaupun senyawa nitrat yang terbentuk pada inkubasi hari ke tujuh masih relatif rendah (Tabel 4). Senyawa nitrat pada umumnya dihasilkan oleh kelompok isolat-isolat bakteri nitrifikasi yang berasal dari media yang bersifat autotrof. Persentase terbentuknya senyawa nitrat berkisar antara 2,4 - 18,5% dan tertinggi dihasilkan oleh isolat ASRT3 sebanyak 18,5%, kemudian diikuti oleh isolat ASRT1 sebanyak 7,6%. Beberapa isolat lainnya tidak terdeteksi terbentuknya senyawa nitrat pada media

yang diinkubasi selama tujuh hari, khususnya isolat yang berasal dari media yang bersifat heterotrof, diantaranya isolat HSRT2, HSLT1, HSRT2, dan HTRT3.

Isolat-isolat yang berasal dari media yang bersifat heterotrofik, dapat mengoksidasi amonia sekitar 5,3% sampai dengan 97,8% dan isolat yang mengoksidasi amonia paling tinggi adalah HSRT1 dan HSRT2. Kedua isolat tersebut dapat mengoksidasi amonia sebanyak 97,7% dan 97,8%. Sedangkan isolat HSLT1, HSLT2, HTRT2, dan HTRT3 masing-masing dapat melakukan oksidasi senyawa amonia sebesar: 5,33%, 39,96%, 20,69%, dan 55,53% (Tabel 4). Sebagian besar isolat-isolat yang berasal dari media yang bersifat heterotrofik tidak menghasilkan senyawa nitrat, kecuali isolat HSRT1 yang dapat memproduksi senyawa nitrat, sebesar 3,73%. Isolat-isolat yang berasal dari media yang bersifat heterotrof akan memanfaatkan sumber energi dari glukosa yang tersedia dalam media. Senyawa amonia yang dioksidasi digunakan sebagai bahan pembentuk nitrogen organik. Selain itu kemungkinan senyawa amonia diubah menjadi senyawa hidroksilamin.

Tabel 4. Kemampuan isolat nitrifikasi dalam mengoksidasi senyawa amonia dan besarnya senyawa nitrat yang dihasilkan selama inkubasi tujuh hari.

No.	Isolat	Amonia teroksidasi		Nitrat yang dihasilkan	
		mM	%	mM	%
1.	ASRT 1	4,33	93,13	0,33	7,62
2.	ASRT2	4,44	95,59	0,12	2,75
3.	ASRT 3	4,16	89,59	0,99	18,51
4.	ASLT1	3,85	82,80	0,14	3,64
5.	ASLT 2	4,60	99,02	0,11	2,40
6.	ASLT3	4,44	95,56	0,14	3,23
7.	ATRT 1	2,54	54,62	0,20	7,87
8.	ATR T2	0,96	20,69	0,0	0,0
9.	HSRT1	4,56	97,67	0,17	3,73
10.	HSRT2	4,55	97,78	0,0	0,0
11.	HSLT1	0,25	5,33	0,0	0,0
12.	HSLT2	1,86	39,96	0,0	0,0
13.	HTRT3	2,58	55,53	0,0	0,0
18.	Kontrol	0,16	3,5	0,0	0,0

Keterangan : amonia awal 4,65 mM.

Setelah senyawa amonia pada media habis kemungkinan isolat-isolat tersebut akan menggunakan nitrit sebagai sumber energinya, sehingga tidak terjadi akumulasi pada media. Selain itu senyawa nitrit bersifat reaktif, sehingga akan teroksidasi secara spontan. Kondisi tersebut hampir menyerupai pada sistem perairan yang bergerak, senyawa nitrit akan dioksidasi dengan cepat (Weiner, 2000). Boyd (1990) melaporkan bahwa pada sistem perairan permukaan atau yang mempunyai kandungan oksigen tinggi, senyawa nitrit sangat jarang ditemukan. Senyawa nitrit banyak terakumulasi pada sistem sedimen atau bagian air yang menggenang. Lebih lanjut Bock *et al.* (1991) mengemukakan bahwa pada kultur organisme kelompok bakteri nitrifikasi yang bersifat heterotrofik, senyawa nitrit hanya akan dihasilkan jika aktivitas enzim nitrit reduktase dihambat oleh kandungan oksigen yang rendah.

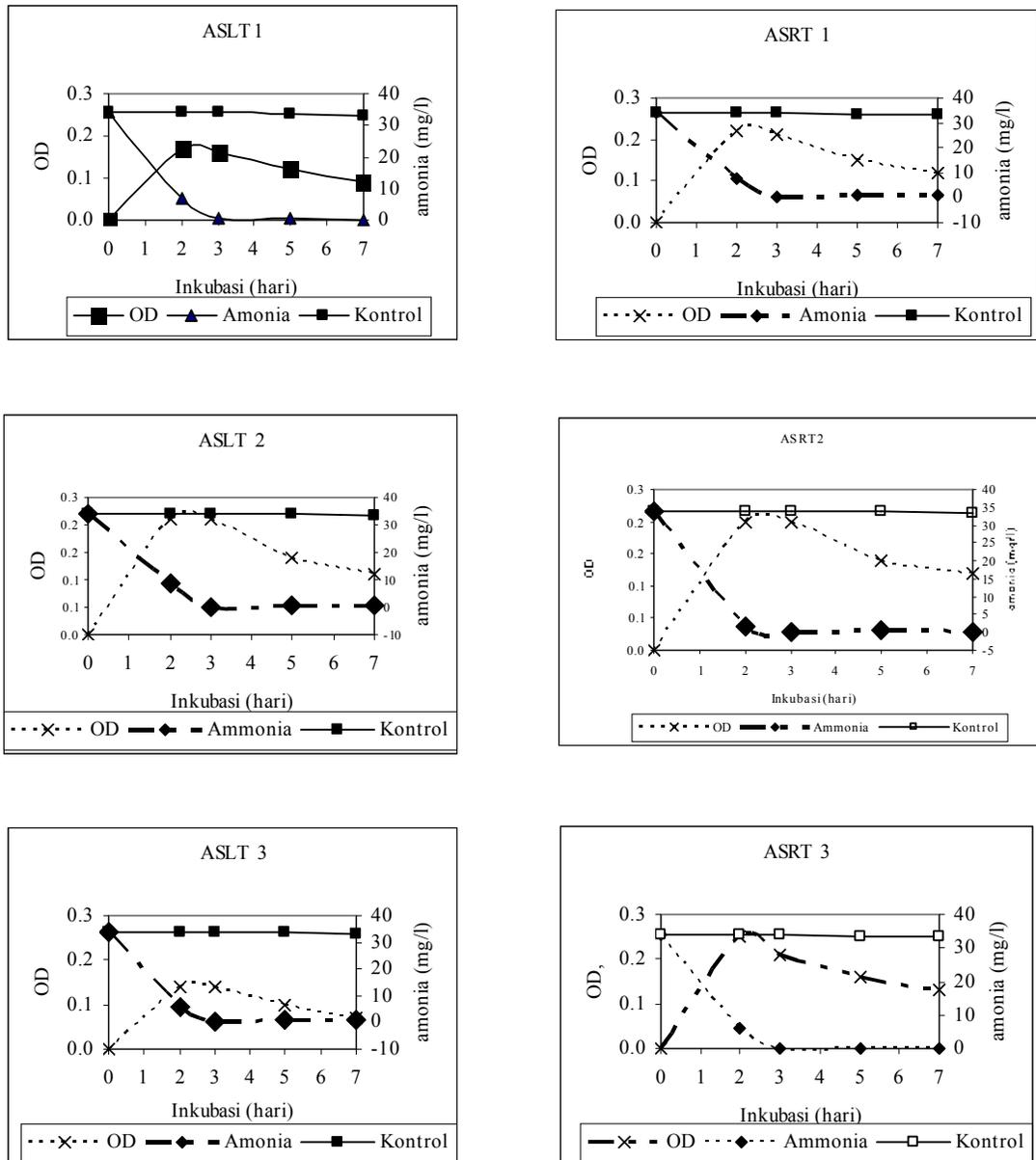
Kelompok bakteri nitrifikasi yang berasal dari media yang bersifat autotrof mempunyai potensi yang lebih baik sebagai agen bioremediasi senyawa amonia. Atlas dan Barta (1998) mengemukakan bahwa kelompok bakteri nitrifikasi yang bersifat

autotrof mempunyai peranan yang sangat tinggi dalam siklus biogeokimia senyawa nitrogen. Seleksi untuk menentukan isolat yang potensial adalah berdasarkan kemampuan atau aktivitasnya dalam mengoksidasi amonia, laju pertumbuhan pada berbagai kondisi media, dan produk samping yang dihasilkan. Berdasarkan hasil-hasil seleksi tersebut memperlihatkan bahwa isolat yang berasal dari media yang bersifat autotrof berpotensi sebagai agen bioremediasi senyawa amonia dalam sistem perairan tambak udang. Isolat-isolat tersebut menunjukkan kemampuan oksidasi amonia yang lebih baik dan tidak memproduksi senyawa nitrit. Isolat-isolat yang terpilih untuk seleksi ini adalah ASRT1, ASRT2, ASRT3, ASLT2, dan ASLT3.

Hasil pengamatan pada hari ke-dua, ke-tiga, ke-lima dan ke-tujuh memperlihatkan bahwa laju oksidasi amonia mulai terjadi pada inkubasi satu hari sampai pada inkubasi hari ke-tiga. Kemampuan semua isolat bakteri nitrifikasi dalam mengoksidasi amonia hampir sama, hal ini ditunjukkan oleh habisnya amonia pada waktu inkubasi hari ke tiga. Isolat yang paling cepat mengoksidasi amonia adalah

ASRT2, pada inkubasi hari ke dua dapat mengoksidasi amonia hampir mencapai 100% dan diikuti oleh isolat ASRT3. Sedangkan isolat ASRT1, ASLT2, dan ASLT3 dapat mengoksidasi amonia mencapai 100% pada inkubasi hari ke tiga (Gambar 2). Hasil analisis tersebut mengindikasikan bahwa secara umum isolat

bakteri nitrifikasi terpilih hasil seleksi mempunyai potensi yang baik untuk digunakan sebagai agen bioremediasi senyawa amonia. Isolat bakteri nitrifikasi yang potensial untuk uji aktivitas sinergisme tersebut, yaitu : ASRT1, ASRT2, ASLT2, dan ASLT3.



Gambar 2. Profil Hubungan Penurunan Senyawa Amonia dan Tingkat Kerapatan (OD) Dari Isolat ASRT1, ASRT2, ASRT3, ASLT2, ASLT3, dan HSRT1, dalam Inkubasi Selama Tujuh Hari.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis data dan pembahasan tersebut dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kondisi kualitas air pada kolam tempat pengambilan sampel masih relatif baik
2. Jumlah isolat bakteri nitrifikasi yang terkoleksi sebanyak 12 isolat dan 4 isolat potensial dikembangkan sebagai agen bioremediasi senyawa amonia
3. Isolat yang mempunyai kemampuan mengoksidasi amonia paling tinggi, yaitu: ASRT1, ASRT2, ASLT2, dan ASLT3.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2002. Statistik Perikanan Indonesia. Departemen Perikanan dan Kelautan. Jakarta.
- Atlas RM, Bartha R. 1998. Microbial Ecology: Fundamental and Applications. The Benjamin/Cumming Publ. Co. California.
- Boyd AW. 1990. Water Quality in Pond for Aquaculture. Auburn University. Birmingham Publishing Co. Alabama. p. 147.
- Boyd AW, Fast AW. 1992. Pond monitoring and management. Di dalam: Fast AW, Lester LJ. editor. Marine Shrimp Culture: Principles and Practices, pp. 497-514.
- Bock E, Koops HP, Ahlers B, Harm H. 1991. Oxidation of inorganic nitrogen compounds as energy source. Di dalam: Balows A, Truper HG, Dworkin M, HarderW, Schleifer K-H. editor. The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Application. Springer-Verlag. New York. USA.
- Cappuccino GJ, Sherman N. 1983. Microbiology : A Laboratory Manual. Addison - Wesley Publishing Company Inc. California. USA. pp. 31-35.
- Cleseri LS, Greenberg AE, Trussel R R. 1989. Standard methode for the examination of water and wastewater. Port city Press. Baltimore.
- Devaraja TN, Yusoff FM, Shariff M. 2002. Changes in bacterial population and shrimp production in pond treated with comercial microbial products. Aquaculture. 206: 245–256.
- Hasthings CR, Saunders JR, Hall GH, Pickup RW, McCarthy AJ. 1998. Application of molecular biological techniques to a seasonal study of ammonia oxidation in a eutrophic freshwater lake. App. Environ. Microbiol. 10: 3674–3682. Ecology. Lewis Publishers. London. p. 757.
- Rodina GA. 1972. Methode in Aquatic Microbiology. Rita, R.C and Machael,S. (Eds). University Park Press. Baltimore. USA. 461 p.
- Schmidt I, Van Spanning RJ, Jetten MSM. 2004. Denitrification and ammonia oxidation by *Nitrosomonas europea* wild-type, and *NirK*- and *NorB*-deficient mutans. Microbiology. 150: 4107 – 4114.
- Schwedler TE, Tuccer CS,Beleau MH. 1985. Non-infectious diseases. In. Tucker (Ed.). Channel Catfish Culture. Development in Aquaculture and Fisheries Science. Vol. 15. Elsevier, New York.
- Weiner, R E. 2000. Application of environmental Chemistry. Lewis Publisher. New York. USA.
- White D. 1995. The physiology and biochemistry of prokaryotes. Oxford University Press. New York.