

UJI DISAIN BIOREAKTOR UNTUK PRODUKSI BIOMASSA BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK (BFA)

Oleh:

Muhammad Badjoeri* dan Ana Puspaningdiah**

* Pusat Penelitian Limnologi – LIPI

** Fakultas Biologi – Universitas Nasional, Jakarta

Abstrak

Telah dilakukan penelitian disain bioreaktor untuk produksi biomassa bakteri fotosintetik anoksigeni (BFA) dengan pengaruh kondisi pH media (pH kontrol, pH 5, 6, 7, 8 dan 9) dan konsentrasi nutrisi media (25%, 50%, 75% dan 100%). Bioreaktor menggunakan erlenmeyer 250 ml dengan sumber cahaya dari lampu pijar 40 Watt sebanyak 3 buah, inkubasi pada kondisi mikroaerofilik dan diputar pada shaker dengan kecepatan 100 rpm. Pengukuran biomassa BFA dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang (λ) 620 nm.

Produksi biomassa BFA secara umum pH media dan konsentrasi nutrisi media berpengaruh terhadap pola pertumbuhan bakteri dan produksi biomassa sel. Produksi biomassa BFA tertinggi pada media 100 % dengan kondisi pH 8 sebesar 708,2 juta sel/ml /12 hari.

Pendahuluan

Pertumbuhan agroindustri, khususnya usaha tambak udang pada akhir dekade tahun 90-an terus menghadapi masalah yang serius sehingga mengalami penurunan produksi. Salah satu permasalahan tersebut adalah menurunnya tingkat kualitas air, baik pada sistem tambak maupun sistem lingkungannya sebagai sumber air tambak, karena meningkatnya masukan bahan organik kedalam sistem tersebut.

Pada perkembangan terakhir ini, alternatif lain yang telah dicoba adalah dengan memanfaatkan bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA). Penanggulangan penurunan kualitas perairan tambak, dapat dengan beberapa cara antara lain penyiponan sedimen, penggantian air, penggunaan antibiotik, pemberian dan pemilihan jenis pakan tertentu, akan tetapi cara tersebut belum memberikan hasil yang optimal.

BFA merupakan kelompok bakteri yang dapat melakukan fotosintesis tanpa menggunakan H_2O sebagai sumber elektron sehingga pada akhir proses fotosintesisnya tidak dihasilkan oksigen (Brock dan Madigan, 1991).

Menurut Pfennig dan Truper (1989 dalam Rusmana, Widiyanto, Badjoeri, 1998) yang termasuk BFA adalah bakteri ungu dan bakteri hijau. Bakteri ungu terdiri dari tiga famili, yaitu *Chromatiaceae* (bakteri ungu sulfur), *Rhodospirillaceae* (bakteri ungu non sulfur) dan *Ectothiorhodospiraceae*. Hal ini dilihat dari kemampuannya dalam menggunakan belerang sebagai donor elektron. Sedangkan bakteri hijau terdiri dari dua famili, yaitu *Chlorobiaceae* (bakteri hijau sulfur) dan *Chloroflexaceae* (bakteri hijau berfilamen multiseluler).

Salah satu kelompok BFA adalah kelompok bakteri ungu non sulfur. Kelompok bakteri ini mempunyai sistem metabolisme yang beragam, seperti respirasi aerobik, fotoheterotrof dan autotrof pada kondisi anaerobik, dan respirasi anaerob yang bersifat mikroaerofilik. Selain itu, bakteri ungu non

sulfur merupakan bakteri penambat N_2 yang hidup bebas (Robberts dan Ludden, 1992).

Bakteri ungu non sulfur pada umumnya memproduksi pigmen karotenoid merah-ungu. Proses fotosintesis bakteri ini tergantung pada kemampuan sel untuk melakukan fotoasimilasi senyawa organik sederhana. Bakteri ini membutuhkan bahan organik untuk pertumbuhannya dan dapat menggunakan energi cahaya untuk sintesis ATP (Drew dan Imhoff, 1991 dalam Rusmana, dan Widiyanto, 1998).

BFA dapat ditemukan dan hidup pada berbagai habitat perairan, baik perairan tawar maupun laut. Pada habitatnya, BFA mempunyai peranan ekologis sebagai produsen primer karena dapat berfotosintesis (Fuhrman et al, 1993 dalam Badjoeri, Widiyanto, Indarwati, Syaifullah, 2000), BFA juga mampu mereduksi (memanfaatkan dalam metabolismenya) senyawa H_2S , amonia, nitrit, karbon organik (protein, lemak, karbohidrat) dan logam berat (Widiyanto, 1998; Rusmana dan Widiyanto, 1998 dalam Badjoeri, Widiyanto, Indarwati, Syaifullah, 2000). Selain itu, BFA telah dimanfaatkan sebagai biokontrol (percobaan invitro) terhadap penekanan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* penyebab penyakit pada udang, penekanan blooming plankton (Atlas dan Bartha, 1987; Tjahyadi et al, 1994 dalam Badjoeri, Sumardi, Indarwati, 2000).

Berdasarkan sifat, kemampuan metabolisme dan potensi BFA perlu dilakukan uji coba (penelitian) untuk mendapatkan biomassa BFA dalam jumlah besar sehingga diharapkan BFA dapat diaplikasikan pada sistem budidaya khususnya tambak dan bahkan kedalam sistem perairan umum.

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mendapatkan disain bioreaktor yang optimal untuk produksi BFA meliputi kondisi pH, konsentrasi media dan cahaya.

Hipotesis

Hipotesis yang akan diuji dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. pH berpengaruh terhadap produksi biomassa BFA
2. Konsentrasi media berpengaruh terhadap produksi biomassa BFA
3. Intensitas cahaya memberikan pengaruh terhadap produksi biomassa BFA

Bahan dan Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiota dan Laboratorium Hidrokimia Pusat penelitian Limnologi-LIPI, Cibinong. Sejak Juli s/d November 2002.

Isolat BFA yang digunakan adalah BFA dengan kode IR 19, hasil isolasi BFA dari daerah estuarin Pelabuhan Ratu, Sukabumi, Jawa Barat.

Media untuk isolasi dan pemeliharaan kultur BFA adalah media Sea Water Complete (SWC), baik cair maupun media padat dengan konsentrasi 100% (tabel 1).

Tabel 1. Komposisi Media Sea Water Complete (SWC) untuk kultur Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA), (Widiyanto, 1995).

No.	Senyawa	Komposisi
1	Bacto Pepton (Difco)	5 gr
2	Yeast Extract (Difeo)	1 gr
3	Gliserol (Merck)	3 gr
4	Bacto Agar (Difco)	15-20 gr
5	Air Laut	750 ml
6	Aquadest	250 ml

Keterangan : Media disterilisasi menggunakan autoclave 121°C, 15 menit, 2 atm

Pembuatan kurva standar pola pertumbuhan BFA dengan menggunakan metode spektrofotometri (spektrofotometer UV 120-02) pada panjang gelombang (λ) 620 nm. dengan 2 ulangan untuk mendapatkan nilai optikal densiti (OD) kultur dan metode spread plate atau TPC (Total Plate Count) untuk mendapatkan jumlah koloni bakteri. Selanjutnya nilai absorbans dan jumlah koloni BFA dianalisa dalam grafik pola pertumbuhan. Pengamatan pola pertumbuhan untuk kurva standar dilakukan selama 20 hari.

BFA diinkubasi pada kondisi mikroaerofilik dengan suhu ruang (27^o-29^oC) dan diberi cahaya dengan lampu pijar 40 Watt selama 2 – 4 hari atau sampai tumbuh koloni BFA yang berpigmen merah keunguan. Penghitungan jumlah koloni antara 30 – 300 koloni dengan pengenceran tertinggi 10⁹. Penghitungan jumlah populasi BFA (X) menggunakan rumus:

$$X = (1000/V) \times C \times S, \text{ (Cappuccino dan Sherman, 1983)}$$

dimana:

X: jumlah populasi BFA (sel/ml),

V: Volume bakteri yang diinokulasi

C : Jumlah koloni yang tumbuh,

S : Tingkat pengenceran yang digunakan.

Disain bioreaktor dengan perlakuan pengaruh pH, media dan cahaya terhadap produksi biomassa BFA. Terdiri dari 2 tahap penelitian (gambar 1), yaitu:

1. Perlakuan pH yang berbeda (pH 5 s/d 9) dan konsentrasi media berbeda (25%, 50%, 75% dan 100%) dengan sumber cahaya 3 buah lampu pijar 40 W.
2. Perlakuan pH yang berbeda (pH 5 s/d 9) dan konsentrasi media berbeda (25%, 50%, 75% dan 100%) dengan sumber cahaya 2 buah lampu pijar 40 W.

Disain bioreaktor untuk produksi biomassa BFA

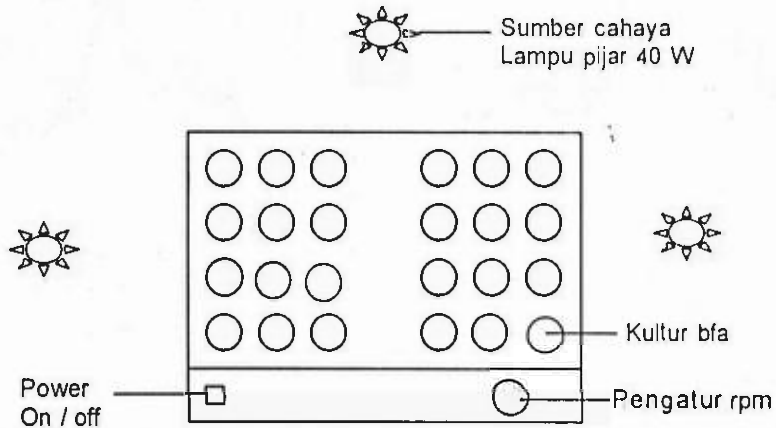
Disain bioreaktor dengan menggunakan erlenmeyer 250 ml yang berisi media SWC dengan konsentrasi berbeda (25%, 50%, 75%, 100% dan kontrol). Masing-masing media tersebut diberi perlakuan pH 5, 6, 7, 8, 9 dan pH media (kontrol), dengan 3 kali ulangan.

Masing-masing erlenmeyer diinokulasikan BFA sebanyak 1 ml dari stok kultur yang sebelum telah disiapkan dan berumur 4 hari, dan dikur OD nya. Selanjutnya erlenmeyer diletakan pada shaker dan diputar dengan kecepatan sekitar 100 rpm. Inkubasi pada ruangan khusus (ruang isolasi) dengan suhu ruang sekitar 27^oC – 29^oC, dan sumber cahaya 3 lampu pijar 40 watt pada jarak sekitar 30 cm. Pengamatan dilakukan selama 15 – 20 hari.

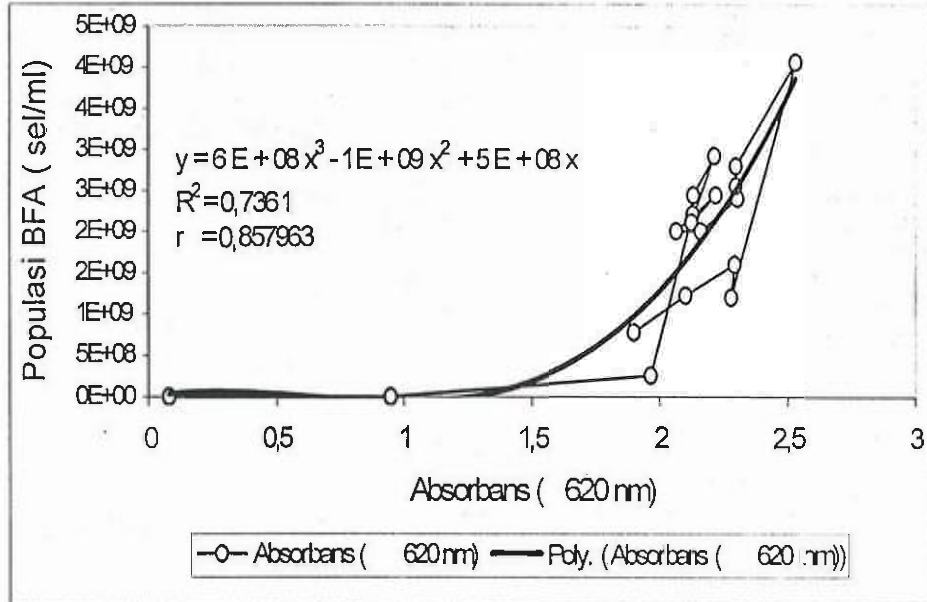
Sampling kultur BFA dilakukan setiap selang waktu 24 jam, mulai dari 0 jam (t 0) dan seterusnya. Sampel diambil secara aseptik dengan menggunakan pipet otomatis sebanyak 5 ml dan ditampung dalam tabung reaksi steril dengan tutup berulir. Selanjutnya di ukur OD nya menggunakan spektrofotometer (λ 620 nm) dengan 2 kali ulangan.

Untuk mengetahui biomassa BFA digunakan grafik standar pola pertumbuhan (gambar 2) yang sebelumnya telah dibuat.

Setelah percobaan pertama dilakukan, dilanjutkan dengan percobaan kedua menggunakan 2 buah lampu pijar 40 W. Perlakuan tersebut dilakukan dengan ulangan sebanyak 3 kali.



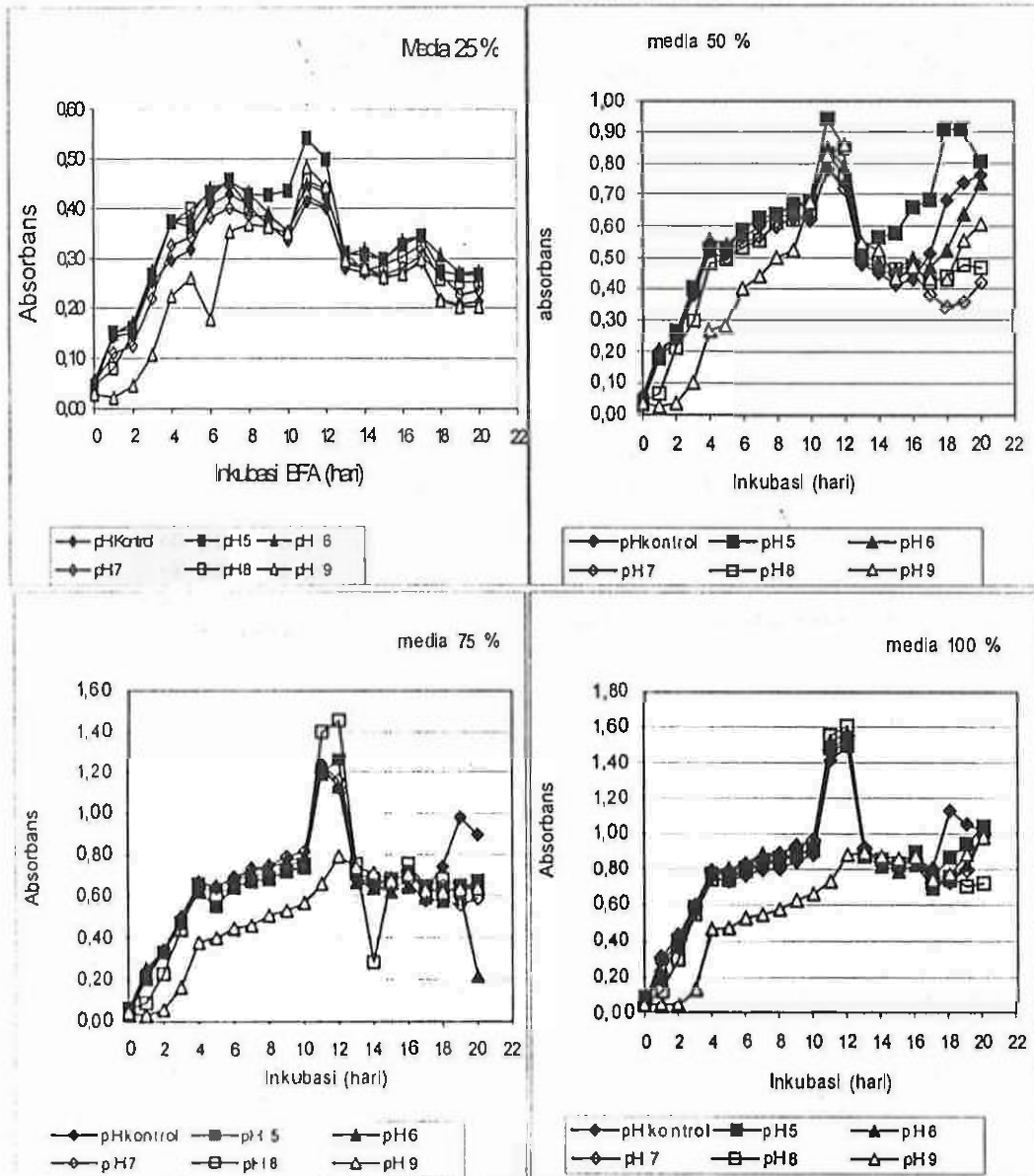
Gambar 1. Skema bioreaktor dengan sumber cahaya 3 lampu pijar 40 W



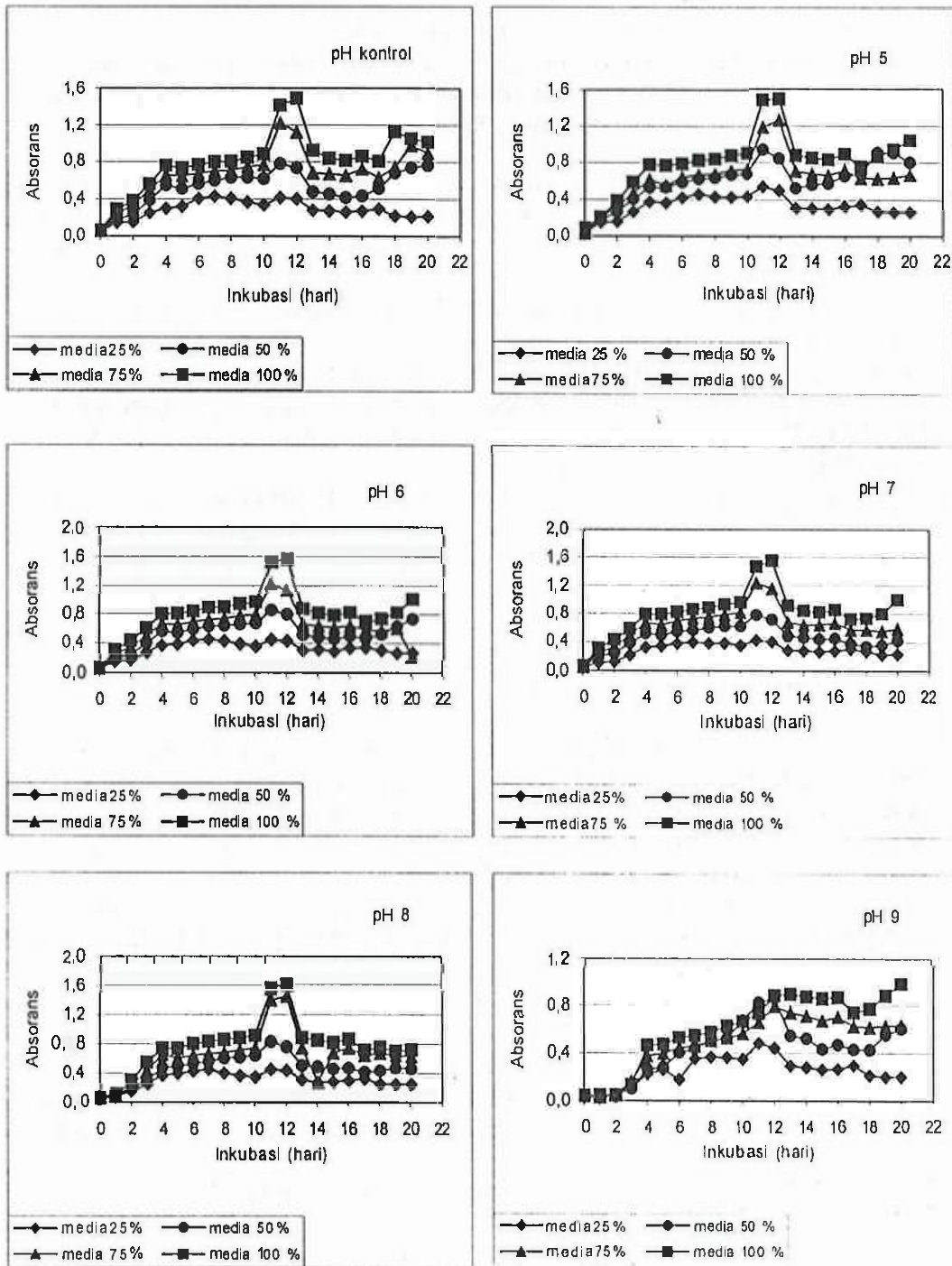
Gambar 2. Grafik standar pola pertumbuhan isoalt BFA IR 19

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil analisa menunjukan pola pertumbuhan bakteri fotosintetik anoksiogenik (BFA) dipengaruhi oleh kondisi pH media dan konsentrasi nutrisi media (Gambar 1 dan 2).



Gambar 4. Pola pertumbuhan isolat BFA dalam bioreaktor pada konsentrasi media yang berbeda



Gambar 3. Pola pertumbuhan isolat BFA dalam bioreaktor dengan kondisi pH media yang berbeda

Pertumbuhan bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) dalam bioreaktor secara umum adalah: setelah 1 – 2 hari masa inkubasi pertumbuhannya masih lambat karena masih dalam fase lag (adaptasi), namun setelah memasuki

masa inkubasi 3 – 4 hari pertumbuhannya sangat cepat (fase akselerasi), memasuki masa inkubasi 4 – 11 hari pertumbuhan bakteri ada yang tetap dan ada yang terus menerus meningkat (fase eksponensial), dan memasuki masa inkubasi 11 – 12 hari pertumbuhan bakteri dan nutrisi yang ada dalam media terjadi ketidak seimbangan (fase declining growth), dan pada masa inkubasi 13 – 20 hari pertumbuhan bakteri telah memasuki fase stasioner, dimana pertumbuhan bakteri yang mati dan yang tumbuh berimbang.

Analisa diatas menunjukkan kondisi pH media dan konsentrasi nutrisi media berpengaruh terhadap produksi biomassa bakteri yang terdapat dalam bioreaktor (α 0,05).

Hasil penelitian ini juga memperlihatkan bakteri BFA yang digunakan (isolat BFA IR 19) mampu beradaptasi pada lingkungan pH yang sangat bervariasi, yaitu pada pH 5 sampai pH 9. Menurut Pfennig, 1977 dan Imhoff, 1988) kelompok bakteri BFA mampu beradaptasi pada lingkungan suhu, pH dan salinitas yang ekstrim. Akan tetapi pada media dengan pH 9 masa adaptasi bakteri lebih panjang yaitu 3 hari.

Pertumbuhan bakteri pada media 25%. Pada pH kontrol optimum pada hari ke 7, OD 0,429 nm atau biomassa sebanyak 77,8 juta sel/ml. Pada media pH 5, optimal hari ke 7, OD 0,458 nm atau biomassa sebanyak 76,9 juta sel/ml. Pada media pH 6, optimal hari ke 7, OD 0,454 nm atau biomassa 77 juta sel/ml. Pada pH 7, optimal hari ke 7, OD 0,401 nm atau biomassa 78,4 sel/ml. Pada pH 8, optimal hari ke 7, OD 0,454 nm atau biomassa 77 juta sel/ml. Pada pH 9, optimal hari ke 8, OD 0,484 nm atau biomassa 75,8 juta sel/ml.

Pertumbuhan bakteri pada media 50%. Pada pH kontrol optimum pada hari ke 11, OD 0,7795 nm atau biomassa sebanyak 66,3 juta sel/ml. Pada media pH 5, optimal hari ke 11, OD 0,943 nm atau biomassa sebanyak 85,4 juta sel/ml. Pada media pH 6, optimal hari ke 11, OD 0,8485 nm atau biomassa 70,8 juta sel/ml. Pada pH 7, optimal hari ke 11, OD 0,7825 nm atau biomassa 66,4 juta sel/ml. Pada pH 8, optimal hari ke 11, OD 0,8315 nm atau biomassa 69,3 juta sel/ml. Pada pH 9, optimal hari ke 12, OD 0,8600 nm atau biomassa 72 juta sel/ml.

Pertumbuhan bakteri pada media 75%. Pada pH kontrol optimum pada hari ke 11, OD 1,2225 nm atau biomassa sebanyak 213,0 juta sel/ml. Pada media pH 5, optimal hari ke 12, OD 1,263 nm atau biomassa sebanyak 245,2 juta sel/ml. Pada media pH 6, optimal hari ke 11, OD 1,2280 nm atau biomassa 217,1 juta sel/ml. Pada pH 7, optimal hari ke 11, OD 1,2400 nm atau biomassa 226,4 juta sel/ml. Pada pH 8, optimal hari ke 12, OD 1,4560 nm atau biomassa 260,0 juta sel/ml. Pada pH 9, optimal hari ke 12, OD 0,7915 nm atau biomassa 66,8 sel/ml.

Pertumbuhan bakteri pada media 100%. Pada pH kontrol optimum pada hari ke 12, OD 1,4900 nm atau biomassa sebanyak 509,7 juta sel/ml. Pada media pH 5, optimal hari ke 12, OD 1,4945 nm atau biomassa sebanyak 516,5 juta sel/ml. Pada media pH 6, optimal hari ke 12, OD 1,5620 nm atau biomassa 627,7 juta sel/ml. Pada pH 7, optimal hari ke 12, OD 1,5495 nm atau biomassa 606,0 juta sel/ml. Pada pH 8, optimal hari ke 12, OD 1,6055 nm atau biomassa 708,2 juta sel/ml. Pada pH 9, optimal hari ke 13, OD 0,8945 nm atau biomassa 76,5 sel/ml.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil beberapa kesimpulan, yaitu:

1. Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dan kondisi pH yang terdapat didalam media
2. Pertumbuhan dan produksi biomassa terbaik pada media 100% dengan pH 8, yaitu produksi biomassa sebanyak 708,2 juta sel/ml setelah masa inkubasi 12 hari.
3. Pada media 25 % biomassa bakteri tertinggi dihasilkan pada pH 7 dengan masa inkubasi 7 hari yaitu 78,4 juta sel/ml. Pada media 50% biomassa tertinggi dihasilkan pada pH 5 dengan masa inkubasi 11 hari yaitu 85,4 juta sel/ml. Pada media 75% biomassa tertinggi pada pH 8 dengan masa inkubasi 12 hari yaitu 260 juta sel/ml.

Daftar Pustaka

- Badjoeri, M., T. Widiyanto, V. Indarwati, dan D. Syaifullah. 2000. Isolasi dan Morfologi Isolat Bakteri (BFA) Asal Perairan Tambak Serang dan Segara Anakan. Hasil-hasil Penelitian Puslitbang Limnologi tahun 2000. Pusat Penelitian Limnologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong. h. 303-308.
- Badjoeri, M., D. I. Sumardi, dan V. Indarwati, 2000. Uji Viabilitas Isolat BFA pada Media SWC yang Mengandung Logam Berat Cu. Hasil-hasil Penelitian Puslitbang Limnologi tahun 2000. Pusat Penelitian Limnologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong. h. 316-321.
- Brock dan Madigan, 1991. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall. New Jersey
- Cappuccino, J. G. dan N. Sherman. 1983. *Microbiology. A Laboratory Manual*. Addison-Wesley Publishing Company. Massachusetts. 466 p.
- Pfennig, N dan H. G. Truper. 1989. Anoxygenic phototrophic bacteria. *In*. J.T. Staley, M.P., Bryant, N. Pfennig and J.G.Holt (Eds.), *Bergey Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins. Baltimore.
- Robberts, G. P. dan P.W. Ludden, 1992. Nitrogen fixation by photosynthetic bacteria. *In*. G. Stacey, R.H. Burris, and H.J. Evans (Eds.) *Biological Nitrogen Fixation*. Chapman and Hall Inc. USA. p. 135 – 165.
- Rusmana, I, T. Widiyanto, dan M. Badjoeri .1998. Isolasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik dari Estuarin Daerah Karawang, Serang dan Sukabumi. Hasil-hasil Penelitian Puslitbang Limnologi tahun 1997/1998. Pusat Penelitian Limnologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong. h. 391-402.
- Rusmana, I dan T. Widiyanto. 2001. Karakter Amilolitik, Protolitik dan Toleransinya terhadap Sulfida dari Bakteri Fotosintetik Anoksigenik. Hasil-hasil Penelitian Puslitbang Limnologi tahun 1997/1998. Pusat Penelitian Limnologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong. h. 413 – 421.

- Widiyanto, T. 1998. Kemampuan Beberapa Isolat Bakteri Fotosintetik Anoksigenik dalam Mereduksi Senyawa Organik. Hasil-hasil Penelitian Puslitbang Limnologi tahun 1997/1998. Pusat Penelitian Limnologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Cibinong. h. 438 – 443.
- Widiyanto, T. 1995. Karakterisasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik untuk Biokondisioner di Tambak Udang. Usulan Penelitian. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 36 hal.