

Potensi Bakteri *Zoogloea* Sp sebagai Bakteri Pembentuk Bioflok pada Sistem Pertambakan (The Potency of Bacteria *Zoogloea* sp as Floc-forming Bacteria on Pond System)

Muhammad Junda

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Makassar

Abstract

The objective of this study was to know the potency of bacteria *zoogloea* sp as indigenous bacteria from shrimp pond farming in colonizing particles. Study of particle-colonizing capacity of *Zoogloea* sp by using artificial-sphere agar and transparent exopolimeric particles (TEP) produced by fitoplankton, *Thalassiosira weissflogii*. The results showed that *Zoogloea* sp were able to colonize both artificial-agar spheres and TEP produced by *T. weissflogii*. The mean number of *Zoogloea* sp colonizing artificial-agar spheres increasing with incubation time was $2,70 \times 10^4$ cells/agar sphere. In the test of TEP-colonizing bacteria showed that *Zoogloea* sp was able to colonize the TEP i.e. 2.5×10^8 cells/mL. after 4 days incubation. It can be concluded that *Zoogloea* sp isolated from shrimp pond farming has a high potential in colonizing particles.

Keywords : Floc-forming bacteria, *Zoogloea* sp, *Thalassiosira* sp, Phytoplankton.

A. Pendahuluan

Upaya peningkatan produksi udang windu (*P. monodon* fab.) telah dilakukan berbagai system diantaranya system intensif. Semiintensif dan ekstensif. Sistem pengelolaan intensif dilakukan melalui peningkatan pada penebaran benur dan penggunaan pakan buatan dengan jumlah yang tinggi. Kendala utama system budidaya udang secara intensif adalah tingginya tingkat pencemaran senyawa toksik berupa amonia. Nitrit dan nitrat yang bisa mengganggu kelangsungan hidup dan pertumbuhan udang windu. Protein yang dimanfaatkan oleh udang dan ikan sebagai biomassa hanya 22- 25 % dan sisanya terbuang ke lingkungan tambak (Ebeling *et al.* 2006 & Burford *et al.* 2003; Avnimelech, 1999.). Menurut Eding *et al* (2006). Biaya pakan pada system budidaya udang secara intensif merupakan komponen tertinggi dalam biaya produksi yang bisa mencapai lebih dari 50 %.

Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah penggunaan bioflok. Bioflok adalah merupakan aggregate kompleks yang terdiri dari komunitas mikroba aerob aktif yang bisa dimanipulasi untuk mengendalikan kualitas air melalui imobilisasi ammonium menjadi protein mikroba dan juga untuk mengurai sisa pakan dan meningkatkan efisiensi penggunaan pakan (Avnimelech & Kochba. 2008 De Stryver *et al.* 2008). Bioflok memiliki peranan tidak hanya dalam memperbaiki kualitas air. Tapi juga

berperanan sebagai sumber pakan alami dan mengatasi dalam hal penyakit (Crab *et al.*, 2007; Crab *et al.*, 2009). Menurut Avnimelech. (2006) flokmikroba kaya akan nutrisi seperti karbohidrat, protein, asam lemak. Vitamin. mineral dan trace element. Dan dapat menggantikan factor pertumbuhan pada pakan sehingga dapat menghemat biaya pakan hingga 30 %. Pengelolaan system tambak melalui manipulasi dan peningkatan aktivitas mikroba baik bakteri heterotrof maupun autotrof dapat mempertahankan kualitas air tambak yang optimum. Meningkatkan produktivitas secara alami dan siklus nutrient sehingga dapat menunjang pertumbuhan dan meningkatkan produksi udang serta dapat mengurangi biaya pakan (Samochaet *al.* 2006 ; Avnimelech *et al* , 2005. 2007; Browdy *et al.* 2006; Hargreaves., 2006). Salah satu jenis bakteri yang telah dilaporkan mampu membentuk agregat pada sistem perairan adalah *Zoogloea* sp. Informasi tentang kemampuan *Zoogloea* sp dalam pembentukan agregat masih sangat terbatas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi bakteri *Zoogloea* sp dalam mengkolonisasi suatu partikel.

B. Metode Penelitian

1. Uji Kemampuan Bakteri terhadap Kolonisasi Partikel

Uji kolonisasi bakteri terhadap partikel dilakukan sesuai metode Grossart *et al.*, (2003) dan Kiørboe *et al.*, (2002). Bakteri *Zoogloea* sp yang digunakan dalam penelitian merupakan bakteri indigen hasil isolasi pada tambak udang (Junda *et al.*, 2008). Uji kemampuan aktivitas kolonisasi dengan menggunakan bola agar buatan sebagai model partikel. Penentuan kemampuan kolonisasi bakteri dengan mengamati akumulasi bakteri pada bola agar yang diinkubasi pada air laut yang mengandung bakteri. Bola agar dibuat dari Bakto agar 2 % dengan cara sebagai berikut : Agar cair yang panas secara aseptis diteteskan dengan menggunakan jarum suntik 5 mL (ukuran jarum 30 G ½) diatas air laut yang steril dengan kadar salinitas 25 ppt yang telah ditutupi lapisan tipis minyak parafin. Bola agar memiliki ukuran diameter 1 – 2 mm. Ukuran bola agar tergantung dari ukuran mulut jam suntik. Setiap Erlenmeyer 125 mL yang berisi medium air laut steril diinokulasi dengan suspensi bakteri berumur 24 jam dengan tingkat kepadatan $1,0 \times 10^9$ sel/mL. Selanjutnya diisi dengan bola agar sebanyak 24 buah setiap gelas Erlenmeyer. Pengambilan sampel bola agar dilakukan setiap interval waktu 30, 60, 90, 120, 180 dan 1444 menit. Setiap pengambilan sampel bola agar dilakukan 3 kali ulangan. Sampel bola agar ditempatkan diatas objek gelas berupa *counting chamber*, kemudian ditetesi larutan formal dehid dan pewarna DAPI (4',6'-diamidino-2-fenilindol) masing - masing satu tetes. Jumlah bakteri yang mengkolonisasi bola agar dihitung dengan menggunakan mikroskop epifluoresens.

2. Interaksi Bakteri Pembentuk Bioflok Terhadap Partikel Biopolimer dari *Thalassiosira* sp.

Bakteri yang digunakan dalam Penelitian ini adalah bakteri pembentuk bioflok, *Zoogloea* sp. Medium yang digunakan adalah *Marine broth* dan air laut buatan. Sedangkan biopoli merpartikel transparent merupakan eksudat dari *Thalassiosira weissflogii*. koleksi Leibniz Institute, Jerman. Pengujian aggregasi, perhitungan jumlah dan kelimpahan dan ukuran agregat di hitung sesuai metode Grossart *et al.* (2006). Isolat bakteri pembentuk bioflok ditumbuhkan secara monokultur di dalam

rooling bottle ukuran 400 mL dan yang berisi air laut buatan dengan salinitas 25 g/L, Inokulum bakteri dengan kepadatan $1,0 \times 10^6$ sel/mL. Selanjutnya diinkubasi dengan kecepatan 3,2 rpm, suhu $20 \pm 1^\circ$ C selama 4 hari. Kelimpahan bakteri baik yang melekat maupun hidup bebas (Grossart *et al.*, 2006 ; Kiørboe *et al.*, 2003).

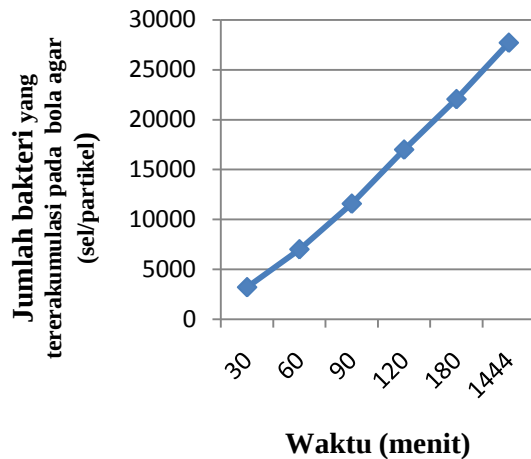
3. Pengukuran Jumlah Bakteri

Menghitung jumlah bakteri yang melekat, sampel (5 mL) disaring dengan menggunakan filter membran nukleopor ukuran 5,0 μ m. 1 mL filtrate disaring dengan menggunakan membrane nukleopor 0,2 μ m untuk menghitung bakteri yang hidup bebas. Selanjutnya hasil dari filtrasi diwarnai dengan pewarna DAPI (4',6'-diamidino-2-fenolindol) kemudian diamati dibawah mikroskop epifluorescens dengan pembesaran 200–1000X. Pengamatan dilakukan dengan menghitung minimal sepuluh kali bidang pandang (Grossart *et al.*, 2006).

C. Hasil dan Pembahasan

1. Kolonisasi Partikel

Kemampuan bakteri *Zoogloea* sp mengkolonisasi bola agar sebagai model partikel menunjukkan bahwa rata-rata jumlah bakteri yang mengkolonisasi partikel sebanyak $3,2 \times 10^3$ sel/partikel bola agar pada medium air laut setelah 30 menit inkubasi. Rata-rata jumlah bakteri yang mengkolonisasi partikel bola agar meningkat secara linier seiring dengan lama waktu inkubasi. Jumlah bakteri yang terakumulasi pada partikel bola sebanyak $2,70 \times 10^4$ sel/partikel setelah inkubasi 24 jam (1440 menit) (Gambar 1). Hasil studi ini menunjukkan bahwa bakteri *Zoogloea* sp memiliki kemampuan dalam mengkolonisasi suatu partikel. Menurut Grossart *et al.*, (2006) berdasarkan tingkah laku, bakteri dikelompokkan menjadi tiga tipe fungsi yaitu : 1) bakteri yang memiliki kemampuan mengkolonisasi suatu partikel; 2) bakteri yang hidup bebas; dan 3) bakteri yang bisa tumbuh dalam suatu suspensi dan juga mampu mengkolonisasi suatu partikel. Bakteri *Zoogloea* sp termasuk dalam kelompok bakteri yang dapat mengkolonisasi partikel atau bahan organik pada suatu perairan dan memiliki sifat motilitas yang tinggi (Grossart *et al.*, 2003; Grossart *et al.*, 2006).

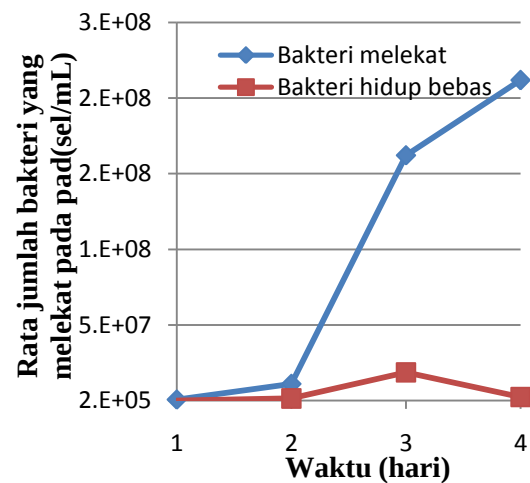


Gambar 1. Kolonisasi bakteri *Zoogloea* sp pada bola agar buatan sebagai model partikel

Partikel merupakan komponen penting dalam suatu perairan yang dihuni oleh komunitas mikroba yang padat dan memiliki berbagai fungsi penting dalam proses biologis seperti produksi, dekomposisi dan daur ulang nutrisi dalam suatu badan air (Grossart *et al.*, 2003). Banyak bakteri dan fitoplankton menghasilkan suatu senyawa berupa partikel eksopolimer yang transparan yang berperan dalam proses pembentukan agregat (Grossart *et al.*, 2006a). Kolonisasi bakteri tertentu pada permukaan suatu sel mikroalga akan mempengaruhi secara langsung sifat adhesi suatu mikroalga (Hempel *et al.*, 2009). Menurut Bossier dan Verstraete (1996) suatu bakteri mengkolonisasi suatu partikel atau flok yang ada disekitarnya karena partikel tersebut mengandung bahan organik dalam suatu larutan sebagai sumber energi, nutrisi mineral yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba. Jenis bakteri tertentu cenderung hidup dalam suatu agregat atau flok agar terhindar dari predasi protozoa dan juga bisa mendapatkan nutrisi. Mikroba cenderung mengkolonisasi partikel dan membentuk suatu flok atau agregat karena flok bisa merupakan tempat yang sangat kaya akan nutrisi dan merupakan tempat terjadinya serangkaian transformasi bahan organik. Aktivitas bakteri heterotrof dan nitrifikasi dapat berlangsung secara intensif dan simultan dalam suatu bioflok (Avnimelech, 2006).

2. Interaksi Bakteri Pembentuk Bioflok Terhadap Partikel Biopolimer dari *Thalassiosira weissflogii*

Jumlah bakteri yang hidup dan mengkolonisasi senyawa polimer berupa partikel yang dihasilkan oleh mikroalga *Thalassiosira weissflogii* yang dikultur secara tertutup dengan menggunakan medium air laut buatan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah bakteri yang hidup melekat pada partikel hingga hari keempat setelah inkubasi (Gambar 2), sedangkan bakteri *Zoogloea* sp yang hidup bebas dan tersuspensi dalam kultur terjadi pertumbuhan hingga hari ketiga dan selanjutnya rata jumlah bakteri mengalami penurunan. Jumlah bakteri yang hidup melekat pada partikel hari pertama inkubasi sekitar $2,3 \times 10^5$ sel/mL setelah inkubasi empat hari populasi bakteri melekat pada partikel mencapai $2,5 \times 10^8$ sel/mL. Jumlah bakteri yang hidup melekat pada partikel yang dihasilkan oleh fitoplankton *Thalassiosira weissflogii* lebih tinggi dibanding bakteri yang hidup bebas dalam suatu kultur.



Gambar 2. Rata-rata jumlah bakteri *Zoogloea* sp yang hidup bebas dan melekat pada partikel yang dihasilkan mikroalga *Thalassiosira weissflogii*

Hasil studi ini menunjukkan bahwa bakteri *Zoogloea* sp tergolong dalam tipe bakteri yang memiliki fungsi dapat mengkolonisasi partikel dan juga bisa hidup secara bebas, akan tetapi lebih dominan sebagai bakteri pembentuk agregat (flok). Menurut Grossart *et al.* (2006) Bakteri heterotrof memiliki peranan penting terhadap proses pembentukan agregat fitoplankton. Keberadaan bakteri heterotrof bisa menyebabkan terjadinya perubahan agregat

fitoplankton. Dalam suatu kultur bakteri dengan *T. Weisfloggii* adalah merupakan salah satu prasyarat terjadinya pembentukan flok/agragat, sementara *Navicula* sp yang dikultur bersama bakteri, nampak bahwa pembentukan agregat berlangsung lambat. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan senyawa polimer yang dihasilkan oleh mikroalga, perekat sel dan komposisi komunitas bakteri akan mempengaruhi perbedaan pembentukan agregat fitoplankton (Grossart *et al.* 2005). Jumlah bakteri baik yang hidup bebas maupun melekat pada suatu partikel terjadi perbedaan diantara jenis bakteri dan tahap pertumbuhan (Grossart *et al.*, 2006). Lebih lanjut dikemukakan bahwa pada percobaan dua jenis diatom yaitu *Skletonema costatum* dan *Thalassiosira rotula* dan dikultur bersama bakteri secara aksenik menunjukkan bahwa terjadi perbedaan pertumbuhan secara eksponensial dalam tingkah laku pemebentukan agregat sebagai akibat dari perbedaan bahan organik yang dihasilkan, partikel eksopolimer dan partikel yang mengandung protein.

Beberapa jenis fitoplankton yang telah dilaporkan mampu menghasilkan senyawa partikel eksopolimer yang berperan dalam pembentukan agregat (flok) yaitu *Navicula* sp, *Thalassiosira weisfloggii* (Grossart *et al.*, 2006); *Skletonema costatum*, *Thalassiosira torula* (Grossart *et al.*, 2006b; Grossart dan Simon., 2007); *Nitzschia* sp, *Chaetoceros* sp *Rhizolenia* sp, *Leptocylindricus* sp, *Skeletonema* sp dan *Thalassionema* sp (Thornton, 2002). Beberapa hasil penelitian telah dilaporkan tentang jenis-jenis bakteri yang mampu menghasilkan senyawa bioflokulan yang berperan penting dalam pembentukan bioflok atau agregat diantaranya adalah: *Rhodococcus erythropolis*, *Flavobacterium* sp, *Zoogloea* MP6, *Zoogloea ramigera*, *Pseudomonas* C-120, *Bacillus* sp, *Enterobacter* sp dan *Nocardia amarae* YK1 (Salehizadeh dan Shojaosadati, 2001). Kedua kelompok mikroba ini mampu menghasilkan senyawa partikel eksopolimer yang berperan dalam pembentukan suatu bioflok pada suatu perairan.

D. Kesimpulan

Bakteri *Zoogloea* sp memiliki kemampuan mengkolonisasi partikel bola agar dan partikel senyawa polimer yang dihasilkan oleh mikroalga *Thalassiosira weisfloggii*. Jumlah bakteri yang mengkolonisasi bola agar sebagai partikel buatan sebanyak 2.70×10^4 sel/partikel setelah inkubasi 24 jam. Sedangkan jumlah bakteri *Zoogloea* sp dalam mengkolonisasi partikel yang dihasilkan oleh *T. weisfloggii* sebanyak $2,5 \times 10^8$ sel/mL.

E. Daftar Pustaka

- Avnimelech, Y., (2005). Tilapia Harvest Microbial Flocs in Active Suspension Research Pond. Dept. Civil and Environmental Engineering Technion, Israel Institute of Technology Haifa, Israel.
- Avnimelech, A., 2006. Bio-filters : The Need for an New Comprehensive Approach. *Aquaculture Engineering*, 34, 172-178.
- Avnimelech, Y., 2007. Feeding with Microbial Flocs by Tilapia in Minimal Discharge Bio-flocs Technology Ponds. *Aquaculture*, 264, 140 – 147
- Avnimelech, Y., Kochba, M., 2009. Evaluation of Nitrogen Uptake and Excretion by Tilapia in Bio-floc Tanks, Using ^{15}N Tracing. *Aquaculture*, 287, 163 – 168.
- Bossier, P., dan Verstraete, W., 1996. Triggers for Microbial Aggregation in Activated Sludge. *Applied Microbiological Biotechnology*, 45 : P. 1-6.
- Burford, M.A., Thompson, P.J., McIntosh, R.P., Bauman, R.H., dan Pearson, D.C., (2004) : The Contribution of Flocculated Material to Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Nutrition in a High-Intensity, Zero-Exchange System. *Aquaculture*, 232, 525 – 537.
- Crab, R., Avnimelech, A., Defoirdt, T., Bossier, P., Verstraete., (2007) : Nitrogen Removal Techniques in Aquaculture for a Sustainable Production, *Aquaculture*, 270, 1-14.
- Crab, R., Kochva, M., Verstraete, W., dan Avnimelech, Y. (2009) : Bio-flocs Technology Application in Over – Wintering of Tilapia. *Aquaculture Engineering*, 40, 105 – 112.

- De Schryver, P., Crab, R., Defoirdt, T., Boon, N., dan Verstraete, W., (2008) : The Basic of Bio-flocs Technology : The Added Value of Aquaculture. *Aquaculture*, 277, 125 – 137.
- Ebeling, J.M., Timmons, M.B., dan Bisogni, J.J., (2006) : Engineering Analysis of the Stoichiometry of Photoautotrophic, autotrophic, and Heterotrophic Removal of Ammonia-Nitrogen in Aquaculture Systems. *Aquaculture*, 257, 346 – 358.
- Hagreaves, J.A. (2006) : Photosynthetic Suspended-Growth System in Aquaculture. *Aquaculture Engineering*, 34, 344 – 363.
- Grossart, H-P., Hietanen, S., dan Plough, H. (2003) : Microbial Dynamics on Diatom Aggregate in Øresund, Denmark. *Marine Ecology Progress Series*, 249, 69 – 78.
- Grossart, H-P., Kjørboe, T., Tang, K.W., Allgaier, M., Yam, E.M., dan Ploug, H., (2006) : Interaction between Marine Snow and Heterotrophic Bacteria : Aggregate Formation and Microbial Dynamics. *Aquatic Microbial Ecology*, 42, 19 – 26.
- Grossart, H-P., Czub, G., dan Simon, M., (2006) : Algae-Bacteria Interactions and Their Effects on Aggregation and Organic Matter Flux in the Sea. *Environmental Microbiology*, 8 (6), 1074 – 1084.
- Grossart, H-P., Levold, F., Allgaier, M., Simon, M., dan Brinkhoff, T. (2005) : Marine Diatom Species Harbour Distinct Bacterial Communities. *Environmental Microbiology*, 7 (6), 860 -873.
- Grossart, H-P., dan Simon, M. (2007) : Interaction of Planktonic Algae and Bacteria : Effects on Algal Growth and Organic Matter Dynamics. *Aquatic Microbial Ecology*, 47, 163 – 176.
- Grossart, H-P., Kjørboe, T., Tang, K. dan Ploug, H. (2003) : Colonization of Particles : Growth and Interactions. *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (6), 3500 – 3509.
- Hempel, M., Grossart, H-P., dan Gross, E.M. (2009) : Community Composition of Bacterial Biofilms on two Submerged Macrophytes and Artificial Substrate in a Pre –Alpine Lake. *Aquatic Microbial Ecology*, 58, 79 – 94.
- Kjørboe, T., Tang, K., Grossart, H-P., dan Ploug, H. (2003) : Dynamics of Microbial Communities on Marine Snow Aggregates : Colonization, Growth, Detachment, and Grazing Mortality of Attached Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 3036 - 3047.
- Salehizadeh, H., dan Shojaosadati, S.A., 2001. Extracellular biopolymeric flocculants Recent trends and biotechnological importance. *Journal of Biotechnology Advance*, 19 : 371 – 385.

