



ISOLASI BAKTERI HETEROTROF DI SITU CIBUNTU, JAWA BARAT DAN KARAKTERISASI RESISTENSI ASAM DAN LOGAM

Kesi Kurnia[✉], Nina Hermayani Sadi², Syafitri Jumianto¹

¹Universitas Al Azhar Indonesia, Jl Sisingamangaraja Kebayoran Baru, 12110 South Jakarta, Indonesia

²Indonesian Institute of Science, Jl Raya Jakarta-Bogor Km 46, Cibinong Bogor 16911, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Januari 2016
Disetujui Maret 2016
Dipublikasikan April 2016

Keywords:
acid resistant, heterotrophic bacteria, metal resistant, pond Cibuntu

Abstrak

Bakteri heterotrofik sangat berperan penting dalam sistem perairan karena kemampuan aktivitas metabolismenya. Mereka berinteraksi dengan logam dan mineral dalam lingkungan alam dan sintetis, mengubah keadaan fisik dan kimianya, logam dan mineral tersebut juga dapat mempengaruhi aktivitas, pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri resisten logam dan asam di Situ Cibuntu, Cibinong, Jawa Barat. Sampel air diambil dari 3 titik di Situ Cibuntu dan dianalisa distribusi bakteri heterotrofiknya. Isolat bakteri ditanam di media *Tryptone Glucose Yeast* (TGY). Selanjutnya dilakukan resistensi terhadap logam timbal (Pb) dan asam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri heterotrof di Situ Cibuntu sebanyak 3.5×10^3 cfu mL⁻¹. Mayoritas (73%) isolat bakteri resisten terhadap logam dan sebanyak 47% resisten terhadap asam (pH 4). Bakteri yang resisten didominasi oleh Gram negatif. Penelitian ini memberikan pengetahuan mengenai kemampuan adaptasi bakteri heterotrof pada lingkungan logam dan asam.

Abstract

Heterotrophic bacteria play an important role in aquatic systems because of their ability of metabolic activities. They interact with metals and minerals in natural and synthetic environments, altering their physical and chemical state, with metals and minerals also able to affect activity, microbial growth and survival. The study aim to isolate and characterize the lead (Pb) and acid resistant of heterotrophic bacteria strains isolated from pond Cibuntu, Cibinong, West Java. Water samples were collected from three points around pond Cibuntu and analyzed the distribution of heterotrophic bacteria. The bacterial isolates were screened on Tryptone Glucose Yeast (TGY) agar plates. Lead (Pb) metal and acidic tolerance were tested. In the present study, the population density of heterotrophic bacteria were recorded 3.5×10^3 cfu mL⁻¹. The majority (73%) of bacteria isolates were resistant to lead and 47% to acid (pH 4). The most abundant type of bacteria resistant was Gram negative. This experiment provides the base to link the adaptation capabilities of heterotrophic bacteria in metal and acid environment.

© 2016 Universitas Negeri Semarang

[✉] Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lt.1, Jl. Raya Sekaran,
Gunungpati, Semarang, Indonesia 50229
E-mail: kesi.kurnia@gmail.com

PENDAHULUAN

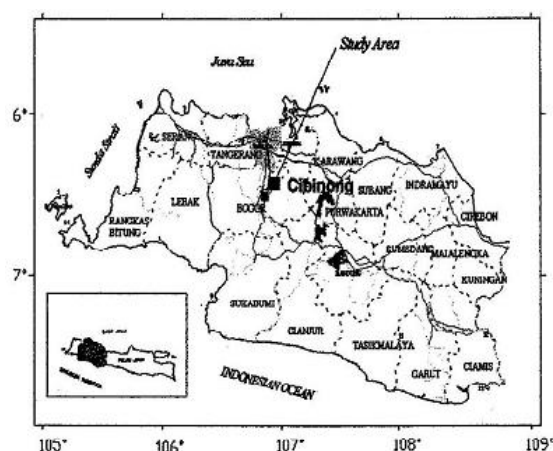
Perairan situ merupakan salah satu tipe ekosistem perairan tawar tergenang dengan ukuran kecil. Di lingkungan perairan tersebut, keterlibatan mikroorganisme jelas tidak dapat diabaikan (Feliatra 2001). Bakteri heterotrofik mampu memanfaatkan bahan organik maupun anorganik pada lingkungan tempat tumbuhnya sebagai sumber nutrisi. Dalam siklus biogeokimia di perairan danau, bakteri heterotrofik memiliki peran sebagai perombak dan mampu meremineralisasi bahan-bahan organik menjadi komponen anorganik sederhana yang dikembalikan ke dalam tanah dan atmosfer sebagai hara (Luo *et al.* 2010).

Situ Cibuntu yang terletak di Kompleks LIPI Cibinong Kabupaten Bogor Jawa Barat, dengan luas area 15.026 m² dan kedalaman rata-rata 0,85 m merupakan laboratorium alam untuk mempelajari karakter limnologis khusus untuk perairan situ. Situ tersebut banyak menerima masukan bahan organik dari daerah sekelilingnya yang berupa lahan pertanian. Peningkatan bahan organik pada perairan dapat meningkatkan populasi bakteri heterotrof di perairan Cibuntu (Badjoeri & Zarkasyi 2010).

Masuknya limbah domestik pada perairan dapat menyebabkan perubahan tingkat keasaman (pH) dan kadar logam yang dapat berdampak pada organisme di dalam perairan tersebut. Kondisi yang sangat asam dapat menyebabkan kerusakan membran dan lepasnya komponen intraseluler bakteri sehingga dapat menyebabkan kematian pada bakteri. Logam berat merupakan bahan pencemar berbahaya karena sifatnya yang tidak dapat didegradasi (*non degradable*) oleh mikroorganisme hidup di lingkungan, sehingga apabila terakumulasi bahkan mengendap di dasar perairan maka dapat membentuk senyawa kompleks bersama bahan organik dan anorganik secara proses kimiawi (Badjoeri & Zarkasyi 2010). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai sifat resistensi asam dan resistensi logam pada bakteri di Situ Cibuntu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Limnologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong. Sampel air diambil dari Situ Cibuntu yang berada di Kompleks LIPI Cibinong (Gambar 1). Sampel air diambil secara aseptik menggunakan botol steril dan disimpan dalam *cooling box*.



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel di Situ Cibuntu, Cibinong, Jawa Barat (Subehi & Fakhrudin, 2011)

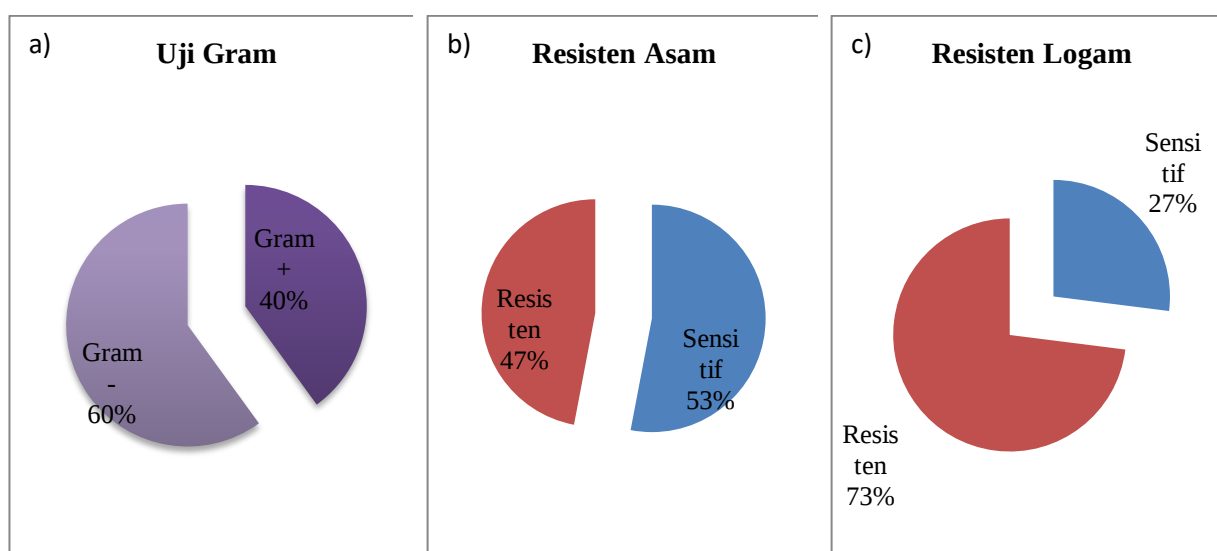
Sampel air dianalisa secara mikrobiologi dengan dikultur menggunakan metode pengenceran pada media non selektif agar *Tryptone Glucose Yeast* (TGY) secara duplo. Kelimpahan total bakteri heterotrofik dihitung menggunakan metode CFU's (*Colony Forming Units*) per ml. Isolat bakteri selanjutnya dilakukan karakterisasi meliputi uji Gram, resistensi asam, dan resistensi logam. Uji Gram dilakukan dengan mencampurkan satu lup isolat bakteri pada *object glass* yang telah ditetesi KOH 3% sebanyak 10 µl, kemudian diamati terbentuk tidaknya lendir. Jika terbentuk lendir maka bakteri tersebut dikelompokkan ke dalam Gram negatif (-) namun jika tidak terbentuk lendir maka tergolong Gram positif (+). Pada uji resistensi asam, isolat bakteri diinokulasikan pada media *Nutrient Broth* (NB) yang sebelumnya sudah ditambahkan HCl sehingga memiliki pH 4. Bakteri yang tahan asam akan tumbuh

dan menyebabkan media menjadi keruh. Uji resistensi logam dilakukan dengan menginokulasikan bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA). Selanjutnya kertas cakram steril yang mengandung Pb 100 ppm diletakkan di atas koloni bakteri. Bakteri yang tahan logam akan menunjukkan pertumbuhan di sekeliling kertas cakram tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah bakteri yang diisolasi di Situ Cibuntu yaitu $3,5 \times 10^3$ CFU/ml. Tingginya bahan organik

yang masuk ke perairan Cibuntu menyebabkan peningkatan bakteri heterotrof di situ tersebut. Bakteri heterotrof dapat memperoleh makanan yang berupa zat organik dari lingkungannya yang kemudian dirombak atau didekomposisi dan diremineralisasi menjadi unsur-unsur hara. Dalam ekosistem perairan, organisme perombak seperti bakteri heterotrof memanfaatkan sisa organisme yang telah mati untuk diurai menjadi unsur-unsur yang dikembalikan ke dalam tanah dan atmosfer sebagai hara yang dapat digunakan kembali oleh tanaman (Aminulloh 2011).



Gambar 1. Karakterisasi isolat bakteri Situ Cibuntu

Bakteri yang diisolasi dari Situ Cibuntu menunjukkan sebanyak 40% Gram positif dan 60% Gram negatif (Gambar 1a). Penggunaan metode Gram menggunakan KOH disebabkan lebih mudah dan praktis dibanding prosedur pewarnaan Gram. Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan lemak yang tipis sedangkan Gram negatif memiliki lemak tebal dan ber dinding sel tipis yang berada di ruang periplasma. KOH akan menyerang lemak (bilayer lipid) dan membuat sel Gram negatif pecah sedangkan Gram positif tidak terpengaruh (Chandra & Mani 2012).

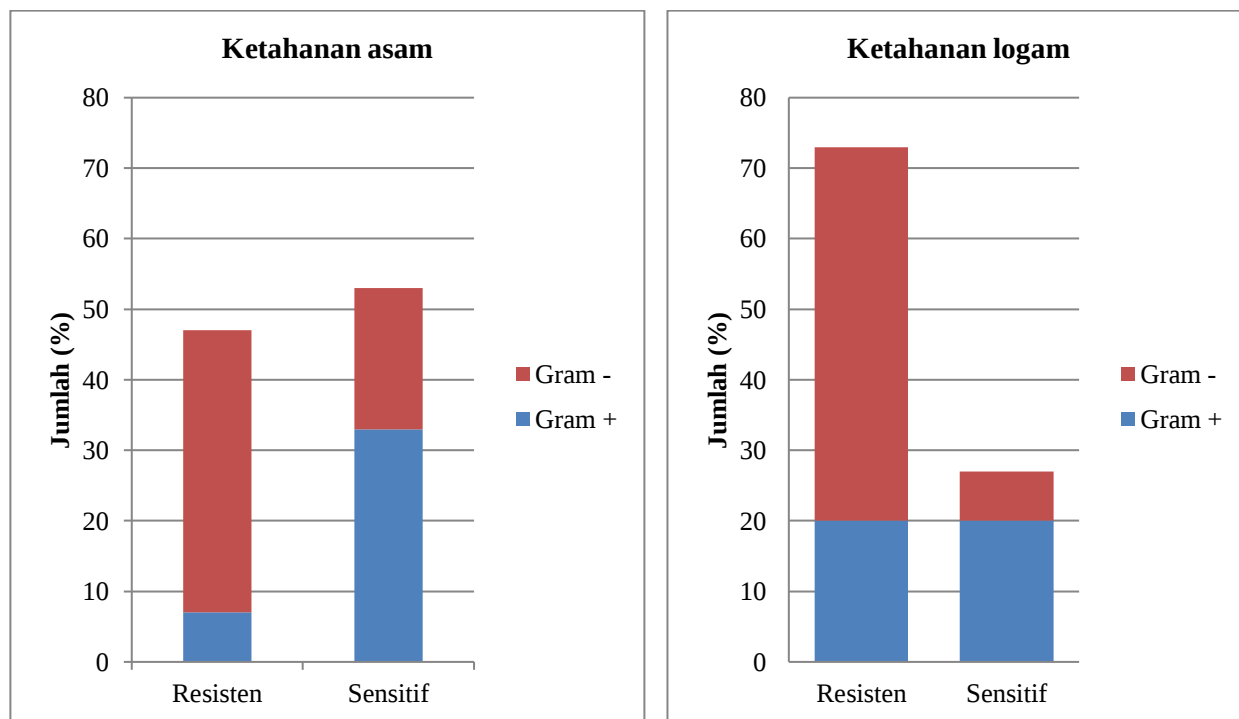
Bakteri yang resisten terhadap asam lebih sedikit dibanding bakteri yang sensitif (Gambar 1b).

Bakteri yang tahan terhadap asam memiliki ketahanan yang lebih besar terhadap kerusakan membran akibat penurunan pH dibandingkan bakteri yang tidak tahan terhadap asam. Menurut Susanti *et al.* (2007) komposisi asam lemak dan protein penyusun membran yang beragam diantara spesies bakteri diduga mempengaruhi keragaman ketahanan bakteri terhadap pH rendah. Perbedaan tersebut disebabkan karakter fisiologis dari masing-masing bakteri yang berbeda-beda.

Sebanyak 73% bakteri lebih resisten terhadap logam (Gambar 1c). Bakteri yang tahan terhadap toksisitas logam berat mengalami perubahan sistem transpor di membran selnya sehingga terjadi

penolakan atau pengurangan logam yang masuk ke dalam sitoplasma. Pada bakteri yang tahan logam, logam yang tidak dapat melewati membran sel akan terakumulasi dan diendapkan atau diserap di

permukaan sel (Arrizal *et al.* 2013). Pengikatan logam berat oleh bakteri dapat dipisahkan menjadi fase pengikatan dan transport aktif (Arrizal *et al.* 2013).



Gambar 2. Hubungan antara Gram, Ketahanan asam, dan Ketahanan logam

Banyak isolat Gram negatif yang resisten terhadap asam maupun logam (Gambar 2). Menurut Susanti *et al.* (2007) toleransi relatif dari mikroorganisme terhadap lingkungan asam tergantung dari galur bakteri. Komposisi asam lemak dan protein penyusun membran yang beragam diantara spesies bakteri juga mempengaruhi keragaman ketahanan bakteri pada pH rendah (Susanti *et al.* 2007). Selain itu, Ahmad *et al.* (2005) juga menyatakan bahwa bakteri Gram negatif umumnya lebih toleran terhadap pengaruh logam berat dibandingkan bakteri Gram positif karena struktur dinding selnya yang kompleks dimana dapat mengikat dan mengimobilisasi sebagian besar ion logam termasuk Pb^{2+} . Umumnya daya tahan bakteri terhadap berbagai jenis logam berat disebabkan adanya suatu faktor penentu yang memberikan resistensi terhadap satu atau sejumlah kecil logam berat. Resistensi tersebut berhubungan dengan gen di kromosom, plasmid atau transposon yang mengatur mekanisme seperti transport aktif yang melibatkan ATP untuk Pb (Zulaika *et al.* 2012). Mekanisme resistensi pada bakteri meliputi pengaliran logam keluar sel bakteri, modifikasi spesies logam, pengurangan logam, atau kombinasi dari mekanisme tersebut (Bontidean *et al.* 2003).

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri heterotrof dari Situ Cibuntu mayoritas resisten terhadap logam tapi masih sensitif terhadap asam. Bakteri yang resisten didominasi oleh Gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Hayat, S., Ahmad, A., Inam, A., & Samiullah. (2005). Effect of heavy metal on survival of certain groups of indigenous soil microbial population. *J Appl Sci Environ*: 115 – 121.
- Aminulloh, F. (2011). Analisis bahan organik dan nitrogen total pada sistem budidaya ikan pada skala laboratorium. Bogor: Program Keahlian Analisis Kimia IPB.
- Arrizal, S., Rachmadiarti, F., & Yuliani. (2013). Identifikasi rhizobakteri pada semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang terpapar logam berat timbal (Pb). *LenteraBio* 2: 165–169.
- Badjoeri, M., & Zarkasyi, H. (2010). *Isolasi dan seleksi bakteri bioremoval logam berat merkuri*. Prosiding Seminar Nasional Limnologi V tahun 2010. hlm 543-556.
- Bontidean, I., Ahlqvist, J., Mulchandani, A., Chen, W., Bae, W., Mehra, R. K., Mortari, A., & Csoregi, E. (2003). Novel synthetic phytochelatin-based capacitive biosensor for heavy metal ion detection. *Biosensors Bioelectronics* 18: 547-553.
- Chandra, T. J., & Mani, S. (2011). A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. *J Med Allied Sci* 1(2): 84-85.
- Feliatra. (2001). Isolasi dan identifikasi bakteri heterotrof yang terdapat pada daun mangrove (*Avicenna sp* dan *Sonneratia sp*) dari kawasan stasiun kelautan duma. *J Natur Indones* III: 104-112.
- Luo, Y. W., Friedrichs, M. A. M., Doney, S. C., Church, M. J., & Ducklow, H. W. (2010). Oceanic heterotrophic bacterial nutrition by semilabile DOM as revealed by data assimilative modeling. *Aquatic Microbiol Ecol*: 273-287.
- Subehi, L., & Fakhruddin, M. (2011). Preliminary study of the changes in water temperature at pond Cibuntu. *J Ecol and the Natural Env* 3(3):72-77.
- Susanti, I., Kusumaningtyas, R., & Illaningtyas, F. (2007). Uji sifat probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan nasional. *J Teknol Industri Pangan* XVIII: 89-95.
- Zulaika, E., Luqman, A., Arindah, T., & Sholikah, U. (2012). *Bakteri resisten logam berat yang berpotensi sebagai bioasorben dan bioakumulator*. Di dalam: Waste Management for Sustainable Urban Development: Surabaya 21 Feb 2012. Surabaya: Teknik Lingkungan Institut Teknologi Surabaya. hlm 1-5.