

POTENSI FORMULASI BAKTERI PEREDUKSI NITRAT WADUK SUTAMI MALANG DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *MICROCYSTIS*

C. Retnaningdyah*, U. Marwati*, Suharjono*, N. Ajijah*, Marjono**, A. Soegianto***, dan B. Irawan***

* Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

** Jurusan Matematika Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

*** Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga

E-mail: catur@brawijaya.ac.id

ABSTRACT

The problem facing in water ecosystem especially reservoir in Indonesia is the blooming of *Microcystis*. The specific objective of this research was to determine the ability of indigenous bacteria formulation from Sutami reservoir, which are known have a capability of reducing nitrate, to controlled *Microcystis* growth. The research methodology as follow: the bacteria formulation was isolated from Sutami reservoir that had been tested having potency to reduce nitrate, than we carried out to examine the effect of that bacteria formulation toward the growth rate of *Microcystis*. This experiment have been done in laboratory. The formula of bacteria and *Microcystis* were grown together in sterilized natural media from Sutami reservoir adding with $\text{NO}_3\text{-N}$ 5 ppm. The treatment of this research were aeration and non aeration and variation of light intensity (2–3 Klux and 5–9 Klux). Incubation was done in laboratory with constant light for 12 hours per day. The abundance of *Microcystis* and bacteria were counted every day for 13 days. Then, the environment parameters such as pH, conductivity, concentration of nitrate, nitrite and ammonium were measured every weeks. The experiment was done with three replications at the same time using completely randomized design. The research result showed that there were found 22 species of bacteria capable to reduce nitrate in selective media, but only six species have highest potency to reduce nitrate more than 90%. The consortium of the six bacteria with abundance 4×10^7 cell/mL able to controlled the growth of *Microcystis* in laboratory 80–95% be started at sixth day after incubation. The bacteria consortium was found in this research can be recommended to used as bioagent active to controlled *Microcystis* blooming in the water if culturing of these bacteria utilize medium having no potency as source of pollutant in the water.

Key words: bacteria, nitrate reducing, *Microcystis*, Sutami reservoir

PENGANTAR

Hasil pemantauan terhadap kualitas air di waduk Sutami yang dilakukan oleh Samino dan Retnaningdyah (2004), serta Retnaningdyah dan Samino (2005 dan 2006) terhadap kualitas air di waduk Sutami menunjukkan bahwa baik pada tahun 2004 (Oktober–Desember), 2005 (Januari–Desember) maupun tahun 2006 (Januari–Maret) perairan waduk Sutami termasuk dalam kategori eutrofik dengan kadar nitrogen dan fosfat yang tinggi. Kadar nitrat pada waktu pantau 2004 sampai 2006 tersebut berkisar antara 0,325–11,07 mg/L. Kadar nitrit berkisar antara 0,04–0,81 mg/L. Sedangkan kadar fosfat total di waduk Sutami selama waktu pantau 2004–2006 berkisar antara 0,01–1,91 mg/L. Parameter kualitas air tersebut telah melebihi standar baku mutu Kelas II untuk keperluan prasarana/sarana rekreasi air dan pembudi dayaan ikan air tawar berdasarkan PP No. 82 Th 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, yaitu sebesar 10 mg/L untuk nitrat, 0,06 mg/L untuk nitrit dan 0,2 mg/L untuk fosfat total.

Eutrofikasi yang telah terjadi di perairan waduk Sutami tersebut dapat mengakibatkan terjadinya peledakan (*blooming*) populasi dari jenis-jenis mikroalga terutama

Cyanobacteria. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Retnaningdyah dkk. (2002), menunjukkan bahwa di waduk Sutami pada daerah bendungan terjadi dominansi *Microcystis* spp. Berdasarkan hasil monitoring selama tahun 2004 sampai bulan Maret 2006 ditemukan bahwa *Microcystis* spp. bersama-sama dengan *Synedra* sp. dan *Ceratium* sp. selalu ada dalam kelimpahan yang tinggi di waduk Sutami meskipun tidak sampai mengakibatkan terjadinya *blooming* (Samino dan Retnaningdyah, 2004; Retnaningdyah dan Samino, 2005 dan 2006).

Microcystis adalah sejenis *blue-green algae* (Cyanobacteria) yang biasa tumbuh di permukaan air. Organisme ini dapat membentuk koloni seperti pollen yang terapung di permukaan air dengan warna hijau kekuning-kuningan. Pada kondisi yang normal *Microcystis* ini tidak berbahaya bagi organisme lain atau manusia. Di daerah subtropis, faktor utama yang dapat memicu pertumbuhan secara cepat (*blooming*) dari *Microcystis* adalah suhu tinggi dan tingginya nutrisi terutama nitrat (Dokulil dan Teubner, 2000; Ramirez dan Bicudo, 2005). Pada kondisi *blooming*, *Microcystis* dapat menghasilkan racun yang disebut *microcystin* yang terutama dikeluarkan ke air pada

saat sel tersebut mati dan pecah. *Microcystis* mempunyai sifat toksik tinggi baik terhadap tumbuhan maupun hewan sampai dapat menyebabkan kematian (Romanowska-Duda *et al.*, 2002; Ferrão-Filho *et al.*, 2002; Oberholster *et al.*, 2004; Closs *et al.*, 2006).

Uraian di atas menunjukkan bahwa *Microcystis* merupakan jenis yang membahayakan bagi organisme yang lain. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan pengendalian terhadap *blooming Microcystis* di waduk Sutami. Pengendalian *blooming Microcystis* yang sedang terjadi di perairan dapat dilakukan dengan mengoptimalkan bakteri insitu yang berpotensi secara efektif dapat mereduksi bahan pencemar penyebab *blooming*. Menurut Retnaningdyah (2008) peningkatan total P, total N, padatan tersuspensi dan BOD dapat mendorong peningkatan kelimpahan *Microcystis* di waduk Sutami. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pada konsentrasi fosfat yang sama, peningkatan nutrisi nitrat di media BG-11 sampai 16 mg/L dapat meningkatkan pertumbuhan *Microcystis*. Sedangkan konsentrasi fosfat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Microcystis* hanya sedikit, yaitu 0,2 sampai 0,4 mg/L (Retnaningdyah dkk., 2007).

Dengan demikian, pengendalian *blooming Microcystis* di waduk Sutami dapat dilakukan melalui teknik bioremediasi dengan memanfaatkan bakteri yang ada di lingkungan perairan untuk mereduksi nitrat sebagai faktor utama penyebab *blooming* tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi konsorsium bakteri pereduksi nitrat yang diisolasi dari waduk Sutami dalam menghambat pertumbuhan *Microcystis* sehingga selanjutnya formulasi tersebut dapat dipakai untuk mengendalikan terjadinya *blooming Microcystis* yang sedang terjadi di suatu perairan.

BAHAN DAN CARA KERJA

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai November 2008. Pengambilan sampel air, bakteri dan *Microcystis* dilakukan di waduk Sutami Malang. Analisis kualitas kimia air dilakukan di Laboratorium Perum Jasa Tirta I Malang. Isolasi dan pembuatan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, sedangkan perlakuan pengaruh formulasi bakteri pereduksi nitrat terhadap pertumbuhan *Microcystis* dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biodiversitas Hewan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang.

Isolasi dan Pembuatan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat

Isolasi bakteri pereduksi nitrat dari air waduk Sutami dilakukan dengan membuat seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} dengan garam fisiologis 0,85% sebagai larutan pengencer. Sebanyak 0,1 mL setiap seri pengenceran diinokulasikan ke dalam medium agar nitrat pH 7: 15 g/L Bacto agar, 1 g/L KNO₃, 17 g/L *pancreatic digest casein*, 3 g/L *papaic digest of soybean meal*, 5 g/L sodium chloride, 2,5 g/L di-basic potassium fosfat, 2,5 g/L glukosa. Kultur diinkubasi pada suhu ruang sampai terbentuk koloni. Selanjutnya dilakukan pengujian kemampuan mereduksi nitrat dari koloni-koloni yang tumbuh. Isolat yang digunakan untuk konsorsium adalah enam isolat yang mempunyai kemampuan mereduksi nitrat tertinggi dan tidak mempunyai sifat antagonistik. Masing-masing isolat diremajakan dengan menggoreskan satu ose bakteri ke dalam medium TSA (*Trypticase Soy Agar*) miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pembuatan stok kultur formula bakteri dilakukan dengan menginokulasikan satu ose isolat tiap-tiap bakteri pereduksi nitrat yang digunakan ke dalam 20 mL media denitrifikasi *Trypticase Soy Broth* -OXOID (TSB). Stok kultur, diinkubasi dengan agitasi 120 rpm pada suhu 30° C selama 24 jam. Selanjutnya 10% stok kultur diinokulasikan ke dalam media alami steril dan diinkubasi dengan agitasi 120 rpm pada suhu 30° C selama 24 jam. Kultur yang telah diinkubasi digunakan sebagai stok inokulum dan 3×10^8 sel/mL inokulum dipakai untuk perlakuan.

Eksplorasi dan Purifikasi *Microcystis*

Sampel *Microcystis* yang akan dipakai untuk isolasi dan pengkulturan *Microcystis* di laboratorium dieksplorasi dengan menggunakan jaring plankton yang ditarik mendatar pada permukaan perairan waduk Sutami yang sedang *blooming Microcystis*. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan dalam *coolbox* selama perjalanan. Purifikasi dilakukan dengan menyaring sampel *Microcystis* menggunakan saringan *nylon* dan dibilas dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) steril untuk mempertahankan kondisi sel-sel *Microcystis* selama penyaringan. Pembuatan stok inokulum *Microcystis* dilakukan dengan memilih sel-sel di bawah mikroskop secara aseptis dimasukkan ke dalam media selektif B-12 yang akan dipakai untuk perlakuan dengan kepadatan 5×10^7 sel/mL⁻¹.

Uji Pengaruh Formulasi Bakteri Pereduksi Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan *Microcystis* dari Waduk Sutami

Konsorsium enam bakteri pereduksi nitrat yang diisolasi dari waduk Sutami selanjutnya dilihat pengaruhnya terhadap

laju pertumbuhan *Microcystis*. Percobaan ini dilakukan secara eksperimental murni pada skala laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap faktorial, dengan faktor berupa DO (aerasi dan tanpa aerasi) dan intensitas cahaya (2–3 Klux dan 5–9 Klux). Sebagai kontrol pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap pertumbuhan *Microcystis* dan konsorsium bakteri secara sendiri-sendiri pada tiap-tiap perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak dua kali. Penelitian ini menggunakan media air alami waduk Sutami yang disterilisasi terlebih dahulu dan ditambah 5 mg/L NO₃-N dari NaNO₃.

Teknik kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah *batch cultur*, yaitu dengan menambahkan 15% (3,10⁸ sel/mL) kultur konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan 15% (3,10⁵ sel/mL) kultur *Microcystis* dalam media alami steril selama 15 hari (fase stasioner dari *Microcystis*). Konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan *Microcystis* dalam media alami steril dikondisikan dengan intensitas cahaya dan aerasi yang berbeda. Lamanya penyinaran yang dilakukan adalah 12 jam.hari⁻¹. Intensitas cahaya yang diberikan adalah intensitas cahaya buatan yang berkekuatan 2–3 klux dan 5–9 klux dengan sumber cahaya dari lampu neon Osram 23 Watt. Parameter yang diamati adalah kelimpahan sel konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan *Microcystis* dihitung menggunakan *haemocytometer* setiap 24 jam. Pengukuran faktor abiotik meliputi: intensitas cahaya ruang, suhu media, suhu udara, konduktivitas media dan pH media yang diukur tiap dua hari sekali. Konsentrasi amonia, nitrit, nitrat dan ortofosfat diukur setiap lima hari sekali (Cleceri *et al*, 1989). Perhitungan kelimpahan sel *Microcystis* dilakukan setiap hari menurut Joung *et al* (2006), sedangkan perhitungan sel bakteri dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer* setelah sampel kultur bakteri tersebut diambil dan diberi formalin 4%.

Analisis Data

Model kurva pertumbuhan *Microcystis* dicari dengan membuat kurva standar nonlinear dalam bentuk kurva logistik atau sigmoid. Untuk mengetahui perbedaan pola pertumbuhan antar perlakuan dilakukan uji Anova. Pembuatan kurva fit dilakukan dengan program *Genstat for Windows* dengan rumus:

$$Y_i = \alpha + \frac{\gamma}{1+e^{(-\beta(X_i - \mu)}} + \xi$$

Keterangan:

Y_i : Kelimpahan *Microcystis* pada waktu i

α : Asimtot yang paling rendah

γ : Jumlah individu maksimum yang dapat didukung oleh lingkungan

e : 2,71828

μ : Konstanta (titik perubahan untuk variabel penjelas)

β : Laju pertumbuhan intrinsik populasi (*slope parameter*)

X_i : Waktu ke i

HASIL

Potensi Konsorsium Bakteri-bakteri Pereduksi Nitrat dari Perairan Waduk Sutami

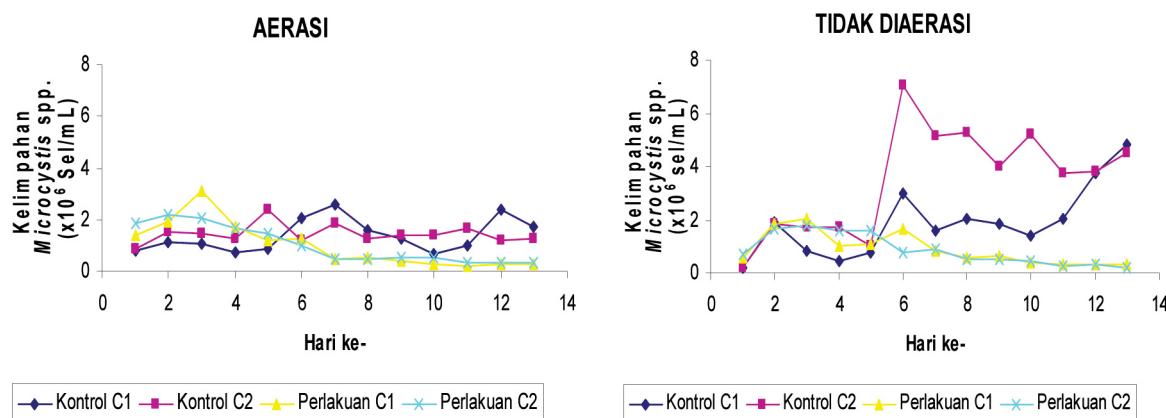
Pada penelitian ini telah ditemukan 22 jenis bakteri dari waduk Sutami yang berhasil diisolasi dan diduga mampu mereduksi nitrat. Berdasarkan hasil seleksi secara kuantitatif untuk mengetahui potensinya dalam menurunkan kadar nitrat ditemukan enam isolat yang mempunyai kemampuan mereduksi nitrat $\geq 90\%$. Enam isolat tersebut memiliki bentuk sel basil (batang). Panjang sel bervariasi antara 2,25–5 μm , adapun diameter sel bervariasi antara 0,98–2,23 μm . Dua isolat tergolong gram negatif, sedangkan keempat isolat lainnya tergolong gram positif. Tiga isolat memiliki endospora dan yang lain tidak memiliki. Hasil uji motilitas menunjukkan bahwa keseluruhan enam isolat tersebut bersifat motil, hal ini mengindikasikan bahwa masing-masing isolat tersebut memiliki flagela.

Keenam isolat tersebut setelah dijadikan satu konsorsium dalam media selektif *Trypticase Soy Broth* (TSB) maupun B-12 mampu mereduksi nitrat 96–99% selama waktu inkubasi 24 jam. Hasil uji asosiasi antarisolat konsorsium tersebut menunjukkan hasil uji yang negatif dengan tidak membentuk zona hambat pada saat isolat tersebut dikulturkan secara bersamaan. Dengan demikian keenam isolat yang digunakan pada konsorsium ini tidak bersifat antagonis sehingga dapat digunakan secara bersama-sama untuk uji potensi dalam menghambat pertumbuhan *Microcystis*.

Pengaruh Formulasi Bakteri Pereduksi Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan Cyanobacteria *Microcystis*

Microcystis di laboratorium dapat dihambat pertumbuhannya oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat. Hal ini dapat dilihat dari perbandingan pola pertumbuhan *Microcystis* kontrol dengan yang diberi penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat Gambar 1. Hasil Anova pada pola pertumbuhan tersebut menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan masing-masing perlakuan dengan model sigmoid adalah nyata dengan tingkat signifikansi $< 0,001$. Adapun perincian nilai pada tiap-tiap parameter pada model pertumbuhan tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan Gambar 1 tersebut dapat dilihat bahwa pertumbuhan *Microcystis* dengan perlakuan penambahan bakteri pereduksi nitrat sebesar 4×10^7



Gambar 1. Perbandingan pola pertumbuhan populasi *Microcystis* kontrol dan perlakuan (tanpa dan dengan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat) dengan perbedaan intensitas cahaya inkubasi (Keterangan: C1 = intensitas cahaya 2–3 klux; C2 = intensitas cahaya 8–9 klux; data dirata-rata dari dua ulangan)

Tabel 3. Nilai masing-masing parameter kurva pertumbuhan *Microcystis* tiap perlakuan

Perlakuan	$\beta \pm se$	$\mu \pm se$	$\gamma \pm se$	$\alpha \pm se$
AERASI:				
Kontrol C1	$3,25 \pm 9,19$	$11,62 \pm 1,44$	$81,30 \pm 70,00$	$125,00 \pm 19,00$
Perlakuan C1	$-1,22 \pm 1,27$	$5,68 \pm 0,97$	$177,90 \pm 52,20$	$28,60 \pm 27,40$
Kontrol C2	$6,00 \pm 1015,00$	$5,30 \pm 53,90$	$4,20 \pm 37,40$	$146,70 \pm 29,80$
Perlakuan C2	$-1,26 \pm 1,43$	$5,43 \pm 1,03$	$165,20 \pm 52,70$	$38,00 \pm 26,50$
TIDAK DIAERASI:				
Kontrol C1	$0,12 \pm 0,86$	$39,00 \pm 1405,00$	$9972,00 \pm 1427893$	$-41,00 \pm 801,00$
Perlakuan C1	$-2,11 \pm 5,94$	$4,13 \pm 1,46$	$80,90 \pm 49,90$	$65,60 \pm 21,70$
Kontrol C2	$0,45 \pm 0,33$	$3,25 \pm 2,99$	$589,00 \pm 413,00$	$-93,00 \pm 378,00$
Perlakuan C2	$-1,19 \pm 1,92$	$6,75 \pm 1,52$	$112,40 \pm 49,50$	$32,70 \pm 31,30$

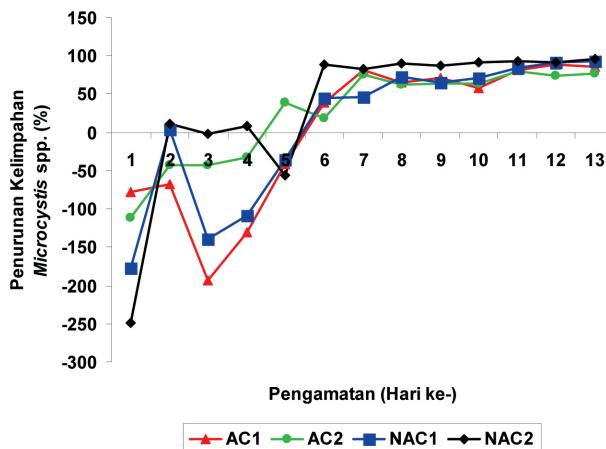
Keterangan: Kontrol dan perlakuan = tanpa dan dengan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat; C1 = intensitas cahaya 2–3 klux; C2 = intensitas cahaya 8–9 klux; α : Kelimpahan awal *Microcystis*; γ : kelimpahan individu maksimum yang dapat didukung oleh lingkungan; μ : konstanta; β : laju pertumbuhan intrinsik populasi

sel/mL mulai menurun setelah hari ke-6 inkubasi untuk seluruh perlakuan baik aerasi maupun non aerasi dengan intensitas cahaya pada saat inkubasi 2–3 klux maupun 5–9 klux. Kelimpahan *Microcystis* tertinggi yang bisa dicapai setelah inkubasi hari keenam pada kontrol berkisar antara $1,86 \times 10^6$ – $5,21 \times 10^6$ sel/mL, sedangkan pada perlakuan pemberian konsorsium bakteri pereduksi nitrat bisa menekan pertumbuhan *Microcystis* sehingga hanya bisa mencapai kelimpahan tertinggi yang berkisar antara $5,2 \times 10^5$ – $5,6 \times 10^5$ sel/mL.

Laju pertumbuhan populasi *Microcystis* yang dapat dilihat dari nilai slope (β) pada perlakuan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat menunjukkan nilai negatif (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa konsorsium bakteri pereduksi nitrat dapat menghambat pertumbuhan *Microcystis* baik pada media yang diberi aerasi atau tidak dengan intensitas cahaya yang berbeda. Sedangkan

kelimpahan *Microcystis* maksimum yang bisa didukung oleh media masing-masing perlakuan (γ) menunjukkan perbedaan. Penurunan nilai γ pada perlakuan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat hanya terjadi pada perlakuan yang tidak diberi aerasi, sedangkan pada perlakuan yang diberi aerasi terjadi sebaliknya. Inkubasi pada media yang tidak diberi aerasi secara umum dapat mendukung kelimpahan *Microcystis* yang lebih tinggi (589–9.972 sel/mL) dibandingkan dengan yang diberi aerasi (4,2–81,3 sel/mL).

Hasil perhitungan persentase penurunan kelimpahan *Microcystis* oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil ini juga menunjukkan bahwa penurunan kelimpahan *Microcystis* mulai terjadi setelah inkubasi konsorsium bakteri pereduksi nitrat selama enam hari.



Gambar 2. Persentase penurunan kelimpahan *Microcystis* oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat tiap perlakuan (Keterangan: A= aerasi; NA= tidak diaerasi; C1= intensitas cahaya 2–3 klux; C2= intensitas cahaya 8–9 klux).

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa perlakuan yang tidak diaerasi dapat menurunkan kelimpahan *Microcystis* lebih besar (94–95%) dibandingkan dengan perlakuan aerasi (80–88%). Sedangkan besarnya intensitas cahaya yang diperlakukan selama inkubasi (2–3 dan 5–9 klux) tidak berpengaruh secara nyata terhadap hasil penurunan kelimpahan *Microcystis*.

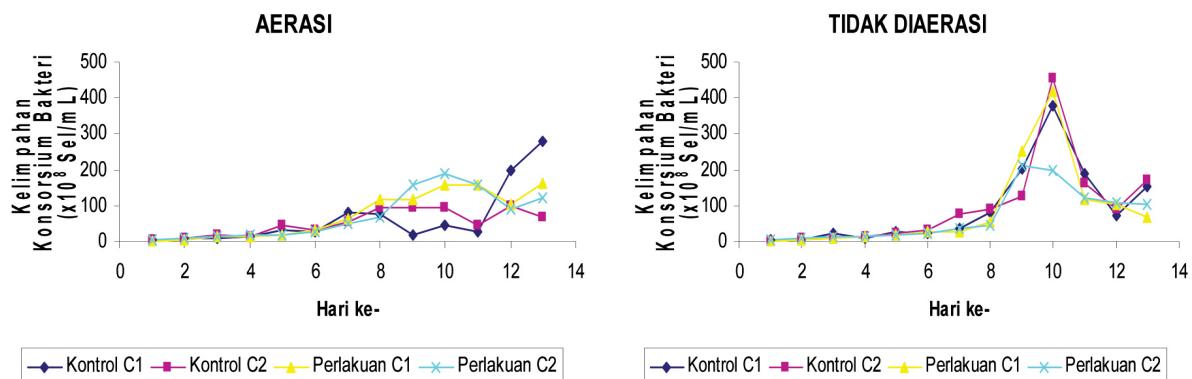
Pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat bahwa baik pada kontrol maupun perlakuan, fase lag terjadi sampai hari keenam yang ditunjukkan dari tidak terlalu besarnya peningkatan kelimpahan sel. Fase eksponensial terjadi mulai hari ke-6 sampai hari ke-10 atau hari ke-11 dan setelah itu terjadi fase stasioner.

Hasil ini apabila dilihat keterkaitannya dengan pertumbuhan *Microcystis* adalah sesuai, yaitu dengan adanya peningkatan pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat setelah hari keenam maka pertumbuhan *Microcystis* mulai terhambat.

Kualitas Air Selama Penelitian

Konsentrasi nitrat hari kelima secara umum lebih rendah dibandingkan hari pertama dan kadar ini terus menurun sampai pemantauan hari kesembilan (Gambar 4). Kadar nitrat pada kontrol (tanpa penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat) hari pertama setelah inkubasi adalah lebih besar (11–21 mg/L) dibandingkan perlakuan dengan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat (1–3 mg/L). Hal ini menunjukkan bahwa konsorsium bakteri pereduksi nitrat langsung memanfaatkan nitrat yang ada sehingga satu hari setelah inkubasi konsentrasi nitratnya sudah berkurang banyak. Perlakuan aerasi dan intensitas cahaya yang berbeda selama inkubasi tidak memengaruhi kadar nitrat pada media.

Berdasarkan hasil pemantauan terhadap kadar nitrit dan amonia pada perlakuan (Gambar 4), dapat dilihat bahwa kadar tersebut meningkat seiring dengan menurunnya kadar nitrat. Hal ini tidak terjadi pada kontrol. Kadar nitrit kontrol pada hari pertama setelah inkubasi adalah 0,04–0,06 mg/L dan kadar ini pada hari ke sebelas menurun menjadi 0,01–0,04 mg/L. Kadar nitrit pada perlakuan penambahan bakteri pereduksi nitrat hari pertama setelah inkubasi adalah 0,009–0,01 mg/L dan kadar meningkat menjadi 0,1–0,3 mg/L pada akhir pengamatan. Kadar ammonia kontrol pada hari pertama setelah inkubasi adalah 0,2–0,4 mg/L dan menurun menjadi 0,08–0,1 mg/L pada akhir inkubasi, sedangkan kadar ammonia perlakuan di hari

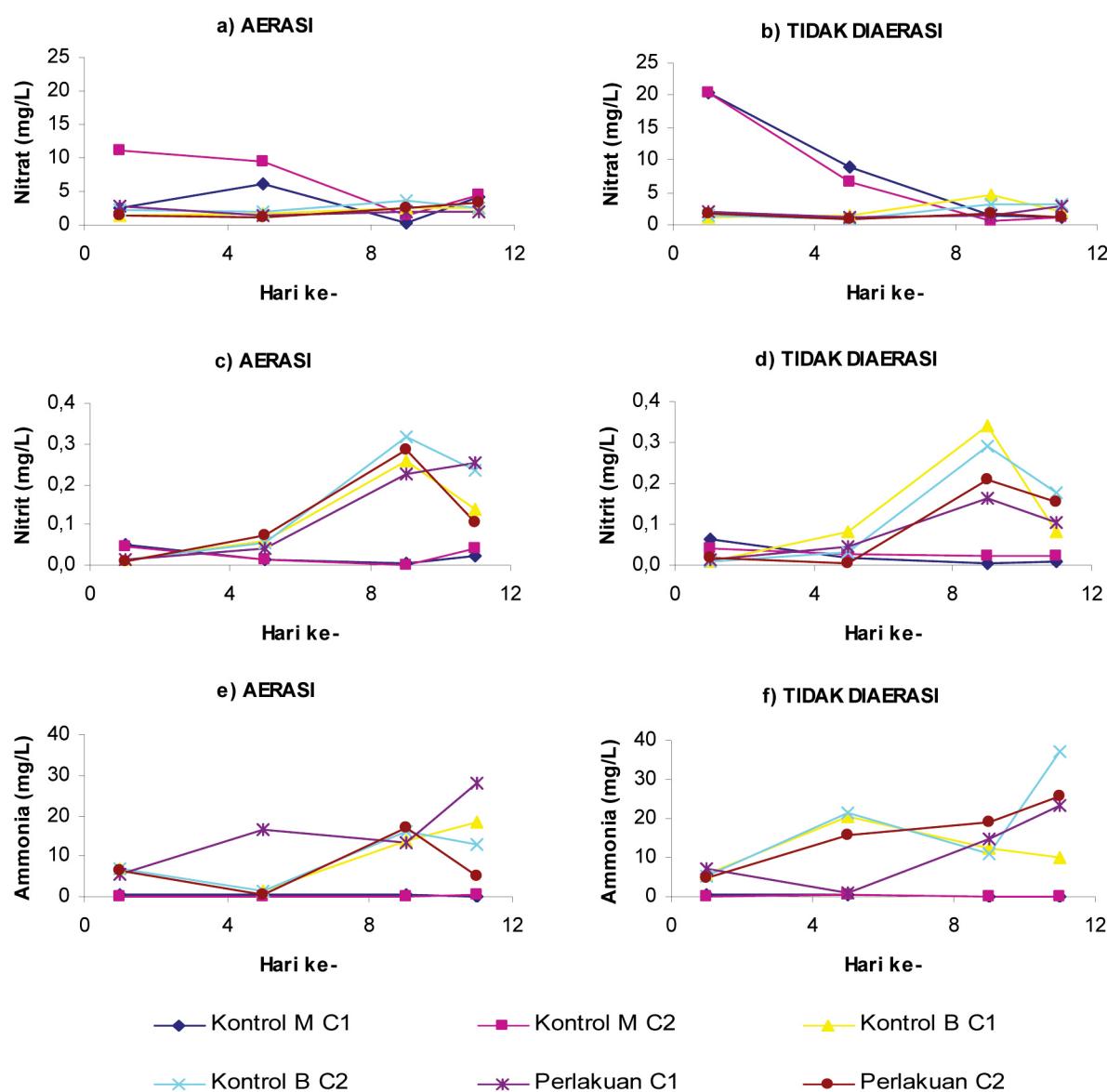


Gambar 3. Perbandingan pola pertumbuhan populasi bakteri pereduksi nitrat kontrol dan perlakuan (tanpa dan dengan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat) dengan perbedaan intensitas cahaya inkubasi (Keterangan: C1= intensitas cahaya 2–3 klux; C2= intensitas cahaya 8–9 klux; data dirata-rata dari dua ulangan).

setelah inkubasi sudah tinggi yaitu 4,9–6,9 mg/L dan terus meningkat menjadi 5–37 mg/L pada akhir inkubasi.

Nilai pH pada perlakuan penambahan bakteri pereduksi nitrat adalah lebih rendah dibandingkan kontrol, sedangkan nilai konduktivitas terjadi sebaliknya. Nilai pH satu hari setelah inkubasi pada perlakuan penambahan konsorsium bakteri berkisar antara 6,9–7,0. Sedangkan kontrol perlakuan (tanpa penambahan konsorsium bakteri) berkisar antara 8,0–8,5.

Nilai konduktivitas pada perlakuan kontrol adalah lebih rendah 0,3–0,5 mS/cm, sedangkan pada perlakuan penambahan konsorsium bakteri sangat tinggi dan berkisar antara 2,6–3,9 mS/cm. Berdasarkan pemantauan terhadap kualitas air waduk Sutami tahun 2004–2006 dapat diketahui bahwa nilai pH air di Waduk Sutami berkisar antara 7,9–9,6, dan nilai konduktivitas air berkisar antara 0,2–0,5 mS/cm. Dengan demikian nilai pH dan konduktivitas pada perlakuan tersebut telah melebihi nilai alaminya di waduk Sutami.



Gambar 4. Kadar nitrat (a,b), nitrit (c,d) dan ammonia (e,f) pada kontrol dan perlakuan (tanpa dan dengan penambahan konsorsium bakteri pereduksi Nitrat) dengan perbedaan intensitas cahaya inkubasi (Keterangan: C1 = intensitas cahaya 2–3 klux; C2 = intensitas cahaya 8–9 klux; M = *Microcystis*; B = Bakteri).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat 4×10^7 sel/mL mampu menghambat pertumbuhan *Microcystis* pada media alami air waduk Sutami yang disterilkan setelah inkubasi selama enam hari dengan penurunan kelimpahan *Microcystis* sebesar 80–95%. Hal ini diduga karena tingginya kadar nitrat di media dapat dimanfaatkan secara cepat oleh bakteri pereduksi nitrat yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan kelimpahan sel bakteri tersebut dengan bertambahnya waktu inkubasi. Menurut Maier *et al.* (2000) dan Prescott *et al.* (2003) aktivitas seluler suatu bakteri senantiasa dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi pada medium tumbuh serta lama waktu inkubasi. Jika nutrisi pada medium tersedia dalam jumlah yang besar maka aktivitas pertumbuhan sel akan berlangsung dalam jumlah yang banyak, namun ketika nutrisi tersedia dalam jumlah sedikit maka aktivitas pertumbuhan sel akan sedikit walaupun waktu inkubasi masih tersedia. Menurut Takaya *et al.* (2003) dan Blaszczyk (1993), pertumbuhan sel-sel bakteri pereduksi nitrat terjadi karena memanfaatkan ketersediaan nitrat pada medium sebagai salah satu nutrisi untuk tumbuh. Brittain *et al.* (1992) menambahkan bahwa secara umum hampir seluruh bakteri yang berpotensi dalam mereduksi nitrat memiliki enzim yang dapat menghidrolisis nitrat yang dikenal dengan istilah *nitrate reductase* yang umumnya bersifat ekstraseluler dan mengikat di membran (*membrane bound*).

Penurunan kadar nitrat di media sebagai hasil aktivitas bakteri pereduksi nitrat inilah yang kemudian dapat menekan pertumbuhan *Microcystis* oleh karena nutrisi yang dibutuhkan tidak terpenuhi. Menurut Brower *et al.* (1990), nitrogen merupakan salah satu elemen utama yang dibutuhkan untuk hidup, walaupun berlimpah sebagai gas atmosfer dalam bentuk molekul nitrogen (N_2), nitrogen harus dikonversikan dahulu ke dalam bentuk *ammonia*, *nitrat*, atau dalam beberapa bentuk organik sebelum digunakan oleh organisme. Menurut Abel (1989) *nitrat* adalah bentuk senyawa nitrogen stabil yang merupakan salah satu unsur penting untuk *sintesis protein* tumbuhan dan hewan. Pada konsentrasi yang tinggi nitrogen dapat menstimulasi pertumbuhan ganggang yang tak terbatas (bila beberapa syarat lain seperti konsentrasi fosfat terpenuhi). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan nitrat yang diubah menjadi nitrit dan ammonium telah menghambat pertumbuhan *Microcystis*.

Berdasarkan hasil pemantauan terhadap kadar nitrit dan ammonia pada penelitian ini, dapat dilihat bahwa peningkatan kadar nitrit dan ammonia yang tinggi hanya terjadi pada

perlakuan yang diberi tambahan bakteri pereduksi nitrat, tetapi pada kontrol tidak terjadi peningkatan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena konsorsium bakteri yang ditambahkan dikulturkan dalam media *Trypticase Soya Broth* (TSB) yang mempunyai nitrogen organik yang tinggi. Inokulum konsorsium bakteri dalam media TSB yang ditambahkan di perlakuan sebanyak 22,5 mL dalam 150 mL media perlakuan (15%). Menurut Connell dan Miller (1995) perubahan bentuk dari nitrogen organik ke nitrogen anorganik (*amonia*, *nitrat*, dan *nitrit* yang terlarut dalam massa air) ini melibatkan autolisis sel dan jasad renik. Bakteri memegang peranan penting dalam siklus N sebab mereka dapat membentuk N-molekuler dan dapat merubah N-organik yang larut yang dihasilkan oleh *fitoplankton* dan *zooplankton*, lepas dari organisme yang telah mati, dan membentuknya jadi ammonia (NH_3) dalam proses deaminasi asam amino. Bakteri dapat mengoksidasi NH_3 menjadi *nitrit*, dan nitrit menjadi *nitrat* (proses nitrifikasi).

Kadar nitrit di media perlakuan penambahan konsorsium bakteri pereduksi nitrat pada akhir inkubasi berkisar antara 0,1–0,3 mg/L. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Samino dan Retnaningdyah (2004), serta Retnaningdyah dan Samino (2005 dan 2006) menunjukkan kadar Nitrit di waduk Sutami pada periode waktu pantau 2005 dan 2006 berkisar antara 0,059–0,804 mg/L. Dengan demikian kadar nitrit yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat tersebut masih berada di dalam kisaran kadar nitrit di waduk Sutami. Tetapi, aktivitas konsorsium bakteri pereduksi nitrat tersebut mempunyai dampak meningkatkan kadar NH_3 -N dengan kisaran 5–37 mg/L. Tingginya kadar ammonia tersebut menunjukkan bahwa konsorsium bakteri tersebut mereduksi nitrit menjadi ammonia. Hal ini akan membahayakan kehidupan organisme perairan. Berdasarkan hal tersebut maka untuk selanjutnya pemakaian media TSB sebagai media pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat perlu dibatasi atau diganti dengan bahan lain yang tidak mengakibatkan dampak serupa.

Media TSB juga mengakibatkan penurunan nilai pH dan peningkatan nilai konduktivitas media perlakuan. Berdasarkan dampak terhadap perubahan kualitas air yaitu tingginya kadar ammonia dan konduktivitas serta rendahnya nilai pH akibat penggunaan TSB dalam pembuatan stok inokulum konsorsium bakteri pereduksi nitrat tersebut, maka untuk selanjutnya masih diperlukan penelitian yang menggunakan media alami waduk Sutami dalam pembiakan konsorsium bakteri pereduksi nitrat tersebut.

Perlakuan non aerasi dapat menurunkan kelimpahan *Microcystis* lebih besar (94–95%) dibandingkan dengan perlakuan aerasi (80–88%). *Microcystis* termasuk dalam

organisme autotrof yang mampu menyediakan oksigen untuk kebutuhan metabolisme melalui fotosintesis. Implikasi dari hasil penelitian ini adalah bahwa penggunaan konsorsium bakteri pereduksi nitrat untuk mereduksi nitrat di perairan bisa diaplikasikan di perairan waduk Sutami oleh karena waduk ini termasuk dalam perairan yang menggenang dengan arus yang rendah sehingga tingkat aerasi juga kecil.

Besarnya intensitas cahaya yang diperlakukan selama inkubasi (2–3 dan 5–9 klux) tidak berpengaruh secara nyata terhadap hasil penurunan kelimpahan *Microcystis*. Raps *et al.* (1983) menyatakan bahwa *Microcystis aeruginosa* merespons terhadap perubahan tingkat radiasi dengan mengubah jumlah dari unit fotosintetis. Pada tingkat radiasi rendah, respons fotosintetik berasosiasi dengan peningkatan efisiensi dalam penggunaan cahaya. Pada tingkat radiasi tinggi, output fotosintesis meningkat dengan mereduksi elektron sepanjang waktu. Perubahan laju pertumbuhan tidak diikuti oleh perubahan karbon seluler dan kuota nitrogen. Menurut beberapa peneliti, *Microcystis* memberikan respons yang bermacam-macam terhadap cahaya pada beberapa penelitian pada tempat yang berbeda. Penelitian yang dilakukan di Afrika Selatan menunjukkan bahwa laju pertumbuhan optimum *Microcystis aeruginosa* di laboratorium terjadi pada perlakuan intensitas cahaya sekitar 3,6–18,0 klux (Oberholster *et al.*, 2004). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan di Jepang menunjukkan bahwa laju pertumbuhan optimum *Microcystis aeruginosa* terjadi pada intensitas cahaya 2–3 klux dengan suhu sekitar 30° C (Chu *et al.*, 2007). Sedangkan hasil penelitian Retnaningdyah dkk. (2008) menunjukkan bahwa pertumbuhan *Microcystis* yang diambil dari waduk Sutami pada media BG-11 dapat menghasilkan kelimpahan sel maksimum tertinggi ($13,1 \cdot 10^6$ – $13,6 \cdot 10^6$ sel/mL⁻¹) pada inkubasi dengan intensitas cahaya 2–3 klux dan 5–6 klux dengan lama penyebaran 12 jam/hari⁻¹.

12 jam/hari⁻¹ kelemahan penggunaan konsorsium bakteri yang ditemukan dalam penelitian ini apabila dimanfaatkan sebagai bioagen aktif dalam rangka pengendali *blooming* *Microcystis* di perairan adalah penggunaan media TSB untuk pembiakan konsorsium bakteri secara besar-besaran. TSB mengandung bahan organik tinggi sehingga dapat mengakibatkan kandungan ammonia yang tinggi di perairan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif media lain dalam rangka pembuatan stok inokulum konsorsium bakteri pereduksi nitrat yang disarankan dibuat dari media alami air waduk yang dimodifikasi dengan pengkayaan nutrisi tertentu.

KEPUSTAKAAN

- Abel PD, 1989. *Water Pollution Biology*. Ellis Horwood Limited Publishers, Chichester.
- Blaszczyk M, 1993. Effect of Medium Composition on the Denitrification of Nitrate by *Paracoccus denitrificans*. *App. Environ. Microbiol.* 59(11): 3951–3.
- Brittain T, Blackmore R, Greenwood C, dan Thomson AJ, 1992. Bacterial nitrite-reducing Enzymes (Review). *Eur. J. Biochem.* 209: 793–802.
- Brower JE, Zar JH, dan Von Ende CN, 1990. *Field and Laboratory Methods for General Ecology*. Third Edition. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque.
- Chu Z, Jin X, Iwami N dan Inamori Y, 2007. The effect of Temperature on Growth Characteristics and Competitions of *Microcystis aeruginosa* and *Oscillatoria mougeotii* in a Shallow, Eutrophic Lake Simulator System. *Hydrobiologia*. 581: 217–23.
- Clesceri LS, Arnold EG, Trussel RR, dan Mory AHF, 1989. *Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water*. Seventeenth Ed., Washington.
- Closs G, Downes B, dan Boulton A, 2006. *A Scientific Introduction Freshwater Ecology*. Blackwell Publishing. Malden USA.
- Connell Des W, dan Miller GJ, 1995. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Diterjemahkan dari Chemistry and Ecotoxicology of Pollution, Oleh: Koestor, Y. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Dokulil MT dan Teubner K, 2000. Cyanobacterial Dominance in Lakes. *Hydrobiologia*. 438: 1–12.
- Ferrão-Filho AS, Domingos P, dan Azevedo SMFO, 2002, Influences of a *Microcystis aeruginosa* Kützing bloom on zooplankton populations in Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil), *Limnologica*, 32: 295–308.
- Joung SH, Kim CJ, Ahn CY, Jang KY, Boo SM, dan Oh HM, 2006. Simple method for a cell count of the colonial Cyanobacterium *Microcystis* sp. *The Journal of Microbiology*. 44(5): 562–5.
- Maier M, Raina, Ian L, Pepper, dan Charles PG, 2000. *Environmental Microbiology*. Academic Press. New York.
- Oberholster PJ, Botha dan Grobbelaan, 2004. *Microcystis* spp.: Source of Toxic Microcysts in Drinking Water. *African Journal of Biotechnology*, 3(3): 159–68.
- Prescott L, Harley JP, dan Klein DA, 2003. *Microbiology* (International Edition). McGraw-Hill. New York.
- Ramirez JJ dan Bicudo CEM, 2005. Diurnal and Spatial (Vertical) Dynamics of Nutrients (N, P, Si) in Four Sampling Days (Summer, Fall, Winter and Spring) in A Tropical Shallow Reservoir and Their Relationships with The Phytoplankton Community. *Braz. J. Biol.* 65(1): 141–57.
- Raps S, Wiman K, Siegelman HW dan Falkawsky PG, 1983. Adaptation of Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to Light Intensity. *Plant Physiol.* 72: 829–32.

- Retnaningdyah C, Prayitno, Rosyitawati Y, Dewi MYC, dan Hartini AN, 2002. *Potensi Mikroalga sebagai Bioindikator Tingkat Pencemaran Bahan Organik di Perairan Waduk*. National Seminar on Research and Studies Research Grant conducted by Ministry of National Education, Directorate General of Higher Education, TPSDP, Jakarta December 27–28.
- Retnaningdyah C, dan Samino S, 2005. Monitoring Dinamika Komunitas Fitoplankton dan Zooplankton di Waduk Sutami Malang Periode 2005. *Laporan Penelitian Kerja Sama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya* Sertifikat No. ID03/0127.
- Retnaningdyah C, dan Samino S, 2006. Monitoring Dinamika Komunitas Fitoplankton dan Zooplankton di Waduk Sutami Malang Periode Bulan Januari-Maret 2006. *Laporan Penelitian Kerjasama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya* Sertifikat No. ID03/0127.
- Retnaningdyah C, Harnanto A, Marwati U, dan Samino S, 2007. Usaha Peningkatan Bioremediasi untuk Pengendalian Blooming Cuanobacteria *Microcystis* spp. di Perairan Tawar. *Laporan Program Insentif Riset Terapan Tahun I*. Kementerian Ristek RI.
- Retnaningdyah C, 2008. Keterkaitan Kualitas Air dengan Dinamika Populasi *Microcystis* spp. di Waduk Sutami, Malang, Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional Limnologi IV*, diselenggarakan oleh Pusat penelitian Limnologi-LIPI, Bogor, 15 Oktober 2008.
- Retnaningdyah C, Marwati U, Samino S, Partini S, dan Hardi YAF, 2008. Respon Pertumbuhan *Microcystis* spp. dari Waduk Sutami pada Beberapa Variasi Media Pertumbuhan, Intensitas Cahaya dan Lama Penyinaran. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas II*, Universitas Airlangga, Surabaya 19 Juli 2008.
- Romanowska-Duda, Mankiewicz ZJ, Tarczyńska M, Walter Z, dan Zalewski M, 2002. The Effect of Toxic Cyanobacteria (Blue Green Algae) on Water Plants and Animal Cells. *Polish Journal of Environmental Studies*. 11(5): 561–6.
- Samino S, dan Retnaningdyah C, 2004. Monitoring Dinamika Komunitas Fitoplankton dan Zooplankton di Waduk Sutami Malang Periode Bulan Oktober sampai Desember 2004. *Laporan Penelitian Kerja Sama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya* Sertifikat No. ID03/0127.
- Takaya N, Catalan-Sakairi MAB, Sakaguchi Y, Kato I, Zhou Z, dan Shoun H, 2003. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide. *Applied and Environmental Microbiology* 69(6): 3152–7.

Reviewer: **Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA**