

**ISOLASI, KARAKTERISASI BAKTERI BIOFILM DARI TAMBAK DAN  
POTENSINYA DALAM DEGRADASI AMONIAK**

**GHEA FARMANING THIAS PUTRI**

**H041 17 1506**



**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**ISOLASI, KARAKTERISASI BAKTERI BIOFILM DARI TAMBAK DAN  
POTENSINYA DALAM DEGRADASI AMONIAK**

**SKRIPSI**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Universitas Hasanuddin**



**GHEA FARMANING THIAS PUTRI**

**H041 17 1506**

**DEPARTEMEN BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI  
ISOLASI, KARAKTERISASI BAKTERI BIOFILM DARI TAMBAK DAN  
POTENSINYA DALAM DEGRADASI AMONIAK**

**Disusun dan diajukan oleh**

**GHEA FARMANING THIAS PUTRI**

**H041 17 1506**

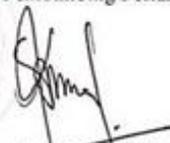
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu  
Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 05-07-2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

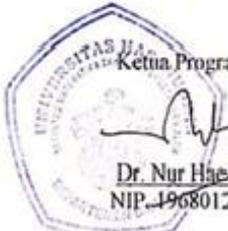
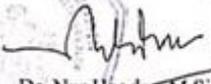
Menyetujui

Pembimbing Utama

  
Dr. Fahrudin, M.Si.  
NIP. 196509151991031002

Pembimbing Pertama

  
Drs. As'ad Abdullah, M.Si  
NIP. 196203031989031007

  
Ketua Program Studi,  
  
Dr. Nur Haedar, M.Si  
NIP. 196801291997022001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ghea Farmaning Thias Putri  
Nim : H041171506  
Program Studi : Biologi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Isolasi, Karakterisasi Bakteri Biofilm dari Tambak dan Potensinya dalam Degradasi  
Amoniak

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 05 Juli 2021

Yang menyatakan



Ghea Farmaning Thias Putri

## **KATA PENGANTAR**

Assalamu'alaikum Warrohmatullahi Wabarokatuh

Alhamdulillah rabbi 'alamin puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam tak lupa pula kita panjatkan kepada Nabi kita Muhammad SAW yang telah mengantarkan kita dari zaman kegelapan serta zaman jahiliyah menuju zaman yang terang benderang dan adanya ilmu pengetahuan. Sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “ **Isolasi, Karakterisasi Bakteri Biofilm dari Tambak dan Potensinya dalam Degradasi Amoniak**” dengan baik.

Skripsi ini merupakan hasil penelitian yang diajukan untuk memenuhi syarat dalam menyelesaikan program Pendidikan Sarjana (S1) pada Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam pelaksanaan penelitian serta sampai diselesaikannya skripsi ini, penulis banyak mengalami berbagai macam kendala dan juga hambatan tetapi dapat diselesaikan berkat dukungan, doa-doa, serta cinta dan kasih sayang yang tidak berhenti penulis dapatkan. Oleh karena itu dengan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada orang tua tercinta Muhammad Haslinda, Surtiyem dan Farhayasni Hasinu Daa, serta saudara penulis, Cindy Cinthya Yulia Ariadinata, Zahrah Zhafirah Ghaniyah, Muhammad Faiz Izhar, yang telah memberikan dukungan yang sangat baik baik baik berupa kasih sayang, moral serta bantuan materi selama

penulis menempuh perkuliahan. Tak lupa penulis sampaikan rasa terima kasih yang sama kepada seluruh anggota keluarga Hasinu Daa dan kerabat yang selalu memberikan semangat serta kasih sayang selama penulis menduduki bangku kuliah hingga penyusunan skripsi ini.

Terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya penulis haturkan kepada bapak Dr. Fahrudin, M.Si selaku pembimbing Utama, dan bapak Drs. As'adi Abdullah selaku pembimbing Pertama, atas setiap ilmu, perhatian dan waktu yang diberikan dalam membimbing serta mengarahkan penulis, memberikan dukungan dan saran-saran yang membangun dalam proses penyusunan skripsi ini hingga selesai, tanpa beliau penulis tidak akan dapat menyelesaikan skripsi ini.

Berbagai kendala penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun atas dukungan serta bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melalui kendala-kendaka tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghanturkan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

- ❖ Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A, selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
- ❖ Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, beserta staf pegawainya.
- ❖ Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si, selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

- ❖ Bapak Dr. Ir. Slamet Santosa, M.Si, selaku Penasehat Akademik (PA) yang senantiasa memberikan arahan serta dukungan kepada penulis sejak penulis memulai studinya hingga selesai
- ❖ Kepada Bapak Ir. Slamet Santosa, M.Si dan Bapak Andi Arfan Sabran, S.Si., M.Kes selaku Tim Penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan kritik dan saran yang tentunya sangat bermanfaat bagi penulis.
- ❖ Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- ❖ Kepada Kak Fuad Gani S.Si dan Kak Rihuh Wardani S.Si penulis haturkan banyak terima kasih atas bantuan-bantuan yang telah diberikan selama penulis menjalankan studi dan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi. s
- ❖ Teman Seperjuangan dalam melaksanakan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi yaitu Ummi Chaera yang telah memberikan dukungan serta bantuan selama menjalankan studi maupun penelitian.
- ❖ Teman-teman seperjuangan selama penulis menempuh masa studi sampai selesai yaitu, Irma Amelia, Nirwana HL, Fitriani, Fira Sarsi yang telah memberikan dukungan, sebagai penyemangat dalam suka duka dunia perkuliahan.
- ❖ Saudari-saudariku yaitu Ismiatun S.Ked, Dewi Fadhilatunnisa, Rizki Asmi Nurjaya, Rahma Purnama, Sri Rahayu Syamjuarni, Asmarani Pujawanti, Afifah Safira, Rifdah Clarisa Rahmadiani, Yuni Tri Siswanti yang telah memberikan

dukungan, kasih sayang, serta semangat yang tiada hentinya kepada penulis selama menempuh masa studinya hingga selesai.

- ❖ Saudara-saudariku Biologi 2017 yang tidak dapat disebutkan satu persatu penulis ucapkan terimakasih untuk suka dukanya selama menjalani masa studi hingga selesai.
- ❖ Semua pihak yang ikut terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan

Wassalamualaikum Warrohmatullahi Wabarakatuh

Makassar, Juli 2021

Ghea Farmaning Thias Putri

## **ABSTRAK**

Budidaya tambak merupakan suatu kegiatan untuk membesarkan ikan atau udang. Kegiatan budidaya tambak dapat menghasilkan limbah organik baik yang berasal dari sisa pakan yang tidak termakan maupun kotoran udang serta plankton yang sudah mati. Amoniak adalah salah satu dampak dari penguraian pakan yang memberikan efek toksik pada budidaya tambak. Keberadaan amoniak di dalam tambak menimbulkan dampak negatif. Pada kondisi ini salah satu cara untuk menanggulangi kandungan amoniak pada tambak adalah dengan cara melalui perombakan oleh bakteri, yaitu dengan memanfaatkan bakteri biofilm yang ada pada tambak itu sendiri. Aplikasi biofilm ini akan menurunkan kadar amoniak dalam limbah organik tambak udang dan akan meningkatkan kadar nitrat di dalamnya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri biofilm dari lahan tambak, mengetahui kemampuan bakteri biofilm dalam mendegradasi amoniak, dan mengetahui karakteristik dan jumlah jenis bakteri biofilm dari lahan tambak. Karakteristik bakteri ditentukan berdasarkan uji morfologi dan uji fisiologis sedangkan uji oksidasi senyawa amoniak dengan menumbuhkan bakteri pada media dan menambahkan reagent Nessler untuk membantu mengetahui keberadaan amoniak. Untuk uji penentuan nitrit dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media dan menambahkan reagent naphthalamine dan reagent sulfanilic acid. Hasil penelitian menunjukkan didapatkan 12 isolat bakteri biofilm, untuk uji oksidasi amoniak hanya pada isolat 8 yang negatif, dan pada uji penentuan nitrit pada isolate 2,3,4,5,6 yang positif.

Kata Kunci : Tambak, Amoniak, Biofilm, Degradasi Amoniak

## **ABSTRACT**

Pond farming is an activity to raise fish or shrimp. Pond cultivation activities can produce organic waste either derived from the rest of the feed that is not eaten or shrimp droppings and dead plankton. Ammonia is one of the impacts of feed decomposition that provides toxic effects on pond cultivation. The presence of ammonia in the pond has a negative impact. In this condition one way to overcome the content of ammonia in ponds is by means of an overhaul by bacteria, namely by utilizing biofilm bacteria in the pond itself. The application of this biofilm will lower the level of ammonia in organic waste added shrimp and will increase the nitrate levels in it. This study aims to obtain biofilm bacteria from pond land, know the ability of biofilm bacteria in degrading ammonia, and know the characteristics and number of types of biofilm bacteria from pond land. Bacterial characteristics are determined based on morphological tests and physiological tests while oxidation tests of ammonia compounds by growing bacteria on the medium and adding Nessler reagents to help determine the presence of ammonia. For nitrite determination test is done by growing bacteria on the medium and adding reagent naphthalamine and reagent sulfanilic acid. The results of the study showed that 12 isolates of biofilm bacteria were obtained, for ammonia oxidation test only on negative isolate 8, and in the positive isolate 2,3,4,5,6 nitric determination test.

Keywords: Pond, Ammonia, Biofilm, Ammonia Degradation

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	iv
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>ABSTRAK</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>I.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>I.2 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>I.3 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>I.4 Waktu dan Tempat</b> .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>II.1 Tambak Udang</b> .....	5
<b>II.2. Pemberian Pakan Pada Tambak</b> .....	7
<b>II.2.1. Pakan Tambahan</b> .....	8
<b>II.2.2. Pakan Suplemen</b> .....	8
<b>II.2.3. Pakan Utama</b> .....	8
<b>II.3. Amoniak</b> .....	9
<b>II.4. Biofilm</b> .....	11
<b>II.4.1. Mekanisme Terbentuknya Biofilm</b> .....	12
<b>II.4.2. Struktur Biofilm</b> .....	13
<b>II.4.3. Faktor Perletakan Mikroba</b> .....	14
<b>II.5. Bakteri Pendegradasi Amoniak</b> .....	16

<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
<b>III.1 Alat .....</b>	<b>18</b>
<b>III.2 Bahan.....</b>	<b>18</b>
<b>III.3 Metode Kerja .....</b>	<b>18</b>
<b>III.3.1 Sterilisasi Alat .....</b>	<b>18</b>
<b>III.4 Pengambilan Sampel Bakteri Biofilm .....</b>	<b>19</b>
<b>III.5 Karakterisasi Air Tambak.....</b>	<b>19</b>
<b>III.5.1. Analisis Karbon Organik .....</b>	<b>19</b>
<b>III.5.2. Analisis Nitrogen Total.....</b>	<b>19</b>
<b>III.6. Isolasi dan Seleksi Bakteri Biofilm .....</b>	<b>21</b>
<b>III.7. Uji Oksidasi Senyawa Amoniak .....</b>	<b>22</b>
<b>III.8. Uji Penentuan Nitrit (Agustiyan et al.,2004).....</b>	<b>22</b>
<b>III.9.2. Pengamatan Morfologi Koloni.....</b>	<b>23</b>
<b>III.9.3. Uji Biokimia .....</b>	<b>23</b>
<b>III.9.3.1 Uji TSIA .....</b>	<b>24</b>
<b>III.9.3.2 Uji Motilitas .....</b>	<b>24</b>
<b>III.9.3.3 Uji Indol.....</b>	<b>24</b>
<b>III.9.3.4 Uji MR (Methyl Red).....</b>	<b>25</b>
<b>III.9.3.5 Uji VP (Voges Proskauer) .....</b>	<b>25</b>
<b>III.9.3.6 Uji Simmons Citrate .....</b>	<b>25</b>
<b>III.9.3.6 Uji Katalase.....</b>	<b>26</b>
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
<b>IV.1. Karakterisasi Air Tambak .....</b>	<b>27</b>
<b>IV.2. Isolasi Bakteri Biofilm .....</b>	<b>28</b>
<b>IV.3. Uji Oksidasi Senyawa Amoniak.....</b>	<b>30</b>
<b>IV.4. Uji Penentuan Nitrit .....</b>	<b>32</b>
<b>IV.5. Karakterisasi Bakteri Biofilm .....</b>	<b>33</b>
<b>IV.5.1. Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel.....</b>	<b>33</b>
<b>IV.5.2. Pengamatan Uji Biokimia .....</b>	<b>36</b>
<b>IV.5.2.1 Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar).....</b>	<b>38</b>

<b>IV.5.2.2 Uji Motilitas</b> .....	39
<b>IV.5.2.3 Uji Indol</b> .....	40
<b>IV.5.2.4 Uji MR (Methyl Red)</b> .....	41
<b>IV.5.2.5. Uji VP (Voges Proskauer)</b> .....	42
<b>IV.5.2.6. Uji Simmons Citrate</b> .....	43
<b>IV.5.2.7. Uji Katalase</b> .....	44
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	46
<b>V.1. Kesimpulan</b> .....	46
<b>V.2. Saran</b> .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	47
<b>LAMPIRAN</b> .....	51

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel Isolat Bakteri Biofilm ....	33
2. Hasil Uji Biokimia Bakteri Biofilm .....	37

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil Pemurnian Bakteri Biofilm.....	29
2. Hasil Uji Oksidasi Senyawa Amoniak.....	31
3. Uji Penentuan Nitrit .....	32
4. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dibawah Mikroskop Streo.....	34
5. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Biofilm .....	35
6. Hasil Uji TSIA pada Bakteri Biofilm.....	38
7. Hasil Uji Motilitas pada Bakteri Biofilm .....	39
8. Hasil Uji Indol pada Bakteri Biofilm .....	40
9. Hasil Uji MR pada Bakteri Biofilm .....	41
10. Hasil Uji VP pada Bakteri Biofilm .....	42
11. Hasil Uji Simmon Citrate Bakteri Biofilm.....	43
12. Hasil Uji Katalase pada Bakteri Biofilm.....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Pengambilan Sampel Bakteri Biofilm dan Air Tambak .....	51
2. Prosedur Penelitian.....	51

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Budidaya tambak merupakan suatu kegiatan membesarkan ikan dan udang dalam suatu kolam. Agar memperoleh hasil yang optimum maka perlu disiapkan suatu kondisi lingkungan tertentu yang sesuai dengan kehidupan budidaya. Faktor utama yang sangat menentukan produktivitas tambak adalah air dalam petakan tambak, yang merupakan media tumbuh bagi ikan dan udang yang dipelihara. Untuk tambak-tambak tradisional, usaha terpenting untuk menaikkan produktivitas tambak adalah dengan menyediakan air di kolam tambak dengan kualitas air yang baik (Fahrudin *et al.*, 2019).

Kegiatan budidaya udang di tambak menghasilkan limbah organik baik yang berasal dari sisa pakan yang tidak termakan maupun kotoran udang serta plankton yang mati (Suwoyo *et al.*, 2014). Untuk pertumbuhan, udang memerlukan pakan. Pada budidaya intensif dan semi intensif pakan diberikan secara berlebihan. Pemberian pakan dalam jumlah yang berlebihan akan meningkatkan biaya produksi dan pemborosan serta menyebabkan sisa pakan yang berlebihan yang berakibat pada penurunan kualitas air sehingga berpengaruh pada pertumbuhan dan sintasan udang (Hidayat *et al.*, 2014).

Pada kondisi ini, pakan harus memenuhi persyaratan dalam hal kelayakan nutrisi, sifat fisik, serta pengelolaan pakan yang tepat. Kelayakan nutrisi dapat dilihat

dari kelengkapan dan keseimbangan nutriennya, yaitu karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral. Sifat fisik pakan, pada umumnya dilihat dari stabilitas pakan, yaitu ketahanannya untuk tidak hancur, terurai, atau tercuci dalam air. Pengelolaan pakan meliputi penentuan jumlah, ukuran dan bentuk pakan, serta frekuensi, waktu, dan cara pemberian pakan (Elfidiyah, 2016).

Pakan secara langsung menentukan pertumbuhan. Dalam ekosistem tambak, tidak semua pakan yang diberikan dapat dimakan oleh udang. Sebagian sisa pakan akan tersuspensi di dalam air dan sebagian besar lainnya akan mengendap di dasar tambak. Penguraian bahan organik sisa pakan tersebut akan memerlukan oksigen. Dengan demikian penambahan bahan organik secara langsung akan meningkatkan penggunaan oksigen di lingkungan tambak. Kondisi ini akan terus berjalan sampai titik kritis yang menyebabkan terjadinya depleksi oksigen. Selanjutnya, penguraian bahan organik tersebut akan berjalan dalam kondisi anaerobik yang akan menghasilkan amonia ( $\text{NH}_3$ ) dan hidrogen sulfida ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Kedua zat tersebut bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan udang sampai dengan mematikan. Kondisi lingkungan tambak yang mengandung banyak sisa bahan organik dapat menyebabkan dua hal, yaitu udang mengalami tekanan fisiologis diluar toleransinya serta menurunnya daya tahan udang terhadap penyakit (Elfidiyah, 2016).

Amoniak adalah salah satu dampak dari penguraian pakan yang memberikan efek toksik pada budidaya tambak. Keberadaan amoniak di dalam tambak menimbulkan dampak negatif sehingga meningkatkan laju penurunan oksigen (*Oxygen depletion rate*) dalam air dan peningkatan kebutuhan oksigen di sedimen

dasar (*Sedimen oxygen demand*) serta menurunkan potensial redoks ke tingkat reduksi. Bila hal ini berlanjut maka akan memperburuk kondisi lingkungan budidaya khususnya lapisan air dasar, permukaan tanah dasar, sehingga udang mengalami stres, nafsu makan berkurang, mudah terserang penyakit bahkan lebih parah lagi akan menyebabkan kematian (Muadamma *et al.*, 2018).

Salah satu cara untuk menanggulangi kandungan amoniak pada tambak adalah dengan cara melalui perombakan oleh bakteri, yaitu dengan memanfaatkan bakteri biofilm yang ada pada tambak itu sendiri. Biofilm dapat didefinisikan sebagai suatu struktur komunitas sel-sel bakteri yang dibungkus oleh matriks polimer yang dihasilkan bakteri itu sendiri dan menempel pada permukaan. Biofilm dapat ditemukan pada semua bakteri hidup. Bakteri dalam biofilm berbeda secara genotip dan fenotip dari bentuk planktonik adalah bakteri yang terapung sebagai sel tunggal dalam air (Yolazennia *et al.*, 2018).

Bakteri memiliki peranan penting dalam merombak bahan-bahan organik. Perombakan ini bertujuan agar bahan-bahan organik ini tidak menjadi toksik bagi perairan terutama bagi biota yang dipelihara dalam tambak. Apabila proses perombakan ini berjalan dengan baik, maka bahan-bahan organik yang berada di dalam sistem tidak akan menjadi toksik (Putra *et al.*, 2014). Perombakan Amoniak dapat dilakukan dengan cara biologis, salah satunya yaitu dengan proses nitrifikasi. Proses nitrifikasi didefinisikan sebagai konversi nitrogen amonium ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) menjadi nitrit ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) yang kemudian menjadi nitrat ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) yang dilakukan oleh bakteri autotropik dan heterotropik (Said dan Syabani, 2014).

Komunitas bakteri pada biofilm ini akan merubah bahan-bahan organik melalui proses amonifikasi dan nitrifikasi. Aplikasi biofilm ini akan menurunkan kadar ammonia dalam limbah organik tambak udang dan akan meningkatkan kadar nitrat didalamnya. Dalam penerapannya perlu dilakukan uji coba penumbuhan biofilm dengan menggunakan media berpermukaan yang luas sehingga dapat menampung pertumbuhan biofilm lebih padat dan dapat meningkatkan biokonversi limbah organik tambak udang (Azizah *et al.*, 2017). Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai “Isolasi, Karakterisasi Bakteri Biofilm dari Tambak dan Potensinya dalam Degradasi Amoniak”

## **I.2 Tujuan Penelitian**

1. Mendapatkan bakteri biofilm dari lahan tambak.
2. Mengetahui kemampuan bakteri biofilm dalam mengoksidasi amoniak.
3. Mengetahui karakteristik dan jumlah jenis bakteri biofilm dari lahan tambak.

## **I.3 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai bakteri primer pembentuk biofilm yang mampu mendegradasi senyawa amonia pada Tambak Udang di Sulawesi Selatan.

## **I.4 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2020 sampai selesai, di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Tambak Udang**

Tambak merupakan kolam buatan yang biasanya berlokasi didaerah pesisir, berfungsi sebagai tempat untuk kegiatan budidaya ikan air payau (Rahayu, 2016). Tambak udang merupakan suatu usaha budidaya perairan yang dikembangkan oleh masyarakat atau lembaga dengan mengatur kehidupan udang dalam suatu wadah hingga ukuran ekonomis (Mustofa, 2017).

Pergantian air diperlukan untuk menjaga kualitas air tambak agar udang dapat tumbuh dengan optimal. Penambahan air sesuai salinitas, jika salinitas tinggi maka ditambah air tawar. Sebaliknya, jika salinitas rendah maka air yang ditambahkan berupa air laut. Pergantian air di tambak yaitu setelah umur 30 hari lebih dan dilakukan setiap tiga sampai lima hari sekali bergantung waktu pembersihan. Pergantian air berguna untuk mengencerkan bahan organik sisa metabolisme dan sisa pakan. Melakukan pergantian air secara teratur juga mampu membantu memasok oksigen terlarut (Choeronawati *et al.*, 2019).

Aerasi dilakukan dengan mengaktifkan kincir air setiap malam hari dan apabila hujan. Cara ini meminimalkan biaya produksi budidaya. Malam hari, oksigen terlarut menipis sehingga kincir perlu diaktifkan untuk menambah pasokan oksigen terlarut di air. Fungsi kincir air adalah untuk mengarahkan bahan organik pada daerah tertentu di dasar tambak, sehingga bagian tambak yang lain tetap bersih dari akumulasi bahan

organik. Penyiponan dilakukan sebagai upaya manual untuk membuang endapan lumpur dan kotoran dari dasar tambak (Romadhona et al., 2016). Kualitas air sangat penting sebagai sumber utama dalam usaha budidaya udang (Choeronawati *et al.*, 2019).

Temperatur berperan dalam proses kimia dan interaksi dalam ekosistem perairan. Temperatur suatu perairan yang tinggi akan menghambat proses kehidupan biota air serta berpengaruh terhadap perkembangan organisme perairan karena energi yang ada lebih banyak digunakan untuk mempertahankan hidup. Faktor yang mempengaruhi tingginya temperatur suatu tambak diantaranya adalah cahaya matahari dan angin. Cahaya matahari merupakan salah satu faktor yang menentukan besar kecilnya pemanasan yang diberikan oleh matahari pada permukaan atau badan air. Angin juga mempengaruhi perubahan temperatur dipermukaan suatu perairan dengan memindahkan udara panas dan dingin. Angin membawa panas ke daerah dingin dan menaikkan temperatur ke tempat yang didatangi, demikian sebaliknya (Choeronawati *et al.*, 2019).

Oksigen terlarut ditambak, disuplai oleh adanya kincir air. Penggunaan kincir memberikan keuntungan tambahan aerasi karena menggerakkan oksigen di tambak dan udang dapat menemukan zona dengan konsentrasi DO yang memadai. Adanya peningkatan konsumsi oksigen oleh organisme heterotrofik dalam sedimen karena limbah budidaya tambak udang berasal dari pengkayaan organik, diantaranya dari peningkatan pakan. Baku mutu kualitas air Arifin et al. (2007), DO untuk budidaya ditambak >3 ppm. Oksigen terlarut di tambak sangat sesuai untuk pengembangan

budidaya udang vaname. Pada kondisi lapangan, udang pada kondisi sehat, meskipun nilai oksigen terlarut yang diharapkan untuk udang adalah minimal 5 ppm. Oksigen terlarut merupakan faktor penting bagi organisme air karena memiliki fungsi sebagai sumber utama dalam proses respirasi atau pernapasan. Kandungan oksigen terlarut di tambak dipengaruhi oleh difusi langsung dari udara, proses asimilasi tumbuhan hijau, aliran-aliran air yang masuk dan juga karena air hujan. Tingkat oksigen terlarut sangat dipengaruhi oleh temperatur dan salinitas serta faktor biologi seperti fotosintesis dan respirasi (Choeronawati *et al.*, 2019).

pH berperan menentukan proses pertumbuhan dan perkembangan organisme air baik kualitas maupun segi ukuran sebelum di panen. pH berpengaruh langsung terhadap pertumbuhan udang vaname. Nilai pH < 6,4 menyebabkan kulit udang keropos dan lembek dan menyebabkan pertumbuhan harian udang menurun 60%. Kestabilan nilai pH di tambak dipengaruhi oleh oksigen yang selalu tersedia dengan adanya kincir (Utojo dan A Mustafa, 2016). Rendahnya nilai pH dapat disebabkan tingginya jumlah bahan organik serta meningkatnya konsentrasi CO<sub>2</sub> karena aktivitas mikroba dalam menguraikan bahan organik. Berkurangnya pasokan air tawar dalam perairan akan berdampak meningkatnya nilai pH. Pemberian kapur CaCO<sub>3</sub> secara rutin membantu kestabilan nilai pH selama proses pemeliharaan udang (Choeronawati *et al.*, 2019).

## **II.2. Pemberian Pakan Pada Tambak**

Kegiatan budidaya menuntut ketersediaan pakan yang tepat baik secara kualitas maupun kuantitas yang merupakan syarat mutlak untuk mendukung pertumbuhan

organisme budidaya yang pada akhirnya dapat meningkatkan produksi (Tompo, 2016). Pakan adalah makanan atau asupan yang diberikan kepada hewan ternak atau peliharaan. Pakan merupakan sumber energi dan materi bagi pertumbuhan dan kehidupan makhluk hidup. Berdasarkan tingkat kebutuhan maupun urgensi pemberiannya, pakan buatan dalam perikanan dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu, pakan tambahan, pakan suplemen, dan pakan utama (Husma, 2017).

### **II.2.1. Pakan Tambahan**

Pakan tambahan adalah pakan yang dibuat atau diberikan bertujuan untuk memenuhi kebutuhan terhadap tambahan pakan. Dalam hal perikanan, hal ini biasanya terjadi pada kegiatan budidaya ikan secara tradisional atau semi intensif. Pakan tambahan ini diberikan dengan asumsi bahwa ikan budidaya sudah mendapatkan pakan dari alam, tetapi jumlahnya belum memenuhi kebutuhan untuk perkembangan maupun pertumbuhan yang lebih baik (Husma, 2017).

### **II.2.2. Pakan Suplemen**

Pakan suplemen adalah pakan yang dibuat serta diberikan dengan tujuan untuk memenuhi komponen nutrisi tertentu yang sedikit disediakan atau bahkan tidak bisa disediakan sama sekali oleh pakan lain. Pakan suplemen ini banyak diberikan pada budidaya ikan hias (Husma, 2017).

### **II.2.3. Pakan Utama**

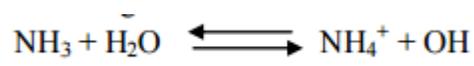
Pakan utama adalah pakan yang dibuat untuk menggantikan sebagian besar atau keseluruhan pakan alami. Pakan utama ini biasanya digunakan untuk memenuhi kebutuhan ikan terhadap pada sistem budidaya ikan secara intensif (Husma, 2017).

Dosis pakan dan presentase pemberian pakan merupakan faktor yang perlu dipertimbangkan dalam pengelolaan pakan karena berperan dalam penggunaan pakan. Dampak lain dari pemberian pakan yang tidak tepat menyebabkan air media dapat tercemar akibat akumulasi sisa pakan dan ekskresi ammonia dengan cepat serta timbulnya beragam mikroorganisme patogen (Tompo, 2016).

### II.3. Amoniak

Amoniak dapat ditemukan di air, tanah, dan juga udara. Amoniak merupakan sumber nitrogen bagi tanaman dan binatang. Kebanyakan dari amoniak yang ada di lingkungan berasal dari penguraian pakan atau binatang yang sudah mati (Bateman *et al.*, 2014). Amonia yang berasal dari sisa metabolisme misalnya ikan yang terlarut dalam air, feses ikan atau udang, serta dari makanan ikan yang tidak termakan dan mengendap di dasar kolam budidaya (Pillay, 2004).

Amonia di perairan terdapat dalam bentuk amonia tidak terionisasi ( $\text{NH}_3$ ) dan amonia terionisasi ( $\text{NH}_4^+$ ), jumlah dari keduanya disebut sebagai total amonia nitrogen (TAN). Keduanya berada dalam kesetimbangan dipengaruhi oleh pH dan suhu. Berikut persamaan yang menunjukkan hubungan antara kedua bentuk amonia dalam suatu sistem kesetimbangan :



Pada pH lebih dari 7 kesetimbangan bergeser ke arah kiri menyebabkan bentuk amonia lebih dominan, sementara pada pH kurang dari 7 reaksi bergeser ke arah kanan menyebabkan amonium lebih dominan. Pada kolam eutrofik, konsentrasi  $\text{NH}_3$

mengalami fluktuasi harian diakibatkan oleh fotosintesis (meningkatkan pH) dan respirasi (mengurangi pH). Sementara pada sore hari, ketika pH maksimum (sekitar 9.0 atau 9.5), Oleh karena itu selama sore hari pada kolam eutrofik, ikan dapat mengalami toksisitas sementara karena peningkatan pH lingkungan meningkatkan komponen  $\text{NH}_3$ . Konsentrasi amonia juga berfluktuasi dipengaruhi oleh suhu. Saat musim panas, suhu tinggi menyebabkan aktivitas bakteri dan proses nitrifikasi meningkat, sehingga konsentrasi amonia rendah. Sebaliknya saat musim hujan, suhu lingkungan menurun menyebabkan aktivitas bakteri dan proses nitrifikasi berjalan lambat, akibatnya jumlah amonia di lingkungan meningkat (Wahyuningsih dan Gitaraman, 2020).

Ada tiga proses utama konversi nitrogen untuk menghilangkan amonia dalam sistem budidaya. Pertama penghilangan dengan fotoautotrofik oleh alga, kedua konversi bakteri autotrofik dari amonia menjadi nitrat, dan ketiga konversi amonia secara langsung oleh bakteri heterotrofik menjadi biomassa bakteri . Pembebasan amonia terjadi melalui proses biologis asimilasi dan imobilisasi oleh alga yang didominasi oleh Cyanobacteria. Alga atau tanaman menggunakan nitrogen sebagai nutrisi untuk pertumbuhan, dan menyusun nitrogen menjadi bentuk organik. Fotosintesis alga bertindak sebagai penyerap, dimana peningkatan pertumbuhan alga akan diiringi dengan peningkatan penyerapan amonia (Wahyuningsih dan Gitaraman, 2020).

Transformasi amonia pada kolam budidaya terjadi melalui proses biologis yang disebut nitrifikasi. Proses ini terjadi dalam dua langkah, pertama amonia dikonversi menjadi nitrit ( $\text{NO}_2$ ) oleh beberapa genus bakteri termasuk *Nitrosomonas*. Kedua nitrit

dikonversi menjadi nitrat ( $\text{NO}_3$ ) oleh kelompok bakteri seperti *Nitrobacter* (Wahyuningsih dan Gitaraman, 2020).

Penambahan amandemen bakteri menjadi bagian penting dari siklus konstan amonia pada sistem budidaya. Pengelolaan kolam yang khas menciptakan kondisi yang menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri. Namun pertumbuhan dan aktivitas ini lebih banyak dibatasi oleh ketersediaan oksigen dan suhu dibandingkan jumlah sel bakteri. Dalam sebagian besar kondisi, bakteri bertanggung jawab atas penguraian bahan organik. Dengan demikian ketika jumlah sel bakteri meningkat, proses dekomposisi bahan organik berjalan lebih cepat (Wahyuningsih dan Gitaraman, 2020).

#### **II.4. Biofilm**

Pada kebanyakan habitat alami, mikroorganisme tidak berada dalam bentuk individu, atau sel yang hidup bebas tetapi mereka berasosiasi dengan mikroorganisme lain atau melekat dipermukaan. yang sering disebut sebagai biofilm. Bukti menunjukkan bahwa dalam lingkungannya, lebih dari 99% mikroba hidup pada mikro-ekosistem sebagai biofilm (Purbowati, 2018). Biofilm merupakan kumpulan dari sel-sel mikrobial yang melekat secara irreversibel pada suatu permukaan dan terbungkus dalam matriks *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang dihasilkannya sendiri serta memperlihatkan adanya perubahan fenotip seperti perubahan tingkat pertumbuhan dan perubahan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebasnya (Jamal *et al.*, 2018).

Dalam beberapa kasus, biofilm tersebut dihuni oleh spesies tunggal sedangkan kasus lainnya, di diami oleh mikroba yang beragam. Banyak permukaan yang jika dilihat dari gabungan antara kelembaban dan nutrisi yang ada didalamnya rentan terhadap pembentukan biofilm jika ada mikroorganisme yang hadir. Beberapa permukaan tersebut meliputi jaringan hidup, perangkat medis, perpipaan sistem pengolahan air minum dan industri dan system akuatik alami yang mendukung pembentukan biofilm (Purbowati, 2018).

Mikroba pembentuk biofilm terlibat dalam sejumlah infeksi manusia yang sulit untuk diobati yang memiliki konsekuensi terhadap kesehatan masyarakat meskipun ada beberapa aplikasi biofilm yang bermanfaat. Mikroba pembentuk biofilm memiliki ketahanan yang lebih besar terhadap agen anti mikroba dibandingkan sel-sel individunya. Agen antimikroba umumnya jauh lebih efektif melawan sel yang aktif, hal ini berarti bahwa disinfektan yang efektif untuk sel planktonik belum tentu efektif untuk sel biofilm (Purbowati, 2018).

#### **II.4.1. Mekanisme Terbentuknya Biofilm**

Proses komunikasi antar sel yang menginisiasi pembentukan biofilm disebut dengan quorum sensing. Proses ini diinisiasi dengan produksi dan sekresi dari molekul sinyal yang dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti status nutrisi, yang memicu jalur yang diperlukan untuk pembentukan biofilm. Terdapat 5 langkah dalam siklus hidup biofilm yaitu, langkah pertama (*Reversible attachment*) dimulai dengan kontak secara random dari biofilm dengan permukaan. Pada tahap ini belum terbentuk biofilm, jadi masih mudah lepas. Langkah kedua (*irreversible attachment*) adalah

produksi maktriks ekstraseluler yang berfungsi sebagai adhesin yang melekatkan kompleks bakteri ke permukaan. Langkah ketiga (*Aggregation*) adalah pembentukan mikro koloni. Pada tahap ini terjadi replikasi/agregasi secara aktif dari organisme yang melekat pada permukaan sehingga terjadi peningkatan densitas dan kompleksitas dari keseluruhan biofilm. Pada langkah keempat (*maturation*) terjadi interaksi antar koloni bakteri dan substansi ekstraseluler yang dihasilkannya menghasilkan pematangan bentuk biofilm dan redistribusi organisme jauh dari substratum. Langkah kelima (*detachment*) terjadi saat biofilm mencapai massa kritis yang ditentukan oleh sejumlah kondisi lingkungan yang menginduksi pelepasan dari bakteri hidup bebas ke koloni yang lebih jauh untuk memelihara siklus bakteri (Yolazenia *et al.*, 2018).

#### **II.4.2. Struktur Biofilm**

Biofilm terdiri dari sel-sel mikroba dan *extracellular polymeric substance* (EPS). EPS dapat mencakup 50% sampai 90% dari total karbon organik biofilm dan dapat dianggap bahan matriks primer biofilm. Perkembangan biofilm yang utuh mengandung banyak lapisan termasuk matriks EPS dengan struktur vertikal, dan pembentukan film. Struktur vertikal mikroorganisme kadang-kadang berbentuk seperti menara atau jamur yang dipisahkan oleh ruang interstitial. Ruang interstitial memungkinkan sebagian besar biofilm dengan mudah dan cepat mengambil nutrisi dari cairan sekitarnya dan memindahkan produk sampingannya dari biofilm (Purbowati, 2018). EPS dapat berbeda sifat kimia dan fisik, tetapi terutama terdiri dari polisakarida. Beberapa polisakarida bersifat netral atau polianionik, seperti EPS bakteri Gram negatif. Adanya asam uronik, seperti Dglucuronate, D-galacturonic, dan asam

manuronat atau piruvat terkait kental menjadi bahan anionik yang menyebabkan asosiasi kation divalen seperti kalsium dan magnesium, yang telah terbukti bereaksi silang dengan benang polimer dan memberikan kekuatan mengikat yang lebih besar dalam pembentukan biofilm (Homenta, 2016).

#### **II.4.3. Faktor Perlekatan Mikroba**

Pertama kali pembentukan biofilm dimulai ketika bakteri menemukan dan dapat melekat pada kondisi permukaan melalui molekul organik kecil. Tingkat perlekatan sel mikroba diatur oleh faktor-faktor seperti sifat permukaan, kondisi lapisan permukaan, karakteristik dan hidro dinamika dari media cair, berbagai karakteristik permukaan sel mikroba, regulasi gen dan kuorum sensing (Purbowati, 2018).

Pembentukan biofilm dapat terjadi di berbagai jenis permukaan dan berbagai kondisi lingkungan dimana bakteri berada. Bakteri, molekul organik dan anorganik yang berada di permukaan kemudian membentuk kondisi film. Substrat organik dan anorganik ini bersama-sama dengan mikroorganisme berpindah ke permukaan melalui difusi atau mengikuti aliran cairan. Transfer nutrisi lebih tinggi dalam biofilm daripada fase cair (Riemman dan Cliver, 2006).

Kondisi film penting dalam proses perlekatan. Polimer organik dari media yang permukaannya terendam sehingga mempengaruhi tingkat dan kekuatan perlekatan mikroba. Kondisi film terbentuk dalam beberapa menit pemaparan, dan terus berkembang selama beberapa jam. Sejumlah host memproduksi film seperti darah, air

mata, urin, saliva, cairan intravaskular dan sekresi pernapasan mempengaruhi perlekatan bakteri terhadap biomaterial (Purbowati, 2018).

Karakteristik media cair, seperti pH, tingkat nutrisi, kekuatan ion, dan temperatur, juga mungkin memainkan peran dalam tingkat perlekatan mikroba pada permukaan. Sebagai contoh, peningkatan jumlah sel bakteri yang melekat diyakini sebagai akibat dari peningkatan konsentrasi nutrisi dalam media dan juga peningkatan konsentrasi beberapa kation. Selain itu, sifat hidrodinamik dari media cair seperti karakteristik kecepatan cairan mempengaruhi tingkat dan luasnya perlekatan (Purbowati, 2018).

Tingkat dan kekuatan perlekatan sel mikroba dipengaruhi oleh sifat permukaan sel seperti produksi zat polimer ekstraseluler (EPS), hidrofobisitas permukaan sel, kehadiran fimbriae dan flagela. Hidrofobik dari permukaan sel yang merupakan peran dari keberadaan fimbriae merupakan hal yang penting dalam adhesi karena interaksi hidrofobik cenderung meningkat dengan meningkatnya sifat non-polar dari permukaan yang terlibat. Bukti menunjukkan bahwa flagella memainkan peran penting dalam tahap awal perlekatan bakteri dengan mengatasi kekuatan terkait dengan substratum dan protein permukaan juga memainkan peran dalam perlekatan. EPS dan lipopolisakarida lebih penting dalam perlekatan untuk bahan hidrofilik. Oleh karena itu sel yang motil melekatkan lebih banyak dan sel yang melawan arus lebih cepat daripada strain non – motil (Purbowati, 2018).

## II.5. Bakteri Pendegradasi Amoniak

Bakteri pengoksidasi amonia merupakan bakteri aerob, yang membutuhkan oksigen dan merupakan salah satu faktor penting dalam proses pertumbuhan. Genus bakteri pendegradasi amonia yaitu *Nitrosomonas*, *Nitrosolobus*, *Nitrospira*, dan *Nitrospina*. Pertumbuhan bakteri pendegradasi amonia sangat dipengaruhi beberapa faktor lingkungan dan kandungan senyawa organik dalam limbah. Bakteri pengoksidasi amoniak dapat menguraikan amoniak jika berada pada suhu 25-35°C bakteri pengoksidasi amoniak akan berhenti menguraikan amonia berhenti pada saat suhu meningkat menjadi 50°C dan berhenti berfungsi jika suhu pertumbuhannya berada dalam suhu 5°C (Nainggolan *et al.*, 2015).

Amonia dapat tereduksi dengan bantuan bakteri indigenous melalui proses metabolisme. Mekanisme degradasi amonia banyak dilaporkan terjadi pada kondisi aerob oleh kelompok bakteri nitrifikasi. Proses nitrifikasi terjadi dalam dua rangkaian reaksi, yaitu proses nitritasi oleh bakteri amonia oxidizing bacteria (AOB), seperti *Nitrosomonas* dan proses nitratasi oleh bakteri nitrite oxidizing bacteria (NOB), seperti *Nitrobacter*. Proses nitrifikasi tidak hanya terjadi pada kondisi aerob namun juga dapat terjadi pada kondisi anaerob dan kurangnya kandungan oksigen yang tersedia melalui peran serta bakteri anaerob ammonia oxidizing (Anamox) (Rahmanto *et al.*, 2016).

Kedua bakteri tersebut dikenal sebagai bakteri autotropik yaitu bakteri yang dapat mensuplai karbon dan nitrogen dari bahan-bahan anorganik dengan sendirinya. Bakteri ini menggunakan energi dari proses nitrifikasi untuk membentuk sel sintesa yang baru. Sedangkan bakteri heterotropik merupakan bakteri yang membutuhkan

bahan-bahan organik untuk membangun protoplasma. Walaupun bakteri nitrifikasi autotropik keberadaanya di alam lebih banyak, proses nitrifikasi dapat juga dilakukan oleh bakteri heterotropik (*Arthobacter*) dan jamur (*Aspergillus*) (Said dan Syabani, 2014).

Denitrifikasi adalah proses reduksi nitrat dan nitrit dimana nitrat digunakan sebagai terminal hidrogen pada saat potensial oksigen rendah dalam limbah. Produk akhir yang dihasilkan dari penguraian nitrat dan nitrit tersebut adalah gas nitrogen ( $N_2$ ) atau nitrogen oksida ( $N_2O$ ). Kedua gas tersebut bersifat inert dan dapat menguap diudara. Bakteri heterotrofik fakultatif yang mampu menggunakan nitrat atau nitrit antara lain adalah *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Denitro-bacillus*, *Sprillum*, *Vacilles*, dan *Achromobacter*. Denitrifikasi merupakan langkah kedua dalam penyisihan nitrogen setelah proses nitrifikasi. Penyisihan nitrogen dari bentuk nitrat dikonversi menjadi gas nitrogen pada kondisi anoksik (tanpa oksigen) (Said dan Syabani, 2014).