



ANALISIS KADAR LOGAM NIKEL DALAM BAKTERI SIMBION PADA SPONS *Xestospongia sp*

Murniyati Muis, Alfian Noor*, Abdul Rauf Patong, Maming
Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Hasanuddin
Kampus UNHAS Tamalanrea, Makassar 90245
*Kontak : nuklir@indosat.net.id

ABSTRAK

This study aims to analyze the levels of nickel in bacterial symbionts of sponge, inside and outside of bacteria. Bacteria *coccus* and *bacillus* were isolated and identified from the sponge *Xestospongia sp*. The results of analysis using ICP-OES (Inductively Couple Plasma-Optical Emisión Spectrometry) showed that nickel metal content of bacterial symbionts *Xestospongia sp* sponge in outer island Barrang Lompo were : the initial isolates of 0.7073 ppm and 0.1860 ppm at the end of the isolates while nickel assays for bacterial part in the initial isolates was 0.8763 ppm and 0.2262 ppm at the end of the isolates.

Keyword: *Xestospongia sp*, bacterial symbionts, nickel, ICP-OES.

PENDAHULUAN

Spons merupakan biota multiseluler primitif yang bersifat *filter feeder* yang mampu menyaring air dan bahan-bahan lain disekelilingnya melalui pori-pori (*ostia*) kemudian dialirkan ke seluruh bagian tubuhnya melalui saluran (*channel*) dan dikeluarkan melalui pori-pori yang terbuka (*ostula*) (Hanani, dkk., 2005).

Menurut Hooper (2002) spons *Xestospongia sp* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Filum : Porifera
Class : Demospongiae
Ordo : Haplosclerida

Famili : Petrosiidae
Genus : *Xestospongia*
Species : *Xestospongia sp*



Gambar 1. Spons *Xestospongia sp*, Pulau Barrang Lompo, Makassar.

Pengambilan sampel spons laut *Xestospongia sp* dilakukan di perairan Pulau Barrang Lompo, Makassar. Dengan titik pengambilan sampel spons yakni pada posisi 05° 3' 2'' LS, 119° 19' 21,4'' BT. Adapun parameter kualitas air dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Kualitas Air Laut

| Parameter | P. Barrang Lompo |
|-----------------|------------------|
| Arah Arus | 310° Utara |
| Kec. Arus (m/s) | 0,48 |
| pH | 6,61 |
| Salinitas (‰) | 30 |
| Suhu (°C) | 31,4 |

Menurut Friedrich., dkk (2001) dalam Thakur and Muller (2004), diperkirakan sekitar 40% biomassa beberapa spons disusun oleh komunitas bakteri yang merupakan simbiosis dalam spons dan para penelitian menunjukkan bahwa simbiosis tersebut memiliki peranan penting dalam mengakumulasi logam. Pencemaran logam berat kemungkinan terjadi akibat buangan industri yang tidak terkontrol. Buangan industri yang mengandung logam berat bermuara ke laut, dengan demikian air laut menjadi tercemar. Logam berat yang masuk kedalam tubuh hewan laut atau tambak akan terakumulasi sehingga semakin lama, tingkat pencemarannya juga semakin tinggi (Palar, 2008).

Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui konsentrasi logam Ni pada bakteri simbiosis spons *Xestospongia sp*.

METODE PENELITIAN

Penyegaran Sampel dalam Media *Nutrient Broth*

Bagian Luar Spons

Sampel spons ditimbang sebanyak 15 gram dibilas dengan 30 mL NaCl fisiologis. Kemudian air bilasan dimasukkan dalam 30 mL media nutrient broth dan dishaker pada suhu kamar selama 24-48 jam.

Bagian Dalam Spons

Sampel spons ditimbang sebanyak 15 gram dibilas dengan 30 mL NaCl fisiologis. Kemudian spons yang telah dibilas digerus hingga halus menggunakan mortar, ditambahkan dengan NaCl fisiologis. Selanjutnya, suspensi dimasukkan dalam 30 mL media *nutrient broth* dan dishaker pada suhu kamar selama 24-48 jam.

Penentuan Pengenceran

Isolat bakteri dipipet 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl fisiologis untuk pengenceran 10^{-1} - 10^{-10} dan dipilih lima pengenceran terakhir yaitu 10^{-5} - 10^{-10} . Masing-masing ditumbuhkan pada media pertumbuhan yaitu nutrisi agar. Dipipet 1 mL isolat awal ditebar secara merata menggunakan batang L pada cawan petri yang telah berisi media nutrisi agar. Setelah itu diinkubasi dan diamati 1x24 jam.

Penentuan Waktu Inkubasi

Optimum

Isolat bakteri diencerkan hingga pengenceran yang telah ditentukan kemudian ditumbuhkan pada cawan petri berisi nutrisi agar, lalu diinkubasi pada suhu kamar. Diamati pertumbuhan bakteri setiap 1x24 jam,

2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam dan 5x24 jam dan ditentukan waktu inkubasi optimum.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri yang pengencerannya telah ditentukan dimurnikan dengan metode gores. Isolat murni yang diperoleh kemudian diidentifikasi. Identifikasi yang dilakukan meliputi pewarnaan gram dan uji biokimia (TSIA, SIM, fermentasi gula, sitrat, urea dan MR-VP).

Penentuan Kadar Logam Ni dalam Bakteri Symbion Spons

Isolat bakteri yang telah diencerkan hingga pengenceran dan waktu diinkubasi tertentu ditumbuhkan pada media nutrisi agar kemudian dipanen. Didestruksi menggunakan H_2SO_4 dan campuran HCl dan HNO_3 (3:1) sambil dipanaskan hingga jernih kekuningan kemudian didinginkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu diimpitkan hingga tanda batas dengan akuabides lalu dihomogenkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyegaran Bakteri

Penelitian ini menggunakan spons *Xestospongia* sp. Menurut Farid Samawi., dkk (2010) bahwa spons jenis *Xestospongia* sp mampu mengakumulasi logam Pb, Cd dan Cu. Selanjutnya pada tahun 2012 penelitian tentang eksistensi logam runtu Co, Cr dan Ni dalam bakteri simbiosis spons *Haliclona fascigera* diperoleh hasil bahwa bakteri *Enterobacter agglomerans* sebagai simbiosis spons laut *Haliclona facrigera* mampu berfungsi sebagai bioindikator

logam runtu Co, Cr dan Ni (Henie, 2012).

Mikroorganisme simbiosis berada pada ekstra maupun intra selular (Lee dkk, 2001) dan diduga bahwa simbiosis tersebut berperan dalam akumulasi logam berat. Berdasarkan dugaan tersebut, maka bakteri ekstraselular dan intraselular perlu diekstrak kemudian disegarkan dan diremajakan pada media *nutrient broth*.

Penentuan Pengenceran

Pengenceran bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Selain itu, mempermudah dalam perhitungan jumlah koloni bakteri. Pada penelitian ini dilakukan pengenceran hingga 10^{-10} , dipilih lima pengenceran terakhir dan ditumbuhkan pada media nutrisi agar kemudian diamati 1x24 jam. Pengenceran yang telah ditentukan berdasarkan perhitungan jumlah koloni bakteri.

Tabel 2. Jumlah koloni bakteri bagian luar spons *Xestospongia* sp

| Pengenceran | \sum koloni bakteri |
|-------------|-----------------------|
| 10^{-5} | 338 |
| 10^{-6} | 452 |
| 10^{-7} | 245 |
| 10^{-8} | 152 |
| 10^{-9} | 57 |
| 10^{-10} | 15 |

Berdasarkan perhitungan jumlah koloni bakteri dan syarat perhitungan jumlah koloni, maka diperoleh hasil pengenceran yang sesuai untuk bakteri simbiosis spons

Xestospongia sp bagian luar yaitu 10^{-7} , dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 3. Jumlah koloni bakteri bagian dalam spons *Xestospongia sp*

| Pengenceran | Σ koloni bakteri |
|-------------|-------------------------|
| 10^{-5} | 651 |
| 10^{-6} | 532 |
| 10^{-7} | 401 |
| 10^{-8} | 315 |
| 10^{-9} | 113 |
| 10^{-10} | 28 |

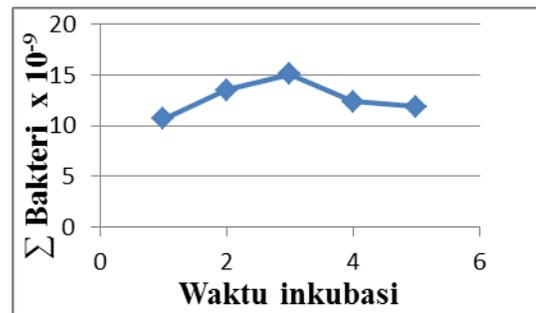
Pengenceran yang sesuai untuk bakteri bagian dalam spons *Xestospongia sp* adalah 10^{-9} . Berdasarkan data dari Tabel 3 dan syarat perhitungan jumlah koloni.

Penentuan Waktu Optimum Bakteri

Kondisi optimum pertumbuhan bakteri simbiosis spons laut *Xestospongia sp* terlebih dahulu ditumbuhkan pada media nutrisi agar dan diinkubasi pada 1x24 jam, 2x24 jam, 3x24 jam, 4x24 jam dan 5x24 jam yang sebelumnya telah diketahui pengenceran yang sesuai untuk bakteri bagian luar dan bakteri bagian dalam.

Tabel 4. Jumlah bakteri bagian luar berdasarkan waktu inkubasi spons *Xestospongia sp*

| Waktu Inkubasi | Σ Koloni Bakteri |
|----------------|-------------------------|
| 1x24 jam | $10,7 \times 10^9$ |
| 2x24 jam | $13,5 \times 10^9$ |
| 3x24 jam | $15,9 \times 10^9$ |
| 4x24 jam | $12,4 \times 10^9$ |
| 5x24 jam | $11,9 \times 10^9$ |



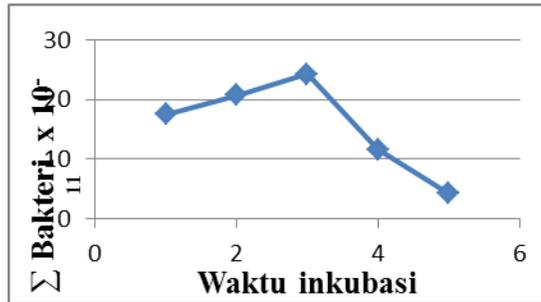
Gambar 3. Grafik pertumbuhan bakteri bagian luar berdasarkan waktu inkubasi spons *Xestospongia sp*.

Waktu inkubasi sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini, pengaruh waktu inkubasi terhadap jumlah bakteri yang optimum diamati pada hari ke-3 mungkin disebabkan karena tidak adanya suplai makanan bagi pertumbuhan bakteri. Perubahan kemiringan pada Gambar 2 menunjukkan transisi dari satu fase perkembangan ke fase.

Tabel 5. Jumlah bakteri bagian dalam berdasarkan waktu inkubasi spons *Xestospongia sp*

| Waktu Inkubasi | Σ Koloni Bakteri |
|----------------|-------------------------|
| 1x24 jam | $17,5 \times 10^{11}$ |
| 2x24 jam | $20,8 \times 10^{11}$ |
| 3x24 jam | $24,3 \times 10^{11}$ |
| 4x24 jam | $11,7 \times 10^{11}$ |
| 5x24 jam | $4,30 \times 10^{11}$ |

Gambar 4 menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri simbiosis spons *Xestospongia sp* yang diperoleh dari



Gambar 4. Grafik pertumbuhan bakteri bagian dalam berdasarkan waktu inkubasi spons *Xestospongia sp.*

perairan Pulau Barrang Lompo cukup bagus. Populasi bakteri bertambah secara teratur dan mengikuti tahap-tahap pertumbuhan bakteri secara umum. Dari grafik terlihat bahwa telah terjadi penurunan koloni bakteri sejak hari ke-4 dan pada hari ke-5.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Symbion Spons *Xestospongia sp.*

Pada tahap isolasi bakteri symbion spons laut *Xestospongia sp* menggunakan media penyegaran yaitu

nutrien broth (NB) sedangkan *nutrien agar* (NA) yaitu media pertumbuhan dari bakteri. Bakteri yang telah tumbuh pada media *nutrien agar* di inkubasi pada suhu kamar selama 1x24 jam dan dimurnikan dengan metode gores. Identifikasi bakteri meliputi pewarnaan gram dan pengujian biokimia. Kemudian dilanjutkan dengan menentukan jenis bakteri symbion spons *Xestospongia sp.*

Tahap pewarnaan Gram terdiri dari proses fiksasi dan penambahan beberapa jenis zat pewarna. Pewarnaan gram dilanjutkan dengan uji mikroskopik dan diperoleh bahwa bakteri symbion spons *Calyspongia sp* adalah gram positif berbentuk batang. Uji biokimia yang dilakukan terdiri dari uji gula-gula (sukrosa, maltosa, laktosa, glukosa), TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), SIM (*Sulfid Indol Motility*), sitrat, urea, dan MR-VP (*Methyl Red- Vogter Proskaur*).

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri Symbion Spons *Xestospongia sp*

| Pengujian | | Hasil | |
|-----------|------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | | Luar | Dalam |
| TSIA | Slant | Media berubah menjadi kuning | Media berubah menjadi kuning |
| | B | Media berubah menjadi kuning | Media berubah menjadi kuning |
| | H ₂ S | Terbentuk endapan | Terbentuk endapan |
| SIM | Indol | Tidak berbentuk cincin merah mudah | Tidak berbentuk cincin merah mudah |
| | Motility | Terbentuk warna putih | Terbentuk warna putih |
| | H ₂ S | Terbentuk endapan | Terbentuk endapan |
| MR | | Media berubah menjadi merah | Media berubah menjadi merah |
| VP | | Media berubah menjadi merah | Media berubah menjadi merah |

| | | | |
|----------|---------|----------------------------|-----------------------------|
| Sitrat | | Tidak terbentuk warna biru | Terbentuk warna biru |
| Urea | | Terbentuk warna merah | Tidak terbentuk warna merah |
| Uji Gula | Glukosa | Berwarna kekuningan | Berwarna kekuningan |
| | Maltosa | Berwarna kekuningan | Berwarna kekuningan |
| | Sukrosa | Berwarna kekuningan | Berwarna kekuningan |
| | Laktosa | Berwarna kekuningan | Tidak Berubah |

Dari beberapa pengujian yang telah dilakukan baik itu uji morfologi, pewarnaan gram dan uji biokimia diperoleh bakteri yang diisolasi dari spons laut *Xestospongia sp* pada bagian luar yaitu *Bacil* gram positif sedangkan pada bagian dalam yaitu *Coccus* gram positif.

Bacil semula dikenal sebagai bakteri asal daratan, seperti halnya *Micrococcus* namun Effendi dalam Hatmanti (2000), menemukan bahwa bakteri ini ternyata merupakan penghuni laut sejati yang dapat menghasilkan antibiotik. *Bacil* merupakan salah satu bakteri yang mempunyai berbagai macam kemampuan yang dapat dikembangkan dalam skala industri. Menurut Atlas dan Bartha (1987), *Bacil* sangat potensial untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi karena mempunyai sifat-sifat seperti, memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, membentuk spora, tahan terhadap senyawa antiseptik. Selain itu, *Bacil* tidak membutuhkan faktor tumbuh yang relatif mahal dan *Bacil* digolongkan ke dalam kelas bakteri heterotrofik yaitu protista bersifat uniseluler. Sebagian besar bakteri laut termasuk dalam kelompok bakteri bersifat heterotrofik dan saprofitik (Rheinheimer, 1980). Sedangkan,

Berbentuk bulat (*Coccus*) terbagi menjadi dua yaitu:

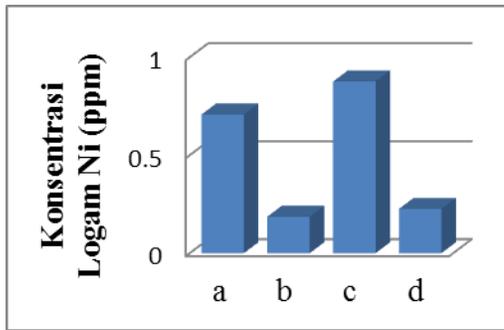
a. Bakteri kokus gram positif
Aerobik: *Micrococcus*,
Staphylococcus, *Streptococcus*,
Leuconostoc

Anaerobik: *Methanosarcina*,
Thiosarcina, *Sarcina*, *Ruminococcus*

b. Bakteri kokus gram negatif
Aerobik: *Neisseria*, *Moraxella*,
Acinetobacter, *Paracoccus*
Anaerobik: *Veillonella*,
Acidaminococcus, *Megasphaera*

Penentuan Kadar Logam Ni

Analisis kadar logam Ni menggunakan ICP-OES. Alat ini digunakan karena memiliki beberapa kelebihan, diantaranya tingkat ketelitian, sensitifitas dan selektivitas yang tinggi serta limit deteksi yang tinggi hingga rentang ppb (Hartati, 1997; Archers, 2003 dalam Rinawati dkk., 2008). Berdasarkan hasil pengukuran menggunakan ICP-OES diperoleh kadar logam Ni pada simbiosis spons dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafika analisis kadar logam Ni (Keterangan: a. isolat awal bagian luar, b. isolat akhir bagian luar, c. isolat awal bagian dalam, dan d. isolat akhir bagian dalam)

Hasil pengukuran dan perhitungan kadar logam Ni dalam bakteri simbiosis spons *Xestospongia sp* dari perairan Pulau Barrang Lompo menunjukkan bahwa konsentrasi logam nikel yang diperoleh dari ICP-OES isolat awal lebih besar dibandingkan dengan isolat akhir. Pada bagian luar akumulasi logam diperoleh lebih kecil dapat disebabkan karena bakteri berada pada bagian luar maka bakteri pada spons mudah untuk terlepas dan adanya sistem sirkulasi pada spons yang mampu menyaring makanan dan mengeluarkan sisa-sisa makanan yang tidak dapat dicerna lagi melalui pori-pori yang ada dipermukaan tubuhnya. Sedangkan proses akumulasi pada bagian dalam, memerlukan suatu sistem transfort untuk masuknya ion logam dalam suatu sel. Selain itu menurut Henie

(2012), dipengaruhi oleh arus pada proses sirkulasi dalam perairan dan berpengaruh terhadap nutrisi yang dibawanya. Diperkirakan juga pesatnya pertumbuhan jumlah penduduk, aktifitas ekonomi, dan pembangunan infrastruktur di pulau turut menyumbang tingginya serapan logam pada bakteri tersebut.

Berdasarkan data yang diperoleh maka diketahui bahwa simbiosis spons *Xestospongia sp* mampu untuk mengakumulasi logam Ni dan kemungkinan dapat digunakan sebagai bioindikator.

KESIMPULAN

Bakteri yang bersimbiosis dengan spons *Xestospongia sp* yang diperoleh dari perairan Pulau Barrang Lompo telah dilakukan isolasi dan identifikasi. Adapun jenis bakteri simbiosis spons *Xestospongia sp* yang telah berhasil diisolasi dan identifikasi pada bagian dalam yaitu *coccus* gram positif sedangkan simbiosis spons pada bagian luar yaitu *bacil* gram positif. Kadar logam nikel untuk bakteri bagian luar pada isolat awal sebesar 0,7073 ppm dan pada isolat akhir sebesar 0,1860 ppm sedangkan kadar logam nikel untuk bakteri bagian dalam pada isolat awal sebesar 0,8763 ppm dan pada isolat akhir sebesar 0,2262 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Efendi, A., 2003, *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya Dan Lingkungan Perairan*, Kanisius, Jogjakarta.
2. Hatmanti, A., 2000, Pengenalan *Bacillus sp*, *Oseana*, **25** (1), 31-41.
3. Hanani, E., Mun'im, A., Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam spons dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, **2** (3), 127-133.

4. Henie, P. A., 2012, Eksistensi Logam Runut Co, Cr, dan Ni Dalam Bakteri Simbion Spons *Haliclona fascigera* Di Perairan Spermonde, Makassar The Existence of Trace Metals Co, Cr, and Ni in Bacterial Symbiont of Sponge *Haliclona fascigera* at in The Spermonde Waters Makassar, *Marina Chemica Acta*, **13** (1), 20-33.
5. Hooper, J.N.A., 2002, *Sponguide guide to spon collection and identification*, Queensland Museum, South Brisbane, Australia.
6. Lee, Y., K., Lee, J., H., dan Lee, H., K., 2001, Microbial symbiosis in marine sponss, *J Microbiol*, **30**, 254-264.
7. Palar, H., 2008, *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*, Rineka Cipta, Jakarta.
8. Reinheimer, G. 1991. *Aquatic Microbiology*. 4 th Ed. John Wiley and Sons, Chichester and New York.
9. Rinawati, Supriyanto, R., dan Dewi, W.S., 2008, *Profil Logam Berat (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb dan Zn) di Perairan Sungai Kuripan Menggunakan ICP-OES*, Prosiding Seminar Nasional dan Teknologi-II, Universitas Lampung, Lampung, 17-18 Novembe