

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROORGANISME YANG DOMINAN  
PENYEBAB KERUSAKAN PADA ALGA MERAH (*Gracilaria sp*)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Oleh :  
**ERA JUNITA  
NIM. 0910832006**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROORGANISME YANG DOMINAN  
PENYEBAB KERUSAKAN PADA ALGA MERAH (*Gracilaria sp*)**

**SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya**

**Oleh :  
ERA JUNITA  
NIM. 0910832006**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROORGANISME YANG DOMINAN  
PENYEBAB KERUSAKAN PADA ALGA MERAH (*Gracilaria sp*)**

Oleh :  
**ERA JUNITA**  
NIM. 0910832006

Telah dipertahankan di depan penguji pada tanggal 18 Juni 2012  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

Ir. TITIK DWI SULISTIYATI, MP  
Tanggal :

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

Dr. Ir. HARDOKO, MS  
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

EKO WALUYO, S. Pi., M, Sc  
Tanggal :

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan

Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, MS  
Tanggal :

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau mendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia



Malang, Juli 2012

Mahasiswa,

Era Junita

## RINGKASAN

**ERA JUNITA.** Laporan Skripsi dengan judul Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Yang Dominan Penyebab Kerusakan Pada Alga Merah (*Gracilaria sp*) (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Hardoko, MS** dan **Eko Waluyo, S.Pi. M. Sc**)

Alga merah jenis tertentu dapat menghasilkan agar yang dimanfaatkan antara lain sebagai bahan makanan dan kosmetik, misalnya *Euचेuma spinosum*. Di beberapa negara, misalnya Jepang, alga merah ditanam sebagai sumber makanan. Selain itu juga dipakai dalam industri agar, yaitu sebagai bahan yang dipakai untuk mengeraskan/memadatkan media pertumbuhan bakteri. Beberapa alga merah yang dikenal dengan sebutan alga koral menghasilkan kalsium karbonat di dinding selnya. Kalsium karbonat ini sangat kuat dalam mengatasi terjangan ombak. Kelebihan ini menjadikan alga koral memiliki peran penting dalam pembentukan terumbu karang (Ramdam, 2011).

Seleksi dapat didefinisikan sebagai penggunaan prosedur dengan selektifitas yang tinggi untuk mendeteksi dan mengisolasi mikroba yang diinginkan diantara sekian banyak populasi mikroba. Mikroba dapat diisolasi dari berbagai sumber yaitu tanah, air, sayuran, dan buah-buahan baik yang segar maupun yang sudah busuk. Tanaman yang sedang tumbuh, hewan, limbah dan berbagai jenis makanan. Tergantung pada tujuan dan jenis mikroba yang diinginkan (Rachman, 1989).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, dan di Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, pada bulan November 2011 – Januari 2012.

Tahapan dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Metode deskriptif yaitu metode yang menggambarkan suatu keadaan atau kejadian. Penelitian deskriptif hanya akan melukiskan keadaan objek atau persoalannya dan tidak dimaksudkan untuk mengambil kesimpulan yang berlaku umum. Dalam hal ini penelitian deskriptif merupakan akumulasi data dasar, dan tidak perlu menerangkan mestest hipotesis, membuat ramalan atau mendapatkan makna dan implikasi (Suryabrata, 1983).

Pada penelitian yang telah dilakukan akan menggambarkan beberapa tahapan alga merah *Gracilaria sp* yang diamati dari kondisi segar hingga busuk. Tahapan-tahapan yang akan dilakukan adalah pengambilan sampel, proses pembusukan, pengenceran, plating, inkubasi, pemurnian, inkubasi, agar miring, inkubasi kemudian dilanjutkan dengan tahap identifikasi

Hasil pengamatan kadar air didapatkan untuk sampel segar  $83.60 \pm 0.13$  dan busuk  $84.17 \pm 0.60$ . dan dari hasil pengujian pH pada sampel *Gracilaria sp* dari kondisi segar sampai kondisi sampel membusuk didapatkan nilai pH sebesar 6,20 – 7,46. Untuk perhitungan koloni didapatkan hasil pada sampel segar yaitu  $9.8 \times 10^8$  cfu/g dan untuk sampel busuk yaitu  $2.1 \times 10^9$  cfu/g. Dari hasil isolat yang telah dilakukan didapatkan isolat S-1 pada sampel segar dan isolat B-2 untuk sampel busuk. Dan dari hasil isolasi yang dilakukan dan diidentifikasi telah diketahui bakteri yang terdapat pada sampel segar yaitu *Pseudomonas pseudomallei* dan untuk sampel busuk didapatkan bakteri *Enterobacter gergoviae*.

## KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga laporan skripsi dengan judul ” **Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme Yang Dominan Penyebab Kerusakan Pada Alga Merah (*Gracilaria sp*)**” dapat terselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Hardoko, MS, selaku dosen pembimbing I dan Bapak Eko Waluyo, S. Pi., M. Sc, selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran, kritik dan motivasi selama penelitian sampai penulis skripsi.
2. Ibu Ir. Titik Dwi Sulistiati, MP, selaku dosen penguji I yang telah memberikan masukan kritik dan saran demi perbaikan laporan hasil penelitian.
3. Dety Putri Sari dan Zulfika Yuli, selaku teman satu team yang telah bekerja sama selama penelitian sampai penulisan skripsi.
4. Kedua Orang tua, Ayah dan Ibu yang telah membantu doa, motivasi, dukungan dan bantuan secara moral, dan material.
5. Serta pihak-pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam penyelesaian laporan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan banyak kekurangan karena keterbatasan penulis sebagai manusia, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

Malang, Juli 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis .....	3
1.5 Kegunaan Penelitian .....	4
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Rumput Laut .....	5
2.1.1 Alga Merah ( <i>Gracilaria sp</i> ) .....	6
2.1.2 Kandungan Gizi ( <i>Gracilaria sp</i> ) Segar .....	8
2.1.2.1 Selulosa .....	8
2.2 Agar-agar .....	10
2.3 Morfologi Rumput Laut <i>Gracilaria sp</i> .....	11
2.4 Kerusakan Bahan Pangan .....	13
2.5 Prosedur Penelitian .....	16
2.5.1 Pembusukan .....	16
2.5.2 Pengenceran .....	17
2.5.3 Teknik Penanaman (Plating) .....	18
2.5.4 Inkubasi .....	19
2.5.5 Isolasi Mikroba Koloni .....	19
2.5.6 Pemurnian .....	21
2.5.7 Penggoresan .....	22
2.5.8 Identifikasi .....	24
2.5.8.1 Uji Mikrokopis .....	24

2.5.8.2 Uji Fisiologi .....	26
2.5.9 Uji Microbact System .....	31
<b>3 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>33</b>
3.1 Materi Penelitian .....	33
3.1.1 Bahan Penelitian .....	33
3.1.2 Alat Penelitian .....	33
3.2 Metode Penelitian .....	34
3.3 Pengujian Kadar Air .....	36
3.4 Pengujian pH .....	37
3.5 Prosedur Penelitian.....	38
3.5.1 Persiapan Sampel .....	38
3.5.2 Proses Pembusukan .....	38
3.5.3 Pengenceran .....	39
3.5.4 Teknik Penanaman (Plating) .....	40
3.5.5 Inkubasi .....	40
3.5.6 Perhitungan dan Isolasi Koloni Mikroba.....	41
3.5.7 Pemurnian .....	42
3.5.8 Penggoresan .....	44
3.5.9 Identifikasi Koloni.....	44
3.5.9.1 Uji Makroskopis .....	45
3.5.9.2 Uji Mikroskopis .....	45
3.5.9.3 Uji Fisiologi .....	45
3.5.10 Uji Microbact System .....	46
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>48</b>
4.1 Pengujian Kadar Air <i>Gracilaria sp</i> .....	48
4.2 Pengujian pH .....	49
4.3 Isolasi Mikroorganisme .....	50
4.4 Identifikasi Mikroorganisme .....	55
4.4.1 <i>Pseudomonas pseudomallei</i> .....	56
4.4.2 <i>Enterobacter gergoviae</i> .....	60
<b>5. PENUTUP .....</b>	<b>65</b>
5.1 Kesimpulan .....	65
5.2 Saran .....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>66</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>72</b>

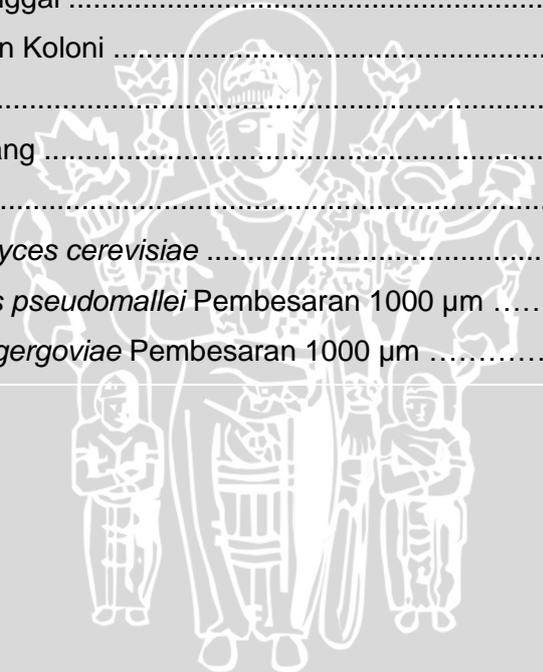
## DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Komposisi Gizi Rumput Laut .....	8
2. Hasil Data Kadar Air <i>Gracilaria sp</i> .....	48
3. Nilai pH Dari Proses Segar Sampai Membusuk .....	49
4. Hasil Perhitungan Koloni Dari Media NA .....	50
5. Karakteristik Koloni Pada Sampel Segar dan Busuk .....	52
6. Data Hasil Uji Identifikasi Bakteri .....	57
7. Data Hasil Uji Biokimia <i>Pseudomonas pseudomallei</i> .....	58
8. Karakteristik <i>Pseudomonas pseudomallei</i> .....	59
9. Referensi Karakteristik pada Bakteri <i>Pseudomonas pseudomallei</i> .....	59
10. Data Hasil Uji Identifikasi Bakteri .....	62
11. Data Hasil Uji Biokimia <i>Enterobacter gergoviae</i> .....	62
12. Referensi Bakteri <i>Enterobacter</i> .....	63
13. Referensi Karakteristik Bakteri <i>Enterobacter gergoviae</i> .....	63



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Rumput Laut <i>Gracilaria sp</i> .....	7
2. Struktur Selulosa .....	10
3. Proses Pengenceran .....	17
4. Proses Tuang .....	18
5. Pembagian Cawan Petri .....	22
6. Hasil Penggoresan Cawan Petri .....	22
7. Ciri Koloni Pada Agar Miring .....	24
8. Bentuk Koloni Tunggal .....	27
9. Bentuk Permukaan Koloni .....	27
10. Bentuk Bakteri .....	28
11. Jenis – jenis Kapang .....	29
12. Jenis Khamir .....	30
13. Yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	30
14. Sel <i>Pseudomonas pseudomallei</i> Pembesaran 1000 $\mu\text{m}$ .....	56
15. Sel <i>Enterobacter gergoviae</i> Pembesaran 1000 $\mu\text{m}$ .....	61



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Data Pengujian Kadar Air .....	73
2. Data Perhitungan Jumlah Koloni .....	77
3. Tahapan Kadar Air .....	78
4. Tahapan Penelitian .....	79
5. Diagram Alir Identifikasi Bakteri .....	80
6. Hasil Pengujian Mikrobact System <i>Pseudomonas pseudomallei</i> dan <i>Enterobacter gergoviae</i> .....	81
7. Alat dan Bahan Penelitian .....	82



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perairan Indonesia sebagai daerah tropis memiliki sumberdaya rumput laut yang cukup besar baik sebagai sumberdaya plasma nutfah dengan kurang lebih 555 jenis rumput laut di perairan Indonesia (ekspedisi Laut Siboga 1899-1900 oleh Van Bosse). Jenis yang banyak terdapat di perairan Indonesia adalah *Gracilaria*, *Gelidium*, *Euचेuma*, *Hypnea*, *Sargasum* dan *Turbinaria*. Dari beberapa jenis rumput laut telah mampu dikembangkan ratusan jenis produk yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang, antara lain pada industri pangan dan non pangan (Fibriko, 2008). Jenis alga merah yang mempunyai nilai ekonomis penting adalah *Euचेuma sp*, *Gracilaria sp*, *Gelidium sp*, *Sargassum sp* dan *Turbinaria sp*. Dari jenis tersebut yang telah banyak dibudidayakan adalah jenis *Euचेuma sp* dan *Gracilaria sp*. *Euचेuma sp* dibudidayakan di perairan pantai/laut, sedangkan *Gracilaria sp* lebih banyak dibudidayakan di tambak. Jenis lainnya yang belum dapat dibudidayakan adalah *Gelidium sp* dan kelas dari alga coklat (*Sargassum sp* dan *Turbinaria sp*).

Salah satu bahan makanan yang mempunyai kandungan mineral tinggi yaitu rumput laut. Rumput laut sebagai salah satu sumber hayati laut bila diproses akan menghasilkan senyawa *hidrokolid* yang merupakan produk dasar (hasil metabolisme primer). Senyawa *hidrokolid* yang berasal dari rumput laut komersial di Indonesia yaitu agar (dari jenis agarofit), karagenan (dari jenis karagino-fit), dan alginat (dari jenis alginofit). Selain mengandung mineral, rumput laut juga merupakan sumber serat (Anggadiredja, *et al.*, 2006).

Alga merah jenis tertentu dapat menghasilkan agar yang dimanfaatkan antara lain sebagai bahan makanan dan kosmetik, misalnya *Eucheuma spinosum*. Di beberapa negara, misalnya Jepang, alga merah ditanam sebagai sumber makanan. Selain itu juga dipakai dalam industri agar, yaitu sebagai bahan yang dipakai untuk mengeraskan/memadatkan media pertumbuhan bakteri. Beberapa alga merah yang dikenal dengan sebutan alga koral menghasilkan kalsium karbonat di dinding selnya. Kalsium karbonat ini sangat kuat dalam mengatasi terjangan ombak. Kelebihan ini menjadikan alga koral memiliki peran penting dalam pembentukan terumbu karang (Ramdam, 2011).

Daya tahan simpan produk-produk perairan ditentukan oleh jumlah mikroba pembusuk yang terdapat didalamnya. Pengujian terhadap indikator pada produk-produk hasil perairan, baik untuk bahan yang masih segar maupun telah diolah pada prinsipnya sama dengan pengujian indikator pembusuk terhadap produk-produk daging dan unggas. Untuk produk-produk dibekukan dilakukan perhitungan jumlah hitungan cawan menggunakan PCA pada suhu 20°C selama 3 hari untuk menghitung jumlah mikroba pembusuk baik yang bersifat psikrofilik maupun mesofilik (Fardiaz, 1992).

Seleksi dapat didefinisikan sebagai penggunaan prosedur dengan selektifitas yang tinggi untuk mendeteksi dan mengisolasi mikroba yang diinginkan diantara sekian banyak populasi mikroba. Seleksi dilakukan dalam dua tahap yaitu seleksi primer dan seleksi sekunder. Mikroba dapat diisolasi dari berbagai sumber yaitu tanah, air, sayuran, dan buah-buahan baik yang segar maupun yang sudah busuk. Tanaman yang sedang tumbuh, hewan, limbah dan berbagai jenis makanan. Tergantung pada tujuan dan jenis mikroba yang diinginkan (Rachman, 1989).

## 1.2 Perumusan Masalah

*Gracilaria sp* merupakan salah satu agarofit yang memiliki nilai komersil. Keberadaan spesies ini cukup bervariasi yaitu sekitar seratus spesies tersebar di wilayah lautan baik tropis dan subtropis (Risjani, 2004).

Pertumbuhan *Gracilaria sp* umumnya lebih baik ditempat dangkal daripada di tempat dalam. Suhu optimum untuk pertumbuhan adalah 20-28°C, tumbuh pada kisaran kadar garam yang tinggi dan tahan sampai pada kadar garam 50 permil. Dalam keadaan basah dapat hidup diatas permukaan air (*exposed*) selama satu hari (Aslan, 1995).

Dalam bahasa ilmiah, rumput laut (*seaweed*) dikenal dengan istilah alga atau ganggang. Dengan kondisi yang lembab atau basah akan mempercepat pembusuk pada rumput laut. Kandungan air yang terlalu banyak dalam bahan makanan menyebabkan pembusuk lebih mudah terjadi. Jamur bakteri penyebab pembusuk akan tumbuh berkembang dengan cepat. Dari paragraf diatas dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut :

- Mikroorganisme yang dominan penyebab kerusakan pada alga merah *Gracilaria sp* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan identifikasi mikroorganisme yang dominan dapat merusak alga merah (*Gracilaria sp*).

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari dari penelitian ini adalah diduga mikroorganisme yang dominan menyebabkan kerusakan pada alga merah (*Gracilaria sp*).

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian diharapkan dapat memberikan informasi kepada pihak yang berkepentingan tentang isolasi dan identifikasi mikroorganisme yang dominan dapat merusak alga merah (*Gracilaria sp*) sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

### 1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya Malang, dan di Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, pada bulan November 2011 – Januari 2012.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Rumput Laut

Rumput laut tumbuh dan tersebar hampir di seluruh perairan Indonesia. Tumbuhan ini bernilai ekonomis penting karena penggunaannya sangat luas dalam bidang industri kembang gula, kosmetik, es krim, media cita rasa, roti, saus, sutera, pengalengan ikan/daging, obat-obatan dan batang besi untuk solder/las. Selain itu, rumput laut juga memberi nilai tambah rumah tangga. Manisan rumput laut misalnya, dibuat dari rumput laut jenis *Euचेuma* yang berguna bagi kesehatan. Jenis ini dapat memperlancar sistem pencernaan disamping mengandung vitamin dan mineral (Anonymous, 2007<sup>a</sup>).

Rumput laut tergolong tanaman berderajat rendah, umumnya tumbuh melekat pada substrat tertentu, tidak mempunyai akar, batang maupun daun sejati tetapi hanya menyerupai batang yang disebut *thallus*. Rumput laut tumbuh di alam dengan melekatnya dirinya pada karang, lumpur, pasir, batu, dan benda keras lainnya. Selain benda mati, rumput lautpun dapat melekat pada tumbuhan lain secara *epifit* (Anggadiredja, *et al.*, 2006). Berdasarkan pigmen (zat warna) yang dikandungnya, alga atau ganggang dikelompokkan menjadi empat kelas, yaitu *Rhodophyceae* (alga merah), *Phaeophyceae* (alga coklat), *Chlorophyceae* (alga hijau), dan *Cyanophyceae* (alga biru). Rumput laut termasuk dalam jenis alga coklat dan alga merah (Poncomulyo *et al.*, 2008).

Rumput laut merupakan bahan baku dari berbagai jenis produk olahan bernilai ekonomi tinggi, rumput laut selain digunakan sebagai pewarna makanan dan tekstil, juga dapat digunakan sebagai produk pangan maupun non pangan, seperti : agar-agar, kerajinan, dan alginat. Sebagai sumber gizi, rumput laut memiliki kandungan karbohidrat, protein, sedikit lemak, dan abu (natrium, kalium,

fosfor, besi, dan yodium). Juga terdapat kandungan vitamin-vitamin yaitu A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, dan C, betakaroten. Selain digunakan untuk bahan makanan dan obat, ekstrak rumput laut yang merupakan *hidrokoloid* seperti agar, keraginan dan alginat juga banyak diperlukan dalam berbagai industri (Nindyaning, 2007).

Jenis rumput laut yang sudah diolah menjadi agar-agar diantaranya *Gracilaria sp* dan *Gelidium sp*. *Gracilaria sp* paling banyak digunakan karena harganya lebih murah dan agar-agar yang dihasilkan tiga kali lebih banyak dibanding dengan jenis lain (Poncomulyo *et al.*, 2008).

### 2.1.1 Alga Merah (*Gracilaria sp*)

*Gracilaria sp* merupakan rumput laut yang dibudidayakan di muara sungai atau di tambak, meskipun habitat awalnya berasal dari laut. Hal ini terjadi karena tingkat toleransi hidup yang tinggi sampai salinitas 15 per mil (Anggadiredja, dkk. 2006)

Ditambah oleh Risjani (2004), *Gracilaria sp* merupakan salah satu agarofit yang memiliki nilai komersil. Keberadaan spesies ini cukup bervariasi yaitu sekitar seratus spesies tersebar di wilayah lautan baik tropis dan subtropis. Selain itu juga terdapat berbagai cara penamaan pada *Gracilaria sp* yang didasarkan pada morfologi, anatomi dan organ reproduksinya.

Pertumbuhan *Gracilaria sp* umumnya lebih baik ditempat dangkal daripada di tempat dalam. Substrat tempat melekatnya dapat berupa batu, pasir, lumpur dan lain-lain. Kebanyakan lebih menyukai intensitas cahaya yang lebih tinggi. Suhu merupakan faktor penting untuk pertumbuhan dan pembiakan. Suhu optimum untuk pertumbuhan adalah 20-28°C, tumbuh pada kisaran kadar garam yang tinggi dan tahan sampai pada kadar garam 50 ‰. Dalam keadaan basah dapat hidup diatas permukaan air (*exposed*) selama satu hari (Aslan, 1995).

Menurut Anggadiredja *et al.*, (2006) klasifikasi *Gracilaria sp* adalah sebagai

berikut :

Divisio : Rhodophyta

Kelas : Rhodophyceae

Bangsa : Gigartinales

Suku : *Gracilaria sp*

Marga : *Gracilaria sp*

Jenis : *Gracilaria sp*



**Gambar 1. Rumput Laut *Gracilaria sp* (Angkasa, 2011)**

Menurut Aslan (1995) *Gracilaria sp* memiliki ciri sebagai berikut:

1. Thalli berbentuk silindris/gepeng dengan percabangan, mulai dari yang sederhana sampai pada yang rumit dan rimbun.
2. Diatas percabangan umumnya bentuk thalli agak mengecil
3. Perbedaan bentuk, struktur dan asal usul pembentukan organ reproduksi sangat penting dalam perbedaan tiap spesies.
4. Warna thalli beragam, mulai dari warna hijau-cokelat, merah, pirang, merah-cokelat, dan sebagainya.
5. Substansi thalli menyerupai gel atau lunak seperti tulang rawan.

*Gracilaria sp* menghasilkan agar setelah melalui proses ekstraksi. Dilihat dari struktur molekul, agar merupakan senyawa polisakarida dengan rantai

panjang yang disusun oleh ulangan dari pasangan dua unit molekul agarose dan agaropektin (Anggadiredja *et al.*, 2006).

### 2.1.2 Kandungan Gizi *Gracilaria sp*

Zat gizi atau zat makanan adalah salah satuan yang menyusun suatu bahan makanan. Zat makanan antara lain adalah karbohidrat atau hidrat arang, protein, lemak, vitamin, dan mineral (Sediaoetama, 2000).

Rumput laut mengandung komposisi gizi yang sangat tinggi, baik yang masih mentah maupun yang sudah diolah. Komposisi gizi rumput laut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Gizi Rumput Laut

Unsur	Kandungan (%)
Mineral	K, Ca, P, Na, Fe, I
Protein	17.2 – 27.13
Lemak	0.08
Abu	1.5 %
Vitamin	A, B1, B2, B6, B12, C (Caroten)
Karbohidrat	39 – 51 %

Sumber : Suptijah (2002).

*Gracilaria sp* menghasilkan agar setelah melalui proses ekstraksi. Dilihat dari struktur molekul, agar merupakan senyawa polisakarida dengan rantai panjang yang disusun oleh ulangan dari pasangan dua unit molekul *agarose* dan *agaropektin* (Anggadiredja, 2006).

Menurut Aslan (1998), kandungan *Gracilaria sp* bervariasi menurut spesies dan lokasi pertumbuhannya yang umumnya berkisar antara 16% - 45%. Di Indonesia spesies ini merupakan alga penting untuk bahan baku pabrik agar-agar. Kandungan agar-agar dari *Gracilaria sp* di Indonesia mencapai 47,34%, produksinya masing bergantung sepenuhnya dari alam.

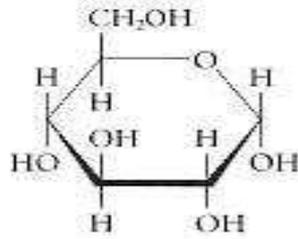
#### 2.1.2.1 Selulosa

Selulosa adalah salah satu bentuk polisakarida struktural yang tersusun atas ikatan b-D glukosa yang terikat dengan ikatan glikosida ( $1 \times 4$ ) yang

membentuk molekul mirip rantai lurus. Selulosa adalah senyawa organik yang paling melimpah di bumi ini. Seperti pati, selulosa adalah polimer glukosa, akan tetapi glikosidik pada kedua polimer ini sangat berbeda, monomer glukosa dari selulosa semuanya berada dalam konfigurasi  $\beta$ , membuat setiap monomer glukosa saling terbalik dengan monomer glukosa lainnya (Magfoer, 2011). Sedangkan menurut Napianto (2010), selulosa adalah unsur struktural dan komponen utama dinding sel dari pohon dan tanaman tinggi lainnya. Senyawa ini juga dijumpai dalam tumbuhan rendah seperti paku, lumut, ganggang, dan jamur. Serat alami yang paling murni ialah serat kapas, yang terdiri dari sekitar 98% selulosa. Selulosa mendominasi karbohidrat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan hampir mencapai 50% karena selulosa merupakan bagian yang terpenting dari dinding sel tumbuh-tumbuhan. Selulose ditemukan dalam tanaman yang dikenal sebagai microfibril dengan diameter 2-20 nm dan panjang 100-40.000 nm. Selulosa merupakan  $\beta$ -1,4 poli glukosa, dengan berat molekul sangat besar. Unit ulangan dari polimer selulosa terikat melalui ikatan glikosida yang mengakibatkan struktur selulosa linier. Keteraturan struktur tersebut juga menimbulkan ikatan hidrogen secara intra dan intermolekul. Beberapa molekul selulosa akan membentuk mikrofibril yang sebagian berupa daerah teratur (kristalin) dan diselingi daerah amorf yang kurang teratur. Beberapa mikrofibril membentuk fibril yang akhirnya menjadi serat selulosa. Selulosa memiliki kekuatan tarik yang tinggi dan tidak larut dalam kebanyakan pelarut. Hal ini berkaitan dengan struktur serat dan kuatnya ikatan hidrogen.

Menurut Lehninger (1982), selulosa tidak dapat dicerna oleh manusia maupun organisme tingkat tinggi namun rayap dapat dengan mudah mencerna selulosa, hal ini dikarenakan usus rayap memiliki organisme parasit *Trichonympha* yang mengeluarkan enzim selulase, oleh enzim selulase ini selulosa dipecah yang akan menghasilkan D-glukosa yang kemudian akan

difermentasikan menjadi asam lemak berantai pendek, karbon dioksida, dan gas metana (CH<sub>4</sub>). Struktur selosa dapat dilihat pada gambar sebagai berikut.



Gambar 2. Struktur Selulosa

## 2.2 Agar-agar

Agar-agar adalah senyawa makromolekul polisakarida yang terkandung dalam beberapa jenis rumput laut, khususnya yang tergolong pada *red algae*. Senyawa agar-agar, yang juga tergolong senyawa *hydrocolloid*, mempunyai sifat-sifat umum larut dalam air panas dan membentuk jeli kenyal bila diinginkan. Sifat tersebut dimungkinkan karena secara garis besar senyawa agar-agar merupakan rantai panjang polisakarida dan memiliki struktur molekul kombinasi berulang (*repeating unit*) secara bergantian dari dua unsur yaitu *agarose* bersifat netral yang kuat daya gelasnya (*gel strength*) dan *agaropectine*, bersifat asam yang lemah daya gelasnya (Anonymous, 2007<sup>b</sup>).

Agar-agar merupakan suatu asam sulfirik, ester dari *galactan* linier. Bentuk gel diekstrak dari *agarophyt* dari kelompok *Rhodophyceae*. Penghasil agar-agar antara lain : *Gracilaria sp*, *Geledium*, *Ahnfeltia*, *Pterocladia* dan dari jenis *Acanthopeltis*. Agar-agar tidak larut dalam air dingin, tetapi larut dalam air panas. Pada temperature 32-39°C berbentuk bekuan (*solid*) dan tidak mencair pada suhu dibawah 85°C (Aslan, 1995). Agar-agar dapat membentuk jeli seperti karaginan tetapi kandungan sulfatnya masih ada, bila sudah bebas dari kandungan sulfat menjadi agarose. Jenis yang dikembangkan secara luas adalah *Gracilaria spp*. (Kadi dan Atmaja, 1988).

Menurut Suptijah (2002), agar-agar paling banyak digunakan sebagai *hidrokoloid*, terutama pada pangan, farmasi dan kosmetik. Bidang mikrobiologi dan bioteknologi lebih banyak menggunakan agar-agar dengan kemurnian yang tinggi, yang hanya dapat dipenuhi oleh produk impor, bahkan media pertumbuhan mikroorganisme dan preparasi kultur jaringanpun menggunakan agar-agar impor yang sangat banyak, yang merupakan tantangan bagi kita untuk merebutnya. Sedangkan menurut Poncomulyo *et al.*, (2008), fungsi utama agar adalah sebagai bahan pemantap, penstabil, pengemulsi, pengental, pengisi, penjernih, pembuat gel, dan lain-lain.

### 2.3 Morfologi Rumput Laut *Gracilaria sp*

Rumput laut marga *Gracilaria sp* banyak jenisnya, masing-masing memiliki sifat-sifat morfologi dan anatomi yang berbeda serta dengan nama ilmiah yang berbeda pula, seperti: *Gracilaria confervoides*, *Gracilaria gigas*, *Gracilaria verucosa*, *Gracilaria lichenoides*, *Gracilaria crasa*, *Gracilaria blodgettii*, *Gracilaria arcuata*, *Gracilaria taenioides*, *Gracilaria eucheumoides*, dan banyak lagi. Beberapa ahli menduga bahwa rumput laut marga *Gracilaria sp* memiliki jenis yang paling banyak dibandingkan dengan marga lainnya (Anggadirejo, 1995).

Menurut Atmadja, *et al.*, (1996), rumput laut *Gracilaria sp* umumnya mengandung agar, ager atau disebut juga agar-agar sebagai hasil metabolisme primernya. Agar-agar diperoleh dengan melakukan ekstraksi rumput laut pada suasana asam setelah diberi perlakuan basa serta diproduksi dan dipasarkan dalam berbagai bentuk, yaitu: agar-agar tepung, agar-agar kertas dan agar-agar batangan dan diolah menjadi berbagai bentuk penganan (kue), seperti puding dan jeli atau dijadikan bahan tambahan dalam industri farmasi. Kandungan serat agar-agar relatif tinggi, karena itu dikonsumsi pula sebagai makanan diet. Melalui

proses tertentu agar-agar diproduksi pula untuk kegunaan di laboratorium sebagai media kultur bakteri atau kultur jaringan.

Seperti pada alga kelas lainnya, morfologi rumput laut *Gracilaria sp* tidak memiliki perbedaan antara akar, batang dan daun. Tanaman ini berbentuk batang yang disebut dengan thallus (jamak: thalli) dengan berbagai bentuk percabangannya. Secara alami *Gracilaria sp* hidup dengan melekatkan (sifat benthic) thallusnya pada substrat yang berbentuk pasir, lumpur, karang, kulit kerang, karang mati, batu maupun kayu, pada kedalaman sampai sekitar 10 sampai 15 meter di bawah permukaan air yang mengandung garam laut pada konsentrasi sekitar 12-30%. Sifat-sifat oseanografi, seperti sifat kimia-fisika air dan substrat, macamnya substrat serta dinamika/pergerakan air, merupakan faktor-faktor yang sangat menentukan pertumbuhan *Gracilaria sp* (Angkasa, *et al.*, 2011).

Menurut Aslan (1995), alga merah mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut :

- Pertumbuhan bersifat *uniaksial* (satu sel di ujung *thallus*) dan multiaksial (banyak sel diujung *thallus*).
- Memiliki pigmen *fikobilin* yang terdiri dari *fikoeretrin* (berwarna merah) dan *fikosianin* (berwarna biru).
- Bersifat adaptasi *kromatik*, yaitu memiliki penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan yang dapat menimbulkan berbagai warna pada *thalli* seperti : merah tua, merah muda, pirang, coklat, kuning dan hijau.
- Mempunyai persediaan makanan berupa kanji (*floridean starch*).

- Dalam dinding selnya terdapat selulosa, agar, karagenan, *porpiran* dan *furselaran*. Contoh spesies ekonomis dari kelas ini seperti marga *Gracilaria* sp, *Gellidium*, *Euचेuma*, *Hypnea*, *Gigartina* dan *Rhodymenia*.

Sifat substansi thallus beranekaragam, ada yang lunak seperti gellatin (gellatinous), kertas diliputi atau mengandung zat kapur (calcareous), lunak seperti tulang rawan (cartilagenous), berserabut (spongiouse) dan sebagainya. Karena sifat substansinya tersebut, rumput laut memiliki kemampuan menyerap dan menyimpan air yang berbeda dengan tanaman lain yang tumbuh di darat (Sinulingga, 2011).

#### 2.4 Kerusakan Bahan Pangan

Pengendalian mikroorganismе dalam bahan makanan perlu dilakukan apabila kita menginginkan bahan makanan tersebut tidak cepat rusak atau cepat menjadi busuk, melainkan menjadi tahan lama. Kerusakan bahan makanan yang disebabkan oleh mikroorganismе terjadi karena mikroorganismе tersebut berkembangbiak dan bermetabolismе sedemikian rupa sehingga bahan makanan mengalami perubahan yang menyebabkan kegunaannya sebagai bahan pangan menjadi terganggu. Proses kerusakan ini dimungkinkan karena bahan makanan memiliki persyaratan untuk pertumbuhan mikroorganismе (Yudhabuntara, 2008).

Menurut Winarno (2004), kerusakan bahan pangan dapat disebabkan oleh faktor-faktor sebagai berikut: pertumbuhan dan aktivitas mikroba terutama bakteri, kapang, khamir, aktivitas enzim-enzim di dalam bahan pangan, serangga, parasit dan tikus, suhu termasuk oksigen, sinar dan waktu. Mikroba terutama bakteri, kapang dan khamir penyebab kerusakan pangan yang dapat ditemukan dimana saja baik di tanah, air, udara, diatas bulu ternak dan di dalam usus.

Menurut Hudaya (1999), mikroba adalah jasad hidup berukuran sangat kecil, tidak dapat dilihat oleh mata, tetapi dapat dilihat melalui mikroskop dapat ditemukan di mana saja baik di tanah, air, udara, di permukaan kulit, bulu, permukaan buah, sayuran, biji-bijian, bahkan di dalam usus manusia dan hewan. Mikroba yang penting dalam kerusakan pangan yaitu bakteri, kapang dan khamir. Tiap-tiap jenis mikroba ini untuk pertumbuhannya memerlukan suhu dan pH tertentu, juga air maupun oksigen. Pertumbuhan mikroba pada bahan pangan dapat menimbulkan berbagai perubahan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan.

- a. Mikroba yang menguntungkan, adalah mikroba yang berperan dalam proses fermentasi pangan, misalnya dalam pembuatan tempe, oncom, tape, tauco, keju, kecap, yoghurt, dll. Dalam proses fermentasi, mikroba yang diinginkan ditingkatkan pertumbuhannya, sedangkan mikroba yang tidak diinginkan pertumbuhannya dihambat.
- b. Mikroba yang merugikan. Mikroba yang termasuk golongan ini yaitu mikroba yang menimbulkan penyakit, mensintesis racun dan yang menyebabkan pembusukan pada sayur-sayuran, buah-buahan, biji-bijian, dll. akan mengalami kontaminasi oleh mikroba setelah kulitnya dikupas atau mengalami kerusakan.

Menurut Pelczar (1986), bakteri yang tumbuh pada bahan pangan dapat menimbulkan lendir, bau, gas, busa, asam atau penyimpangan warna. Selain itu bakteri dapat menimbulkan penyakit atau keracunan, jika bakteri berasal dari kelompok bakteri patogen atau bakteri penyebab penyakit. Kerusakan yang ditimbulkan oleh bakteri bisa sangat besar. Hal ini terutama disebabkan bakteri berkembang biak dengan cepat sekali bila keadaan lingkungannya menguntungkan. Misalnya dalam suasana lingkungan yang baik, jumlah bakteri dapat meningkat 2 kali lipat dalam waktu 30 menit. Sebagai contoh, misalnya

susu segar yang belum dipasteurisasi umumnya mengandung 100.000 mikroba per ml, jumlah ini dapat berlipat ganda menjadi 25 juta dalam waktu 24 jam.

Menurut kebutuhannya akan oksigen, mikroba dibedakan atas :

1. Jenis-jenis yang aerobik (memerlukan oksigen/ $O_2$ )
2. Jenis-jenis yang anaerobik (untuk tumbuh memerlukan suasana bebas oksigen atau dengan tekanan oksigen rendah)

Ditambah oleh Kusnadi (2003), pertumbuhan optimum bakteri dipengaruhi beberapa faktor, antara lain kadar air, pH, RH, oksigen, mineral, dll. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri dikelompokkan ke dalam tiga golongan yaitu :

- a. Bakteri termofilik, pada suhu 38–80°C (suhu optimum 45–55°C) sebagian besar bakteri termasuk golongan ini.
- b. Bakteri mesofilik, pada suhu 16–38°C (suhu optimum 20–45°C)
- c. Bakteri psikrofilik, pada suhu 0–16°C (suhu optimum 20°C )

Beberapa jenis bakteri dapat membentuk spora yaitu bentuk bakteri dalam keadaan istirahat yang tidak memungkinkannya untuk tumbuh pada kondisi lingkungan yang berat. Jika kondisi lingkungannya mendukung, maka spora bakteri dapat tumbuh kembali dan berkembang seperti biasa. Spora bakteri lebih tahan terhadap panas, zat-zat kimia dan pengaruh lainnya dibandingkan dengan bentuk sel vegetatifnya. Sebagian besar bakteri termasuk jenis non patogen dan hanya sebagian kecil saja yang termasuk jenis patogen. Bakteri patogen umumnya peka terhadap pemanasan. Beberapa jenis bakteri dapat membentuk racun atau zat-zat yang menimbulkan keracunan. Mikroba yang merugikan meliputi mikroba pembusuk dan mikroba yang menimbulkan penyakit infeksi dan penyakit intoksikasi (Moat, *et al.*, 1979).

## 2.5 Prosedur Penelitian

### 2.5.1 Pembusukan

Kondisi lingkungan yang mendukung dapat memacu pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan reproduksi bakteri adalah suhu, kelembaban, dan cahaya. Secara umum, terdapat beberapa alat yang dapat digunakan untuk melakukan pengamatan sel bakteri terhadap berbagai parameter tersebut, seperti mikroskop optikal, mikroskop elektron, dan atomic force microscope (Nikiyah, 2010).

Menurut Madigan (2009), suhu berperan penting dalam mengatur jalannya reaksi metabolisme bagi semua makhluk hidup. Khususnya bagi bakteri, suhu lingkungan yang berada lebih tinggi dari suhu yang dapat ditoleransi akan menyebabkan denaturasi protein dan komponen sel esensial lainnya sehingga sel akan mati. Demikian pula bila suhu lingkungannya berada di bawah batas toleransi, membran sitoplasma tidak akan berwujud cair sehingga transportasi nutrisi akan terhambat dan proses kehidupan sel akan terhenti. Pada umumnya bakteri memerlukan kelembaban relatif (*relatif humidity*, RH) yang cukup tinggi, kira-kira 85%. Kelembaban relatif dapat didefinisikan sebagai kandungan air yang terdapat di udara. Pengurangan kadar air dari protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti, misalnya pada proses pembekuan dan pengeringan. Ditambah Nikiyah (2010), sebagai contoh, bakteri *Escherichia coli* akan mengalami penurunan daya tahan dan elastisitas dinding selnya saat RH lingkungan kurang dari 84%.

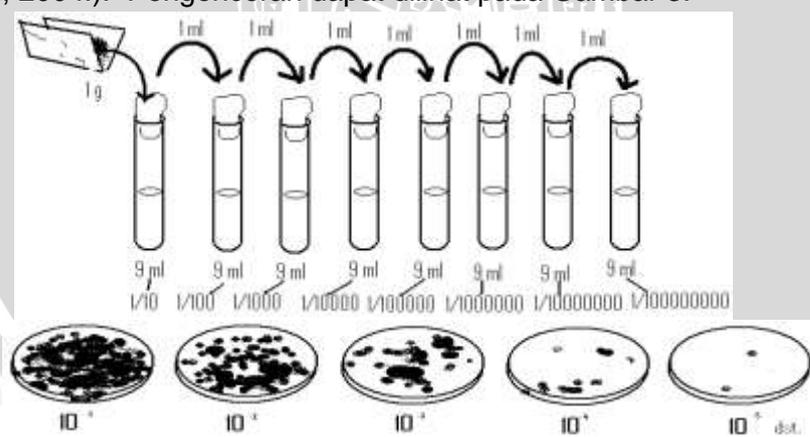
Menurut Maier (2009), bakteri gram positif cenderung hidup pada kelembaban udara yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif terkait dengan perubahan struktur membran selnya yang mengandung lipid bilayer.

## 2.5.2 Pengenceran

Pengenceran yaitu suatu cara atau metode yang diterapkan pada suatu senyawa dengan jalan menambahkan pelarut yang bersifat netral, lazim dipakai yaitu aquadest dalam jumlah tertentu. Penambahan pelarut dalam suatu senyawa dan berakibat menurunnya kadar kepekatan atau tingkat konsentrasi dari senyawa yang dilarutkan/diencerkan (Brady,1999).

Dalam pembuatan larutan dengan konsentrasi tertentu sering dihasilkan konsentrasi yang tidak kita inginkan. Untuk mengetahui konsentrasi yang sebenarnya perlu dilakukan standarisasi. Standarisasi sering dilakukan dengan titrasi. Zat-zat yang didalam jumlah yang relatif besar disebut pelarut (Baroroh, 2004).

Dalam kimia, pengenceran diartikan pencampuran yang bersifat homogen antara zat terlarut dan pelarut dalam larutan. Zat yang jumlahnya lebih sedikit di dalam larutan disebut (zat) terlarut atau solut, sedangkan zat yang jumlahnya lebih banyak daripada zat-zat lain dalam larutan disebut pelarut atau solven (Gunawan, 2004.). Pengenceran dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Proses Pengenceran (Khopkar, 1990)**

Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran

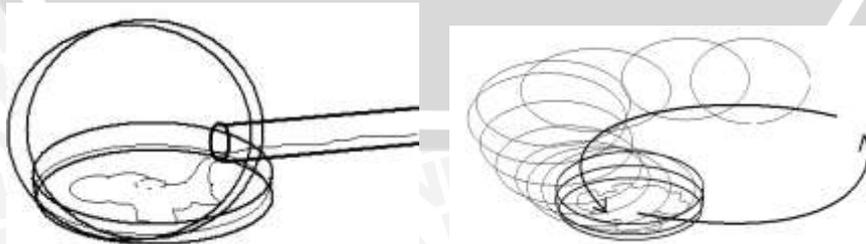
pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisme dari pengenceran sebelumnya.

### 2.5.3 Teknik Penanaman (Plating)

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Ada beberapa cara yang dapat dilakukan yaitu dengan cara goresan (streak plate), cara tuang (pour plate), cara sebar (spread plate), dan mikromanipulator (Buckle, 1998).

Ada beberapa cara yang digunakan untuk bakteri, fungi, dan khamir dengan metode garis, metode tuang, metode sebar, metode penuangan, serta micromanipulator. Dua diantaranya yang paling sering banyak digunakan adalah teknik cawan tuang dan cawan gores. Kedua metode ini didasarkan pada prinsip yang sama yaitu mengencerkan organisme sedemikian rupa sehingga individu species dapat dipisahkan (Pelczar (1986).

Mikroorganisme dibiakan di laboratorium yang terdiri dari bahan nutrient. Biasanya pemilihan medium yang dipakai bergantung pada banyak faktor seperti apa jenis mikroorganisme yang akan ditumbuhkan. Perbenihan untuk pertumbuhan bakteri agar dapat tetap dipertahankan harus mengandung sementa zat makanan yang diperlukan oleh mikroorganisme tersebut. Faktor lain seperti pH, suhu, dan pendinginan harus dikendalikan dengan baik. (Buckle, 2007)



Gambar 4. Proses Tuang (Buckle, 1998)

Menurut Naylaturohmah (2010), cara lain untuk memperoleh biakan murni dari populasi campuran mikroorganisme ialah dengan mengencerkan eksperimen dalam medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan di cawan. Karena konsentrasi sel mikroba di dalam eksperimen pada umumnya tidak diketahui sebelumnya, maka pengenceran perlu dilakukan beberapa tahap sehingga sekurang-kurangnya satu di antara cawan tersebut mengandung koloni terpisah baik di atas permukaan maupun didalam agar.

#### **2.5.4 Inkubasi**

Inkubasi adalah proses memelihara kultur bakteri dalam suhu tertentu selama jangka waktu tertentu untuk memantau pertumbuhan bakteri (Wikipedia, 2011<sup>b</sup>). Ditambah oleh Lay (1994), selain memelihara mikroba proses inkubasi ini dapat memeram mikroba pada suhu terkontrol, kisaran suhu untuk inkubator adalah 10-70°C.

Menurut Naylaturohmah (2010), populasi mikroba yang akan dimurnikan berpengaruh terhadap keberhasilan pemurnian. Populasi yang dipilih harus benar-benar terdiri dari mikroba sejenis. Inkubasi media pemurnian tersebut didalam inkubator 2 x 24 jam. Suhu inkubator dikendalikan pada 30°C karena pertumbuhan bakteri secara optimal hidup dengan suhu tersebut.

#### **2.5.5 Isolasi Mikroba Koloni**

Isolasi adalah mengambil mikroorganisme yang terdapat di alam dan menumbuhkannya dalam suatu medium buatan. Proses pemisahan atau pemurnian dari mikroorganisme lain perlu dilakukan karena semua pekerjaan mikrobiologis, misalnya telaah dan identifikasi mikroorganisme, memerlukan suatu populasi yang hanya terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba

lainnya yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat sel-sel mikroba akan membentuk suatu koloni sel yang tetap pada tempatnya (Sutedjo, 1991).

Medium adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran nutrisi yang dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisme. Selain itu juga medium digunakan untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologi dan juga digunakan untuk perhitungan jumlah mikroba. Di dalam medium harus ada nutrisi yang merupakan kebutuhan dasar dari mikroorganisme yang meliputi air, karbon, mineral, energi, dan faktor tumbuh. Air sangat penting artinya karena merupakan komponen dasar protoplasma, jalan masuknya nutrisi ke dalam sel, jalan keluarnya hasil ekskresi dan sekresi dari dalam sel, dan juga untuk reaksi-reaksi enzimatik. Air yang baik digunakan dalam pembuatan medium pembiakan mikroorganisme adalah air suling, karena bila air yang digunakan adalah air sadah untuk pembuatan medium yang terbentuk dari ekstrak daging dan pepton maka akan terbentuk endapan fosfat dan magnesium fosfat. Dengan adanya endapan-endapan tersebut maka akan menghambat bagi pertumbuhan biakan yang ditanam dalam medium yang telah dibuat. Berdasarkan sumber karbon maka mikrobia dapat dibedakan atas mikrobia yang dapat mensintesis semua komponen sel dari karbondioksida yang disebut dengan autotrof. Sedangkan mikrobia yang memerlukan satu atau lebih senyawa organik sebagai sumber karbon disebut heterotrof (Angga, 2010).

Menurut Rahmat (2010), istilah pertumbuhan pada bakteri mengacu pada perubahan dalam populasi total dan bukan perubahan dalam satu individu. Reproduksi bakteri merupakan pembelahan biner melintang, sehingga penambahan populasi bakteri akan bertambah secara geometrik. Selang waktu yang dibutuhkan bagi sel untuk membelah diri atau untuk populasi menjadi dua kali lipat disebut waktu generasi.

Bakteri adalah merupakan mikroorganisme yang sangat sederhana, tidak mempunyai nukleus dan sifatnya berbeda dengan organisme yang mempunyai inti sel. Bakteri termasuk organisme yang mampu menguraikan bahan organik menjadi unsur anorganik sederhana yang bisa dimanfaatkan organisme produsen dalam proses fotosintesis. Seperti telah kita ketahui bahwa satuan ukuran bakteri adalah mikron, namun ketika ditumbuhkan dalam media umumnya akan membentuk koloni. Koloni inilah yang memudahkan kita melakukan pengamatan secara langsung dan visual (Krettiawan, 2011).

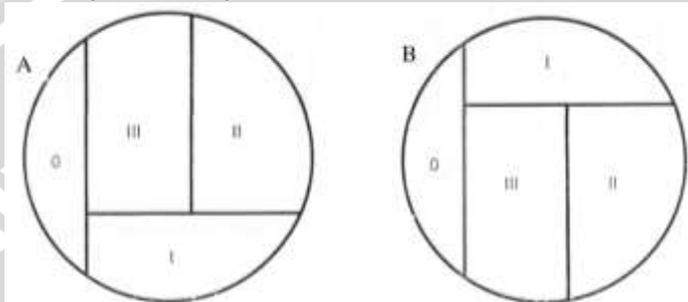
### 2.5.6 Pemurnian

Pemurnian mikroba adalah upaya yang dilakukan untuk memisahkan mikroba yang diharapkan dari mikroba lain yang tidak diharapkan. Apabila pemurnian berhasil dilakukan, maka upaya untuk mempelajari mikroba tersebut menjadi lebih mudah dilakukan. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan pemurnian mikroba adalah sterilisasi dan populasi mikroba. Sterilitas peralatan, media kultur dan lingkungan dapat mencegah terjadinya kontaminasi pada media pemurnian (Naylarurohmah, 2010).

Dalam pemurnian ini dilakukan metode cawan gores (*streak plate*), prinsip metode ini, yaitu mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, sehingga mempermudah proses isolasi. Cara ini dilakukan dengan membagi cawan petri menjadi 3-4 bagian. Ose steril yang telah disiapkan dilekatkan pada sumber isolat, kemudian menggoreskan ose tersebut pada cawan berisi media steril. Goresan dapat dilakukan 3-4 kali membentuk garis horisontal di satu sisi cawan. Ose disterilkan lagi dengan api bunsen, setelah kering ose tersebut digunakan untuk menggores goresan sebelumnya pada sisi cawan kedua. Langkah ini dilanjutkan hingga keempat sisi cawan tergores (Suriawiria, 2005).

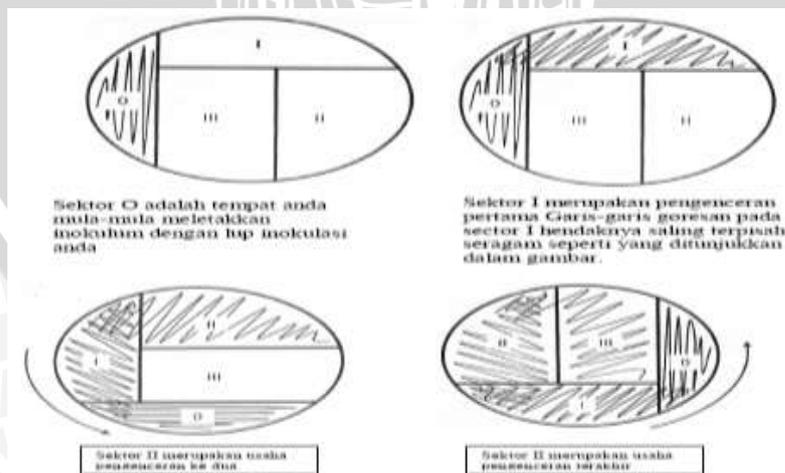
### 2.5.7 Penggoresan

Tujuan utama dari penggoresan ini adalah untuk menghasilkan koloni-koloni bakteri yang terpisah dengan baik dari suspensi sel yang pekat. Cara ini lebih menguntungkan bila ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tapi memerlukan keterampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Adapun gambar pembagian dasar cawan petri dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5. Pembagian Cawan Petri (Krettiawan, 2011)**

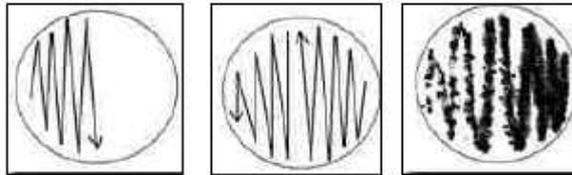
Hasil penggoresan pada cawan agar setelah di inkubasikan selama 24-48 jam. Penggoresan yang baik akan menghasilkan koloni-koloni terpisah. Pemisahan koloni dapat terjadi pada sektor mana saja kecuali sektor O bergantung pada jumlah sel yang terkandung dalam inokulum. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi selama 1x24 jam, periksa semua cawan petri. Ada pun gambar hasil penggoresan pada cawan petri dapat dilihat pada Gambar 6.



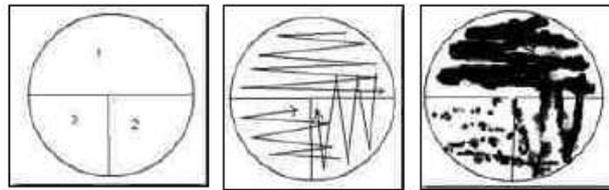
**Gambar 6. Hasil Penggoresan Cawan Petri (Krettiawan, 2011)**

Menurut Nuniek (2011), teknik Penanaman yang dilakukan adalah dengan teknik goresan (Streak) yang bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam medium baru. Ada beberapa teknik goresan adalah sebagai berikut :

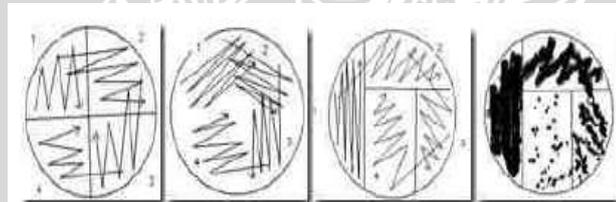
1. Goresan Sinambung



2. Goresan T

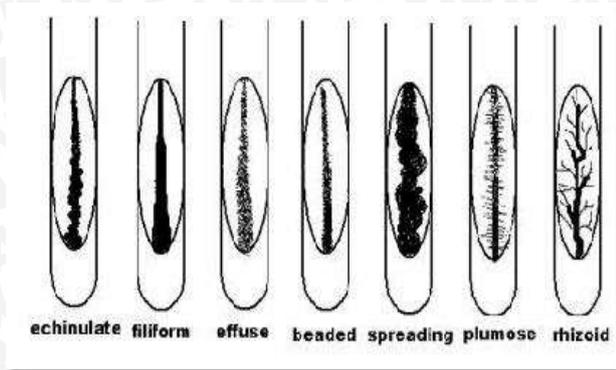


3. Goresan Kuadran (Streak quadrant)



Menurut Widanarni *et al.*, (2007), bakteri mampu hidup karena dapat menyerap cairan tercerna ekstraselular dari bahan organik yang ada disekitarnya, pencernaan bahan organik tersebut dilakukan melalui dinding sel masuk ke membran sitoplasma yang bersifat permeabel selektif. Menurut Michael *et al.*, (1997), faktor lingkungan baik biotik maupun abiotik sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup mikroorganisme.

Koloni yang tumbuh terpisah ditumbuhkan kembali untuk mendapatkan isolat murni. Isolasi murni dilakukan dengan mengoleskan ose steril pada koloni dalam kultur campuran yang benar-benar terpisah satu sama lain. Olesan tersebut digores pada media padat agar miring dalam tabung reaksi. Adapun gambar ciri-ciri koloni berdasarkan bentuk dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7. Ciri Koloni Pada Agar Miring (Rusdimin, 2003)**

Koloni yang tumbuh dalam media ini merupakan isolat murni, yang hanya berasal dari satu jenis bakteri saja. Koloni yang tumbuh dapat dikarakterisasi berdasarkan tipe pertumbuhannya pada media agar miring.

## 2.5.8 Identifikasi

### 2.5.8.1 Uji Mikrokopis

Menurut Anne (2007), salah satu cara yang dapat dilakukan untuk identifikasi bakteri adalah dengan pewarnaan atau pengecatan. Bakteri gram positif berwarna ungu karena bakteri tersebut mengikat kompleks zat warna kristal ungu-iodium, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah karena mengikat zat warna sekunder yang berwarna merah. Perbedaan hasil dalam pewarnaan ini disebabkan perbedaan struktur dinding sel bakteri dan perbedaan kandungan asam ribonukleat antara bakteri gram positif dan gram negatif.

Prosedur pewarnaan diawali dari pengambilan koloni murni dengan menggunakan jarum ose yang sebelumnya dipanaskan dahulu pada bunsen. Selanjutnya satu ose bakteri diletakkan pada sebuah preparat dan dibuat semiran. Langkah ini dilakukan sebanyak 3x dengan membuat tiga semiran dalam satu preparat dimana masing-masing semiran ditandai dengan H1, H2 dan H3. Sebelumnya pada preparat diberi aquadest terlebih dahulu agar mempermudah saat melakukan semiran. Hasil semiran pada preparat kemudian

di *blower* sampai kering sehingga dapat mempermudah untuk proses pewarnaan gram.

#### a. **Pewarnaan Gram**

Pewarnaan gram atau metode gram adalah suatu metode untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram-positif dan gram-negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Christian Gram (1853–1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884. Tujuan dari pewarnaan adalah untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya (Iud, 2008).

Menurut Dwidjoseputro (1989), dengan metode pewarnaan gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif berdasarkan reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Reaksi atau sifat bakteri tersebut ditentukan oleh komposisi dinding selnya. Oleh karena itu, pengecatan gram tidak bisa dilakukan pada mikroorganisme yang tidak mempunyai dinding sel seperti *Mycoplasma sp.* Zat warna adalah senyawa kimia berupa garam-garam yang salah satu ionnya berwarna. Garam terdiri dari ion bermuatan positif dan ion bermuatan negatif. Senyawa-senyawa kimia ini berguna untuk membedakan bakteri-bakteri karena reaksinya dengan sel bakteri akan memberikan warna berbeda. Perbedaan inilah yang digunakan sebagai dasar pewarnaan bakteri. Sel-sel warna dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu asam dan basa. Jika warna terletak pada muatan positif dari zat warna, maka disebut zat warna basa. Jika warna terdapat pada ion negatif, maka disebut zat warna asam.

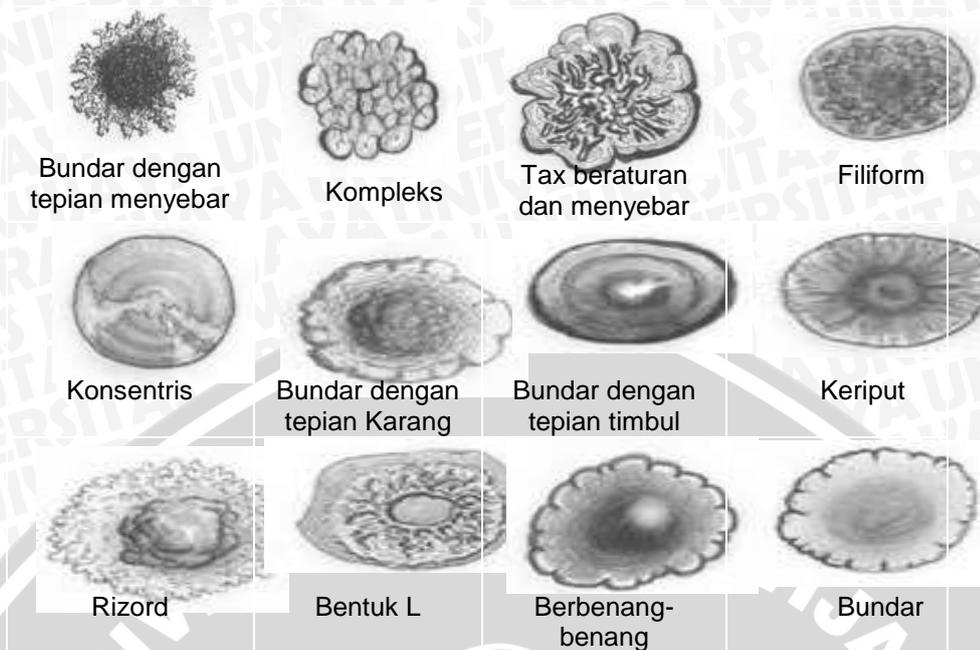
Ditambah Siri (1985), pewarnaan gram ini mungkin merupakan salah satu prosedur yang amat penting dan paling banyak digunakan dalam klasifikasi bakteri. Dengan metode ini, bakteri dapat dipisahkan secara umum menjadi dua kelompok besar yaitu :

1. Organisme yang dapat menahan kompleks pewarnaan primer ungu kristal iodium sampai pada akhir prosedur (sel-sel tampak biru gelap atau ungu), disebut gram positif.
2. Organisme yang kehilangan kompleks warna ungu kristal pada waktu pembilasan dengan alkohol namun kemudian terwarnai oleh pewarnaan tandingan, safranin (sel-sel tampak merah muda), disebut gram negatif.

Karena kemampuannya untuk membedakan satu kelompok bakteri tertentu dari kelompok lainnya, pewarnaan gram disebut juga pewarnaan diferensial.

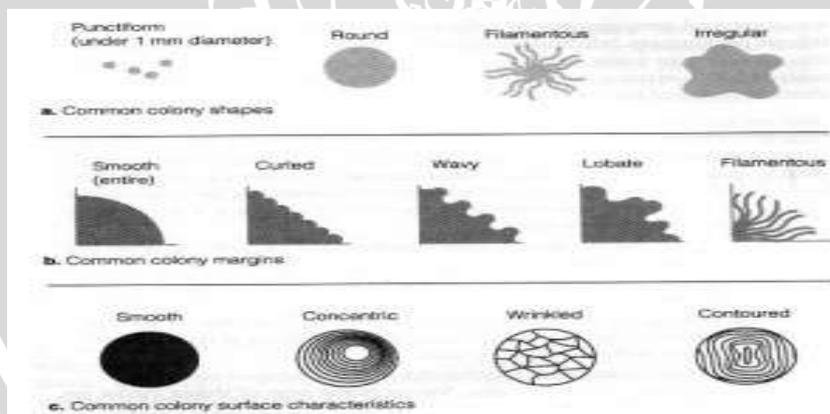
#### **2.7.8.2 Uji Fisiologi**

Ciri fisiologi ataupun biokimia merupakan kriteria yang amat penting di dalam identifikasi spesies bakteri yang tak dikenal karena secara morfologis biakan atau pun sel bakteri yang berbeda dapat tampak serupa, tanpa hasil pengamatan fisiologis yang memadai mengenai organik yang diperiksa maka penentuan spesiesnya tidak mungkin dilakukan. Karakteristik dan klasifikasi sebagian mikroba seperti bakteri berdasarkan pada reaksi enzimatik ataupun biokimia. Mikroba dapat tumbuh pada beberapa tipe media memproduksi tipe metabolit tentunya yang dideteksi dengan interaksi mikroba dengan reagen test yang mana menghasilkan perubahan warna reagen (Murray, 1995)



**Gambar 8. Bentuk Koloni Tunggal (Hadioetomo, 1985)**

Satu koloni bakteri yang terpisah dengan koloni lainnya dapat diamati tipe pertumbuhan pada masing-masing media, diantaranya dilakukan terhadap konsistensi, bentuk koloni, warna koloni dan permukaan koloni. Adapun gambar permukaan koloni dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9. Bentuk Permukaan Koloni (Hadioetomo, 1985)**

Menurut Wikipedia (2011), berdasarkan bentuknya, bakteri dibagi menjadi tiga golongan besar, yaitu:

- a. Kokus (*Coccus*) adalah bakteri yang berbentuk bulat seperti bola dan mempunyai beberapa variasi sebagai berikut:

- ✚ *Mikrococcus*, jika kecil dan tunggal
- ✚ *Diplococcus*, jika berganda dua-dua
- ✚ *Tetracoccus*, jika bergandengan empat dan membentuk bujur sangkar
- ✚ *Sarcina*, jika bergerombol membentuk kubus
- ✚ *Staphylococcus*, jika bergerombol
- ✚ *Streptococcus*, jika bergandengan membentuk rantai

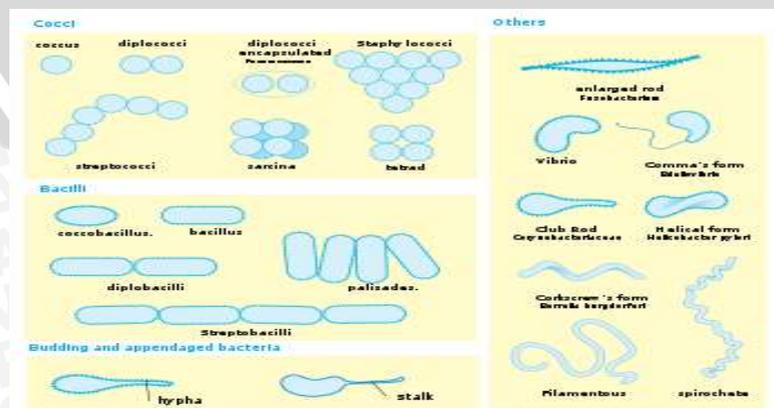
b. Basil (*Bacillus*) adalah kelompok bakteri yang berbentuk batang atau silinder, dan mempunyai variasi sebagai berikut:

- ✚ *Diplobacillus*, jika bergandengan dua-dua
- ✚ *Streptobacillus*, jika bergandengan membentuk rantai

c. Spiral (*Spirillum*) adalah bakteri yang berbentuk lengkung dan mempunyai variasi sebagai berikut:

- ✚ *Vibrio*, (bentuk koma), jika lengkung kurang dari setengah lingkaran (bentuk koma)
- ✚ *Spiral*, jika lengkung lebih dari setengah lingkaran
- ✚ *Spirochete*, jika lengkung membentuk struktur yang fleksibel.

Bentuk tubuh atau morfologi bakteri dipengaruhi oleh keadaan lingkungan, medium, dan usia. Walaupun secara morfologi berbeda-beda, bakteri tetap merupakan sel tunggal yang dapat hidup mandiri bahkan saat terpisah dari koloninya. Adapun gambar bentuk bakteri dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Bentuk Bakteri (Waluyo, 2005)

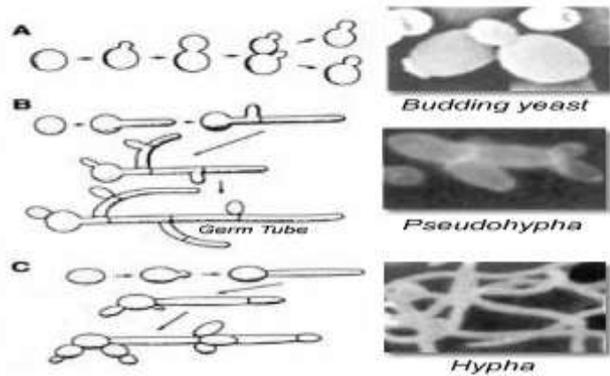
Menurut Astawan (2010), kapang dan khamir dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai macam makanan dalam kondisi aW, pH, dan suhu rendah. Jenis kapang yang dapat merusak makanan di antaranya *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Alternaria*, dan *Mucor*. Kerusakan sayuran kebanyakan disebabkan kapang seperti *Alternaria*, *Botrytis*, dan *Phytophthora*, atau bakteri yang berasal dari genus *Erwinia*. Senyawa beracun yang diproduksi oleh kapang disebut *mikotoksin*.



**Gambar 11. Jenis-jenis Kapang (Anonymous, 2011<sup>e</sup>)**

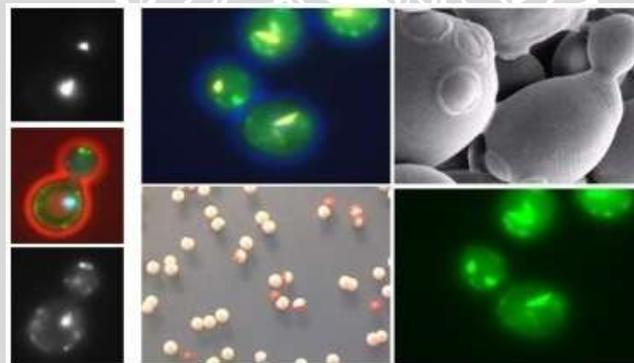
Khamir umumnya diklasifikasi berdasarkan sifat-sifat fisiologisnya, dan tidak ada perbedaan morfologi seperti halnya pada kapang. Buah-buahan dan sayuran segar mengandung bermacam-macam flora mikroorganisme, di antaranya kapang dan khamir (oksidatif, fermentatif, dan nonfermentatif). Kapang dan khamir dapat terbawa melalui tanah, permukaan tanaman, permukaan daun, hujan, insekta, dan lain-lain. Khamir selain menguntungkan juga menyebabkan kerusakan pada makanan, yaitu pada *sauerkraut*.

Khamir adalah fungi ekasel (uniselular) yang beberapa jenis spesiesnya umum digunakan untuk membuat roti, fermentasi minuman beralkohol, dan bahkan digunakan percobaan sel bahan bakar. Kebanyakan khamir merupakan anggota divisi Ascomycota, walaupun ada juga yang digolongkan dalam Basidiomycota. Beberapa jenis khamir, seperti Candida albicans, dapat menyebabkan infeksi pada manusia (kandidiasis). Adapun gambar jenis khamir sebagai berikut.



**Gambar 12. Jenis Khamir (Anonymous, 2011<sup>e</sup>)**

Lebih dari seribu spesies khamir telah diidentifikasi. Khamir yang paling umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang dimanfaatkan untuk produksi anggur, roti, tape, dan bir sejak ribuan tahun yang silam dalam bentuk ragi. Adapun gambar khamir atau yeast jenis *Saccharomyces cerevisiae* sebagai berikut.



**Gambar 13. Yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Anonymous, 2008<sup>c</sup>)**

Ragi atau istilah resminya adalah yeast merupakan organisme bersel tunggal berjenis eukariotik. Berkembang biak dengan membelah diri. Berbeda dengan bakteri, yeast memiliki ukuran sel lebih besar (sekitar 10x), memiliki organ-organ, memiliki membran inti sel, dan DNA terlokalisasi di dalam kromosom dalam inti sel. Ini menyebabkan yeast bisa melakukan fungsi-fungsi sel yang berbeda-beda di tiap lokasi dalam selnya. Singkatnya, sel yeast lebih mirip sel organisme tingkat tinggi seperti hewan. Dengan kata lain, yeast secara evolusi lebih maju ketimbang bakteri semacam *E. coli* (Anonymaos, 2008<sup>d</sup>).

### 2.7.9 Uji Microbact System

Menurut Waluyo (2005), mikrobiologi adalah ilmu yang mempelajari makhluk hidup makhluk hidup yang kecil, yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Makhluk hidup yang kecil ini disebut mikroba atau mikroorganisme. Dalam penerapannya, mikrobiologi dibagi berdasarkan jenis mikroba yang dipelajarinya, antara lain:

- ✚ *Bacteriologi* – mempelajari bakteri
- ✚ *Virology* – mempelajari virus
- ✚ *Riketsiologi* – mempelajari riketsis
- ✚ *Micologi* – mempelajari jamur

Ditambah oleh Putra, *et al.*, (2010), ada beberapa uji biokimia yang digunakan untuk identifikasi bakteri antara lain :

#### 1. Indol

Media ini biasanya digunakan dalam identifikasi yang cepat. Hasil uji indol yang diperoleh negatif karena tidak terbentuk lapisan (cincin) berwarna merah muda pada permukaan biakan, artinya bakteri tidak membentuk indol.

#### 2. MR - VP

##### a. SIM

Hasil yang diperoleh pada uji ini adalah positif, hal ini terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasi yang berarti bahwa bakteri ini memiliki flagella. Dari uji ini juga terlihat ada warna hitam, yang berarti bakteri ini menghasilkan Hidrogen Sulfit ( $H_2S$ ).

##### b. Simmons Citrate

Hasil uji sitrat yang diperoleh negatif, yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna. Artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permiase yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat kedalam sel.

c. TSIA

Pada uji ini warna media slant menjadi merah karena bakteri bersifat basa ini menandakan bahwa bakteri menfermentasi laktosa dan sukrosa.

d. Uji gula-gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, dan Manitol)

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu menfermentasikan karbohidrat. Pada uji gula hanya terjadi perubahan warna media glukosa yang berubah menjadi warna kuning, artinya bakteri ini membentuk asam dari fermentasi glukosa. Pada media glukosa juga terbentuk gelembung pada tabung durham yang diletakan terbalik didalam tabung media, artinya hasil fermentasi berbentuk gas.



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan utama dan bahan kimia. Bahan utama yang digunakan adalah *Gracilaria sp* segar, yang diperoleh dari Tambak Pulokerto Kramat Kraton, Pasuruan. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk media NA adalah Ekstrak beef, pepton, NaCl, aquades, dan agar, sedangkan untuk media APDA adalah agar, kentang (Ekstrak kentang), glukosa, asam tartarat 10% dan aquades. Untuk pewarnaan gram bahan yang digunakan adalah yaitu kristal violet, larutan iodium gram, alcohol 95%, safranin. Pemurnian bahan yang digunakan adalah kultur mikroba, media agar, dan kertas. Untuk pengujian kadar air bahan-bahan yang diperlukan adalah tissue, kertas label, silica gel, dan air. Dan untuk pengujian pH bahan-bahan yang diperlukan adalah aquades, tissue, dan plastik

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kasar alga merah adalah baskom, pisau, talenan, timbangan analitik, beaker glass, erlenmayer, corong glass, gelas ukur serta lemari es untuk menyimpan sampel. Adapun alat-alat yang digunakan untuk pemurnian adalah tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, labu erlenmeyer, gelas beker, jarum ose, pinset, kompor gas, inkubator  $\pm 35^{\circ}\text{C}$ , dan blender.

Alat yang digunakan untuk pengujian kadar air adalah botol timbang+tutup, oven, crucible tang, timbangan analitik, mortar dan alu, desikator, pisau, spatula, nampan, stopwatch, dan washing battle. Dan untuk pengujian pH alat-

alat yang digunakan adalah nampan, mortar dan alu, pisau, beaker glass 100 ml, timbangan analitik, pH meter, spatula, washing bottle, dan gelas ukur.

Sedangkan alat yang digunakan pada pewarnaan gram adalah lampu spiritus atau bunsen yang berfungsi untuk memanaskan biakan, pipet tetes untuk pengambilan zat pewarna, gelas objek berfungsi sebagai wadah larutan, mikroskop untuk mengamati hasil pewarnaan bakteri, kaca preparat berfungsi untuk menginkubasi warna biakan, jarum ose berfungsi untuk mengambil biakan bakteri, pipet tetes berfungsi untuk mengambil zat pewarna (Hadioetomo, 1985).

### 3.2 Metode Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Metode deskriptif yaitu metode yang menggambarkan suatu keadaan atau kejadian. Penelitian deskriptif hanya akan melukiskan keadaan objek atau persoalannya dan tidak dimaksudkan untuk mengambil kesimpulan yang berlaku umum. Dalam hal ini penelitian deskriptif merupakan akumulasi data dasar, dan tidak perlu menerangkan mestest hipotesis, membuat ramalan atau mendapatkan makna dan implikasi (Andrianto. 2010).

Pada penelitian yang telah dilakukan akan menggambarkan beberapa tahapan alga merah *Gracilaria sp* yang diamati dari kondisi segar hingga busuk. Tahapan-tahapan yang akan dilakukan adalah pengambilan sampel, proses pembusukan, pengenceran, plating, inkubasi, pemurnian, inkubasi, agar miring, inkubasi kemudian dilanjutkan dengan tahap identifikasi. Langkah-langkah dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 4.

Dalam penelitian ini akan menggambarkan proses isolasi dan identifikasi mikroorganisme yang menyebabkan pembusukan pada alga merah *Gracilaria sp* segar. Tahapan pertama yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah menyiapkan bahan baku utama yaitu alga merah (*Gracilaria sp*) segar yang

diperoleh dari Budidaya Rumput Laut *Gracilaria sp*, Desa Kramat Kelurahan Tambak Rejo, Kecamatan Keraton, Pasuruan. Setelah itu alga dibusukkan pada suhu ruang, yang disimpan pada wadah tertutup agar tidak terkontaminasi dengan lingkungan luar.

Tahapan berikutnya yang harus dilakukan adalah melakukan ekstraksi kasar pada alga, sampel yang akan digunakan yaitu sampel alga merah yang masih kondisi segar dan alga merah yang sudah dibusukkan selama 1 bulan, setelah itu dilakukan isolasi mikroorganisme yang terdapat pada ekstrak alga merah tersebut. Yang mempunyai tujuan untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang terdapat pada alga merah kondisi segar dan kondisi yang sudah busuk, dengan menggunakan dua media yang berbeda yaitu menggunakan NA dan APDA dimana fungsi dari media NA untuk mengetahui jenis bakteri yang ada pada alga merah sedangkan APDA berfungsi untuk mengetahui jenis kapang dan khamir yang terdapat pada alga merah tersebut. Setelah itu, dilakukan proses pengenceran dimana dilakukan sampai pengenceran  $10^{-7}$ , fungsi dari pengenceran yaitu untuk mendapatkan koloni mikroorganisme yang ideal, setelah itu dari hasil pengenceran dilakukan proses plating, fungsinya untuk meletakkan mikroba hasil pengenceran kedalam cawan petri dengan menggunakan mikro pipet, setelah itu masing-masing cawan diberi media pertumbuhan NA dan APDA.

Media yang sudah diberi biakan kemudian dilakukan proses inkubasi, dimana untuk NA diperlukan waktu untuk pertumbuhan bakteri  $\pm 2$  hari, sedangkan untuk APDA  $\pm 5$  hari. Pertumbuhan bakteri lebih cepat dari pada pertumbuhan kapang dan khamir. Setelah media tumbuh dan dilihat bentuk dan ukuran, koloni dihitung dan diambil yang dominan. Bakteri yang dominan dilakukan proses berikutnya yaitu pemurnian, fungsinya untuk mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, proses pemurnian

dilakukan dengan metode cawan gores. Setelah koloni tunggal sudah didapatkan, dilakukan proses selanjutnya yaitu proses agar miring tujuannya sama dengan pemurnian yaitu mendapatkan isolat murni dari satu jenis bakteri.

Tahapan terakhir yang dilakukan adalah melakukan identifikasi mikroorganisme pada masing-masing media. Identifikasi ini dilakukan menggunakan metode mikrobasisem yang berfungsi untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang terdapat pada alga merah (*Gracilaria sp*) segar, sehingga dapat diketahui mikroorganisme jenis apa yang terdapat pada alga tersebut.

### 3.3 Pengujian Kadar Air

Air merupakan komponen utama bahan makanan yang mempengaruhi rupa, tekstur maupun cita rasa bahan. Kandungan air dalam bahan makanan ikut menentukan “ acceptability ” suatu bahan makanan kesegaran dan daya tahan suatu bahan. Kepekaan suatu komoditi terhadap kehilangan air akibat penguapan tergantung defisit tekanan uap dari atmosfer di sekitarnya ( Kismanto, 2011).

Menurut Muchtadi (1992), kadar air adalah jumlah air bebas yang terkandung didalam bahan yang dapat dipisahkan dengan cara fisis seperti penguapan dan destilasi kadar air ditentukan dengan metode pengeringan dan dinyatakan sebagai persen kehilangan berat bahan. Dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut. Untuk tahapan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 3.

$$\text{Kadar Air (\%bb)} = \frac{W_2 - W_3}{W_3 - W_1} \times 100\%$$

Air dalam bahan pangan berperan sebagai pelarut dari berbagai komponen sebagai komponen disamping ikut sebagai bahan pereaksi. Berbagai bentuk air dapat ditemukan air bebas dan air terikat. Air bebas dapat dengan mudah hilang

apabila terjadi penguapan atau pengeringan. Sedangkan air terikat sulit dibebaskan dengan cara tersebut (Moejiharto, 2000).

### 3.4 Pengujian pH

pH adalah suatu satuan ukur yang menguraikan derajat tingkat kadar keasaman atau kadar alkali dari suatu larutan. Unit pH diukur dari skala 0 sampai 14. Istilah pH berasal dari “p” lambang matematika dari negatif logaritma, dan “H” lambang kimia dari unsur hydrogen. Definisi yang formal tentang pH adalah negatif logaritma dari aktivitas ion hidrogen. Yang dapat dinyatakan dengan persamaan:  $\text{pH} = -\log \{ \text{H}^+ \}$  (Ory, 2009).

Menurut Zhang (2011), pH adalah pengukuran konsentrasi ion hydrogen dalam air. Sebuah pH sensor mengukur seberapa asam atau dasar air, yang secara langsung dapat mempengaruhi kelangsungan hidup organisme air. Kisaran pH adalah dari 0 (sangat asam) sampai 14 (sangat besar) dengan 7 yang netral. Keasaman tinggi (seperti pH kurang dari 4) dapat mematikan bagi ikan dan organisme air lainnya. Berdasarkan definisinya pH merupakan ukuran keasaman atau kebasaannya. Jika kita pandang air yang 100% murni, air itu diionisasi sehingga mengandung kadar  $10^{-7}$  mol ion hydrogen dan kadar  $10^{-7}$  mol ion hidroksil setiap mol air. Karena keduanya mempunyai nilai yang kadar ion hydrogen, yaitu 7 (Diana, 2011).

Nilai pH atau derajat keasaman sangat berkaitan dengan pertumbuhan mikroba. Setiap mikroorganisme memiliki pH minimal, maksimal dan optimal untuk pertumbuhannya. Sebagian besar bakteri tumbuh pada pH mendekati netral, tetapi ada juga bakteri yang dapat tumbuh pada keadaan asam atau basa (Poernamo, 2009).

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Sampel

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan yaitu alga merah (*Gracilaria sp*) kondisi segar, yang diperoleh dari budidaya rumput laut *Gracilaria sp*, Desa Kramat Kelurahan Tambak Rejo, Kecamatan Keraton, Pasuruan. Sampel dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya sampel disimpan dalam *cool box* selama dalam perjalanan.

Untuk isolasi sendiri memerlukan sampel yang berbeda yaitu sampel yang masih dalam kondisi segar dan sampel dalam kondisi yang telah dibusukkan.

Ditambah dengan Ariyani (2002), penyimpanan sebaiknya ditempat yang kering, bersih dan terpisah dari bahan dan zat adiktif, contohnya pestisida.

#### 3.5.2 Proses Pembersihan

Sampel yang sudah dibersihkan dilakukan proses pembersihan, dengan cara alga merah (*Gracilaria sp*) kondisi segar dimasukkan kedalam sebuah wadah yang tertutup dan kedap udara hal ini berfungsi agar sampel tidak mengalami kontaminasi dari luar. Sampel dibiarkan pada suhu yang agak lembab agar sampel cepat mengalami proses pembersihan dengan suhu ruang  $\pm 28^{\circ}\text{C}$  dan dibiarkan selama 1 bulan. Kelembaban adalah tempat yang subur bagi bakteri dan organisme pembersih lain untuk melakukan pekerjaannya atau proses pembersihan.

Pada umumnya bakteri memerlukan kelembaban relatif yang cukup tinggi kira-kira 85% kelembaban relatif dapat didefinisikan sebagai kandungan air yang terdapat di udara. Pengurangan kadar air dalam protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti, misalnya pada proses pembekuan dan pengeringan. sebagai contoh, bakteri *Escherichia coli* akan mengalami

penurunan daya tahan dan elastisitas dinding selnya saat kelembaban lingkungan kurang dari 84%. Bakteri gram positif cenderung hidup pada kelembaban udara yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram negatif terkait dengan perubahan struktur membran selnya yang mengandung lipid (Wikipedia, 2011).

### 3.5.3 Pengenceran

Tujuan dilakukan pengenceran yaitu untuk mendapatkan koloni bakteri yang ideal yaitu (30-300 koloni). Sebelumnya sampel alga merah (*Gracilaria sp*) segar dan busuk ditimbang sebanyak 25 gram dan dimasukkan kedalam erlemeyer yang sebelumnya sudah diisi dengan aquades steril sebanyak 225 ml, setelah itu dihomogenkan selama  $\pm 5$  menit dengan menggunakan fortek. Sebelumnya masing-masing tabung reaksi ditambahkan 9 ml aquades steril, setelah itu ambil sampel di dalam elemeyer sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet yang sudah disterilkan dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sebelumnya sudah di beri kode  $10^{-2}$ , tabung reaksi yang ditambah dengan sampel dihomogenkan. Setelah itu diambil lagi sampel  $10^{-2}$  sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet tetes yang berbeda dan dimasukkan kedalam tabung reaksi  $10^{-3}$  dan dihomogenkan. Hasil pengenceran yang dilakukan sampai  $10^{-7}$ .

Pengenceran yaitu suatu cara atau metoda yang diterapkan pada suatu senyawa dengan jalan menambahkan pelarut yang bersifat netral, lazim dipakai yaitu aquadest dalam jumlah tertentu. Penambahan pelarut dalam suatu senyawa dan berakibat menurunnya kadar kepekatan atau tingkat konsentrasi dari senyawa yang dilarutkan/diencerkan (Brady,1999).

### 3.5.4 Teknik Penanaman (Plating)

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan sehingga diperoleh kultur atau biakan murni. Ada beberapa cara umum yang dapat dilakukan dengan cara goresan (*steak plate*), cara taburan atau tuang (*pour plate*), serta mikromanipulator (*the micromanipulator methods*). Menurut Adam, (2000), secara alami, bakteri di alam ditemukan dalam populasi campuran. Hanya dalam keadaan tertentu saja populasi ini ditemukan dalam keadaan tertentu saja populasi ini ditemukan dalam keadaan murni. Untuk dapat mempelajari sifat biakan dan morfologi, maka organisme yang akan diteliti harus dapat dipisahkan. Ini berarti bahwa harus ada biakan murni yang hanya mengandung satu jenis bakteri saja.

Setelah media pertumbuhan mikroorganisme siap digunakan, proses selanjutnya yang harus dilakukan adalah proses plating, dimana proses plating ini merupakan proses meletakkan mikroba dari sampel ke dalam cawan.

Sampel yang sudah melalui proses plating, selanjutnya dilakukan proses pengambilan sampel pada tabung  $10^{-7}$  diambil sebanyak 1 ml menggunakan pipet yang berbeda dan dimasukkan kedalam cawan petri yang mana sebelumnya sudah diberi dengan media NA dan APDA, dimana fungsi media NA adalah untuk pertumbuhan jenis bakteri sedangkan media APDA fungsinya untuk pertumbuhan mikroorganisme khamir dan kapang, proses ini dilakukan secara duplo fungsinya untuk memudahkan menghitung koloni yang ada didalam media sehingga dalam menghitung lebih teliti dan hasilnya lebih maksimal.

### 3.5.5 Inkubasi

Setelah dilakukan proses plating, media yang sudah diberi dengan sampel akan dilakukan proses selanjutnya yaitu proses inkubasi dimana proses ini media

tersebut dimasukkan kedalam inkubator dan di diamkan selama semalam  $\pm$  24 jam dengan suhu ruang 37°C.

**Menurut Pelezar, et al., (1986), inkubasi** merupakan suatu teknik perlakuan bagi mikroorganismenya yang telah diinokulasikan pada media (padat atau cair), kemudian di simpan pada suhu tertentu untuk dapat melihat pertumbuhannya. Bila suhu inkubasi tidak sesuai dengan yang diperlukan, biasanya mikroorganismenya tidak dapat tumbuh dengan baik. Semua cawan dan tabung di inkubasi pada suhu yang optimum dan waktu yang tepat untuk pertumbuhan mikroorganismenya yang diinokulasi. Biakan bakteri pada 35-37°C selama 24 jam sampai 48 jam, khamir pada 30-35°C selama 3 hari dan kapang pada 20-25°C selama 5-7 hari.

### 3.5.6 Perhitungan dan Isolasi Koloni Mikroba

Metode yang digunakan dalam perhitungan koloni yaitu metode perhitungan secara tidak langsung (*indirect count*), ditambah oleh Fardiaz (1993), Perhitungan jumlah suatu bakteri dapat melalui berbagai macam uji seperti uji kualitatif koliform yang secara lengkap terdiri dari tiga tahap yaitu uji penduga (uji kuantitatif, bisa dengan metode MPN), uji penguat dan uji pelengkap. Waktu, mutu sampel, biaya, tujuan analisis merupakan beberapa faktor penentu dalam uji kualitatif koliform. Bakteri koliform dapat dihitung dengan menggunakan metode cawan petri (metode perhitungan secara tidak langsung yang didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni yang merupakan suatu indeks bagi jumlah organismenya yang dapat hidup yang terdapat pada sampel).

Media NA dan APDA yang sudah diberi biakan selanjutnya dilakukan uji isolasi mikroba, dimana tujuannya untuk menghitung jumlah koloni yang ada pada masing-masing media. Yang berfungsi untuk mengetahui jumlah dan jenis

bakteri yang tumbuh pada media tersebut. Jumlah total koloni yang didapat pada masing-masing cawan pada media NA yaitu untuk  $10^{-6}$  didapatkan total koloni sebanyak 110 dan  $10^{-7}$  yaitu 85 koloni pada sampel segar. Untuk sampel busuk didapatkan jumlah total koloni pada masing-masing cawan yaitu untuk  $10^{-6}$  jumlah koloni yaitu 254 dan  $10^{-7}$  sebanyak 168 koloni. Pada media APDA tidak dilakukan perhitungan pada khamir dan kapang karena pada sampel *Gracilaria* sp segar dan busuk tidak tumbuh pada media tersebut. Setelah dilakukan perhitungan koloni selanjutnya dilakukan proses isolasi koloni dengan diambil bakteri yang berbeda bentuk dan ukuran kemudian dilakukan tahap pemurnian. Pengambilan koloni dilakukan dengan menggunakan jarum ose yang sebelumnya sudah disterilkan terlebih dahulu. Koloni yang diambil berdasarkan warna, bentuk dan ukuran.

Setelah itu dilakukan proses pemurnian untuk menghasilkan koloni tunggal dari bakteri yang sudah di isolasi sebelumnya. Dari hasil pemurnian dilakukan juga tahapan proses agar miring dimana untuk menghasilkan koloni murni dari satu jenis koloni tunggal.

### 3.5.7 Pemurnian

Proses pemurnian ini berfungsi untuk mendapatkan koloni tunggal pada masing-masing koloni yang sudah ditentukan. Metode pemurnian yang dilakukan dengan metode cawan gores (gores kuadran).

Prosedur kerja pemurnian mikroba adalah siapkan sebuah cawan petri yang sudah disterilisasi, selanjutnya cawan diberi media NA dan APDA. Selanjutnya siapkan koloni yang akan dimurnikan, setelah itu ambil koloni dengan menggunakan jarum ose yang mana sebelumnya disterilkan dengan cara membakar jarum ose sampai berubah menjadi warna merah, fungsinya untuk mensterilkan jarum agar tidak terkontaminasi pada saat pengambilan

koloni yang akan dimurnikan. Kemudian jarum yang sudah disterilkan diletakan dibiakan agar koloni menempel dijarum, setelah itu cawan yang sudah diberi media dilakukan proses pemurnian dengan cara metode gores kuadran. Jika proses pemurnian belum mendapatkan koloni tunggal, dilakukan proses pemurnian kembali dengan mengambil koloni yang tumbuh pada media pemurnian sebelumnya. Hal tersebut dapat disebabkan pada cara penggoresan yang kurang baik. Proses pemurnian harus dilakukan dengan sebaik mungkin untuk mendapatkan satu koloni tunggal dengan cara pola penggoresan kuadran dibagi menjadi empat bagian, daerah pertama merupakan goresan awal yang dimana pada goresan pertama ini masih banyak sekali kandungan mikroba di dalamnya, daerah yang kedua berada dibagian atas dari media pada daerah ini mikroba yang tumbuh lebih sedikit dibanding dengan daerah yang pertama. Sedangkan pada daerah yang ketiga terdapat pada bagian tepi dari media jumlah bakteri yang terdapat pada bagian ini lebih sedikit dibanding dengan daerah pertama dan kedua begitu juga pada daerah keempat yang terdapat pada bagian tengah media, pada daerah ini bakteri ditemukan lebih sedikit dibanding dengan daerah lainnya. Untuk gambar goresan kuadran dapat dilihat pada Gambar 6. Dari hasil pemurnian koloni tunggal dilakukan juga proses agar miring, untuk menghasilkan pemurnian dari satu koloni, setelah itu media dimasukkan didalam inkubator selama  $\pm 2$  hari pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .

Agar miring yang dilakukan untuk mempermudah dalam waktu penggoresan. Dilakukan dengan cara memiringkan media yang mempunyai tujuan untuk memperluas permukaan pada media yang akan ditumbuhi oleh koloni. Selain itu, memudahkan peneliti untuk melihat hasil dari penanaman bakteri tersebut. Cara atau langkah dalam pembuatan agar miring dapat dilakukan dengan cara memasukkan media ke dalam tabung reaksi, tunggu media hingga membeku kemudian goreskan sampel yang telah disiapkan

sebelumnya dengan menggunakan jarum ose yang steril agar hasil dapat lebih maksimal.

### 3.5.8 Penggoresan

Pada cawan petri yang sudah diberi dengan media pembiakan yaitu NA dan APDA selanjutnya dilakukan proses penggoresan. Dimana proses tersebut dilakukan secara hati-hati dan teliti agar tidak merusak media, penggoresan digunakan menggunakan jarum ose yang mana sebelumnya sudah disterilkan terlebih dahulu agar tidak terjadinya kontaminasi.

Penggoresan dilakukan dengan metode agar miring untuk menghasilkan isolat murni dari sampel yang telah dimurnikan sebelumnya. Setelah itu hasil penggoresan diberi label dan dimasukkan kedalam inkubasi didiamkan selama 24 jam dengan suhu 37°C.

### 3.5.9 Identifikasi Koloni

#### 3.5.9.1 Uji Makroskopis

Setelah didapatkan koloni murni, selanjutnya koloni tersebut ditanam dalam medium TPC baru dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan secara makroskopis dengan cara diamati dengan mata telanjang atau dengan bantuan kaca pembesar. Menurut Takuechi *et al.* (1992), berdasarkan pengamatan visual pada bakteri yang didapat, maka bakteri ini dapat dibedakan berdasarkan warna, bentuk, dan ukuran koloni yang tumbuh pada media TPC Agar setelah masa inkubasi 24 - 48 jam pada suhu kamar (37°C).

### 3.5.9.2 Uji Mikrokopis

Selanjutnya dilakukan pengujian secara mikroskopis dimana dilakukan tahap pewarnaan/pegecatan bakteri. Tahap ini dilakukan untuk mengetahui sel bakteri, apakah tergolong dalam bakteri gram positif atau gram negatif.

Preparat yang telah kering lalu difiksasi agar bakteri yang ada menjadi mati namun tidak merusak struktur selnya. Selanjutnya pada preparat ditetesi kristal ungu (sebagai pewarna primer) kemudian ditunggu sekitar satu menit untuk optimalisasi kerja kristal ungu. Setelah didiamkan 1 menit, selanjutnya dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa kristal ungu yang tidak melekat pada dinding bakteri. Selanjutnya diberi iodium untuk memperkuat warnanya dan didiamkan pula selama satu menit lalu dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa iodium. Setelah itu diberi alkohol 70% untuk melarutkan lemak dan dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa alkohol yang tidak terpakai. Tahap selanjutnya adalah pemberian safranin sebagai pewarna sekunder dan dibiarkan selama  $\frac{1}{2}$  menit lalu dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa safranin. Langkah terakhir yaitu preparat dikeringkan. Preparat yang telah diwarnai kemudian diamati pada mikroskop, dan diamati bentuk dan warna dari koloni tersebut.

### 3.5.9.3 Uji Fisiologi

Pada pengujian mikrobact system ini juga secara fisiologi melakukan penyelidikan mereka pada berbagai tingkat organisme biologis, termasuk biologi molekul komponen sel tunggal atau kelompok sel. Studi konsep dan prinsip-prinsip yang membentuk dasar untuk memahami mekanisme fisiologi hewan. Keterkaitan proses fisiologis dan bagaimana mereka berhubungan dengan kebutuhan biologis mamalia dan mikroorganisme.

Uji fisiologis ini merupakan langkah awal yang baik dalam memahami ciri fisiknya. Banyak bakteri pengontaminan yang memiliki bentuk koloni

bermacam-macam dan bukannya tidak mungkin koloni yang tidak diundang ini morfologinya mirip atau bahkan sama. Lalu jika tidak diketahui secara pasti, dikhawatirkan malah bakteri pengontaminan ini yang berkembang terus-menerus.

### 3.5.10 Uji Microbact System

Dalam uji fisiologis sebelumnya dilakukan pengujian dengan uji oksidase, katalase dan microbact system. Sebelumnya dilakukan uji biokimia dengan cara proses pewarnaan gram, untuk mengetahui bakteri gram negatif atau gram positif, setelah diketahui hasilnya dilakukan juga pengujian katalase dilakukan dengan cara mengambil koloni murni dari media isolasi dengan menggunakan jarum ose. Selanjutnya koloni dibuat suspensi bakteri dan diletakkan pada preparat. Kemudian ditetesi dengan  $H_2O_2$  sebanyak 1-2 tetes. Untuk pengujian oksidase, koloni murni diambil dengan menggunakan kayu. Selanjutnya koloni dioleskan pada preparat dan ditutup dengan kertas oksidase.

Pengujian dalam tahap ini sangat tergantung dari hasil uji oksidase yang telah dilakukan sebelumnya. apabila oksidase positif maka diujikan menggunakan *microbact* 24E. Namun apabila oksidase negatif maka diujikan menggunakan *microbact* 12E. Tahapan pada uji fisiologis ini adalah diambil 3 koloni murni yang dominan yang telah distok dari pertumbuhan media NA dan APDA sebelumnya lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Dari hasil sentrifuse akan diperoleh supernatan dan pelet namun yang digunakan hanya peletnya saja. Selanjutnya pelet ditambahkan dengan Na-fis sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan pada sumuran-sumuran di *microbact* 24E sebanyak 0,1 ml atau sebesar 100  $\mu$ L dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 30°C. Tahap terakhir diamati perubahan warna yang terjadi pada sumuran-sumuran di *microbact* 24E. Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *microbact* apakah

positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patient Record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok. Dari angka total ini selanjutnya dapat diketahui spesies bakteri yang dimaksud dengan memasukkannya kedalam software komputer.



## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Pengujian Kadar Air *Gracilaria sp*

Menurut Musfiroh, *et al.*, (2010), pengukuran kadar air total dilakukan dengan metode *thermogravimetri* (metode oven). Sampel sebanyak 29 gram ditimbang pada cawan yang sudah diketahui bobotnya lalu dikeringkan pada oven 105°C selama 3 jam. Setelah itu didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Perhitungan kadar air diperoleh dengan membandingkan bobot sampel sebelum dikeringkan dan bobot yang hilang setelah dikeringkan dikali 100%.

Dari hasil pengamatan di dapatkan nilai kadar air pada sampel *Gracilaria sp* dapat dilihat pada Tabel 2 berikut :

Tabel 2. Hasil Data Kadar Air *Gracilaria sp*

No.	Jenis Sampel	Hasil % bb
1.	Segar	83.60±0.13
2.	Busuk	84.17±0.60

Ket : bb : Berat Basah

Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan menyatakan bahwa nilai kadar air paling tinggi yaitu pada sampel busuk sekitar 84.17±0.60. Hal ini menyebabkan bahwa semakin busuk sampel yang disimpan semakin banyak pula kadar air yang terkandung dalam sampel *Gracilaria sp*, selain itu mikroorganisme yang tumbuh semakin berkembang dan cepat mengalami proses pembusukan. Untuk perhitungan nilai kadar air dapat dilihat pada Lampiran 1. Ditambah oleh Ilham (2010), semakin banyak kadar dalam suatu bahan, maka semakin cepat pembusukannya oleh mikroorganisme. Dengan demikian bahan yang dikeringkan dapat mempunyai waktu simpan yang lebih lama dan kandungan nutrisinya masih ada. Menurut Adrianto, *et al.*, (2011),

kadar air menyebabkan mudahnya bakteri, kapang dan khamir untuk berkembang biak sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan.

#### 4.2 Pengujian pH

Setiap jenis mikroba memiliki pH minimal, maksimal, dan optimal untuk pertumbuhannya. Nilai pH suatu bahan atau larutan dapat dinyatakan dari skala 0-14. Semakin tinggi pH, semakin bersifat basa. Pada umumnya, semakin makanan bersifat basa atau asam, semakin stabil makanan tersebut.

Untuk mengukur pH dilakukan selama 3 hari sekali dalam kondisi segar sampai kondisi alga merah (*Gracilaria sp*) membusuk, hal ini bertujuan untuk mengetahui berapa tingkat derajat keasaman pada *Gracilaria sp* dari proses segar sampai proses busuk. Untuk mengukurnya menggunakan pH meter. Adapun nilai pH yang dilakukan dari kondisi segar hingga pada kondisi busuk dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Nilai pH Dari Proses Segar Sampai Membusuk

No.	Hari Ke	Nilai pH
1.	0	6,20
2.	3	6,36
3.	6	6,48
4.	9	6,59
5.	12	7,09
6.	15	7,12
7.	18	7,21
8.	21	7,35
9.	23	7,46

Dari hasil pengujian pH pada sampel *Gracilaria sp* dari kondisi segar sampai kondisi sampel membusuk didapatkan nilai pH sebesar 6,20 – 7,46. Kondisi pH naik dapat disebabkan oleh kerjanya mikroorganisme didalam rumput laut sehingga dapat terjadi proses pembusukan dan pada pH tersebut bakteri dapat tumbuh dengan baik . Menurut Nurwantoro (1997), hampir semua mikroba tumbuh pada tingkat pH yang berbeda. Sebagian bakteri tumbuh pada pH

mendekati nilai netral yaitu pH 6.5-7.5. Pada pH dibawah 5 dan diatas 8 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik, kecuali bakteri asam asetat yang mampu tumbuh pada pH rendah dan bakteri *Vibrio sp* yang dapat tumbuh pada pH tinggi (basa).

#### 4.3 Isolasi Mikroorganisme

Identifikasi bakteri dilakukan terhadap isolat-isolat yang diperoleh dengan berpedoman pada Bergey's Determinative Bacteriology dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimia pengamatan juga dilakukan juga pada warna koloni, ukuran koloni, bentuk koloni yang dilihat dari dalam, samping dan atas, kemampuan memproduksi katalase dan oksidase untuk menentukan genus bakteri. Menurut Akhdiya (2003), mikroorganisme adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik.

Menurut Wulandari *et al.* (2005), dalam penghitungan jumlah total dari masing-masing bakteri, metode yang digunakan adalah metode pengenceran cawan tuang. Untuk perhitungan koloni dapat dilihat pada Lampiran 2. Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan didapatkan nilai koloni pada sampel segar dan busuk dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Koloni Dari Media NA

No.	Jenis Sampel	Hasil
1.	Segar	$9.8 \times 10^8$ cfu/g
2.	Busuk	$2.1 \times 10^9$ cfu/g

Hasil perhitungan di dapatkan pada media NA karena pada media tersebut pertumbuhan mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik, sedangkan untuk

media APDA tidak dilakukan perhitungan koloni dikarenakan pada media tersebut mikroorganisme tidak tumbuh dengan baik.

Dapat dilihat hasil koloni diatas pada sampel segar didapatkan nilai sebesar  $9.8 \times 10^8$  cfu/g. Banyaknya bakteri yang tumbuh mempengaruhi dari faktor lingkungan sekitar misalnya pada tambak, air, dll. Sedangkan untuk sampel busuk didapatkan hasil sebesar  $2.1 \times 10^9$  cfu/g. Hasil perhitungan koloni sampel busuk lebih besar dari sampel segar, dikarenakan bahwa sampel busuk lebih banyak pertumbuhan bakteri, ini disebabkan oleh banyaknya kerja mikroorganisme yang tumbuh pada sampel dan memudahkan sampel tersebut cepat mengalami proses pembusukan. Untuk sampel busuk yang digunakan dengan mengalami proses pembusukan selama 1 bulan. Ditambah oleh Wulandari, *et al.* (2005), banyaknya total count bakteri yang terdapat pada sampel dikarenakan bahan yang terkandung dalam sampel tersebut hampir semua digunakan untuk media tumbuh dan berkembang bagi bakteri, sehingga jumlah total bakteri semakin meningkat seiring dengan lamanya waktu penyimpanan.

Menurut Capucino dan Sherman (1987), pertumbuhan bakteri dianggap baik apabila jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300 koloni. Jika tidak ada yang memenuhi syarat maka akan dipilih jumlah yang mendekati 30 atau 300 koloni per cawan petri.

Setelah dihitung maka langkah selanjutnya yaitu mengamati koloni secara kasat mata untuk mencari bakteri yang lebih dominan. Pengamatan makroskopis adalah pengamatan yang dilakukan dengan bantuan alat yaitu mikroskop, sehingga dapat melihat jelas bagaimana bentuk bakteri yang terdapat pada sampel tersebut. Tidak semua koloni yang terdapat pada cawan diamati, koloni yang diamati, koloni yang dominan dari setiap sampel yaitu segar dan busuk.

Dari hasil pengamatan makrokopis yang telah dilakukan pada sampel *Gracilaria sp* segar dan busuk didapatkan hasil isolat yang tumbuh pada media NA. Karakteristik dan jumlah masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik Koloni Pada Sampel Segar dan Busuk *Gracilaria sp*

No	Sampel	Jenis Isolat	Karakteristik Koloni	Jumlah Koloni		Jumlah rata-rata koloni (gram)	Persentase Jumlah Koloni (%)
				10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>		
1.	Segar	Isolat S-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Berbentuk bulat agak sedikit lonjong</li> <li>- Warna koloni putih transparan</li> <li>- Dan ukuran koloni sangat kecil</li> <li>- Tumbuh koloninya ditengah permukaan</li> </ul>	54	38	217	45,21
		Isolat S-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Koloni berbentuk bulat</li> <li>- Warna koloni putih transparan (bening)</li> <li>- Dan ukuran koloni sangat kecil</li> <li>- Tumbuh koloninya dibawah permukaan</li> </ul>	36	29	163	33,96
		Isolat S-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Koloni berbentuk bulat</li> <li>- Warna koloni agak kekuningan</li> <li>- Dan ukuran koloni sedang</li> <li>- Tumbuh koloninya dibawah permukaan</li> </ul>	20	18	100	20,83
2.	Busuk	Isolat B-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bentuk koloni bulat agak sedikit keriput</li> <li>- Warna koloni putih transparan (Bening)</li> <li>- Ukuran koloni sedang dan tumbuh</li> </ul>	20	11	65	6,72
		Isolat B-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Berbentuk bulat agak sedikit lonjong</li> <li>- Dengan warna koloni putih transparan (bening)</li> <li>- Ukuran koloni sangat kecil</li> <li>- Tumbuh ditengah permukaan</li> </ul>	91	79	440	45,50
		Isolat B-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Berbentuk bulat</li> <li>- Dengan warna koloni putih transparan (bening)</li> <li>- Ukuran koloni sangat kecil</li> <li>- Dan tumbuh dibawah permukaan</li> </ul>	78	48	279	28,85
		Isolat B-4	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Berbentuk bulat</li> <li>- Berkoloni (bergumpal)</li> <li>- Tumbuh pada tepian media</li> <li>- Ukuran koloni sangat kecil</li> <li>- Warna koloni putih transparan</li> </ul>	38	19	114	11,80
		Isolat B-5	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Koloni berbentuk bulat</li> <li>- Berwarna kuning pekat</li> <li>- Dengan ukuran koloni sangat besar</li> </ul>	27	11	69	7,13

Setelah diketahui karakteristik pada masing-masing koloni pada media NA, didapatkan koloni yang dominan tumbuh pada media tersebut dengan sampel yang berbeda yaitu segar dan busuk. Dari hasil perhitungan koloni yang lebih dominan tumbuh pada media NA untuk sampel segar yaitu pada isolat S-1 dan isolat S-2, sedangkan pada sampel busuk diambil dominan yang tumbuh yaitu isolat B-2 dan isolat B-3. Untuk isolat B-2 pada sampel busuk karakteristik sama dengan Isolat S-1 pada sampel segar, dan isolat B-3 karakteristiknya sama dengan isolat S-2 pada sampel segar. Jadi pada saat pengambilan koloni untuk dilakukan proses pemurnian yaitu untuk sampel segar diambil pada isolat S-1, sedangkan untuk sampel busuk diambil pada isolat B-3. Pada penelitian ini perhitungan hanya dilakukan pada media NA saja, sedangkan untuk media APDA tidak dilakukan karena mikroorganisme tidak tumbuh pada media tersebut dikarenakan bahwa sampel yang digunakan bersifat basa dan bakteri lebih dominan tumbuh dari pada kapang dan khamir.

Dari hasil isolat bakteri yang diambil yaitu S-1 untuk sampel segar dan B-3 untuk sampel yang busuk, hasil isolat yang diambil berdasarkan banyaknya bakteri yang tumbuh pada media untuk pertumbuhan bakteri, dan bakteri tersebut yang lebih dominan tumbuh pada sampel *Gracilari sp* dengan masing-masing karakteristik dapat dilihat pada Tabel 7.

Setelah koloni terhitung dan dilihat dominan bakteri yang tumbuh maka dapat dilakukan proses selanjutnya yaitu pemurnian. Dimana proses ini mengambil bakteri tunggal yang hidup pada media NA pada tiap sampel segar dan busuk. Untuk media APDA tidak dilakukan pemurnian karena pertumbuhan kapang dan khamir tidak tumbuh dengan baik, dan juga dapat disimpulkan bahwa khapang dan khamir tidak tumbuh dalam sampel segar dan sampel busuk *Gracilaria sp*. Sampel tersebut lebih dominan tumbuh bakteri dari pada kapang dan khamir.

Bakteri diambil menggunakan tusukan gigi yang sudah disterilkan, setelah itu cawan petri yang sudah diberi media NA dilakukan proses penggoresan kuadran yang mana fungsinya ditambahkan menurut Nuniek (2011), untuk mengisolasi mikroorganisme dari campuran atau meremajakan kultur kedalam media baru. Dalam pemurnian ini menggunakan goresan kuadran tujuannya untuk mengambil koloni tunggal, menurut Pelczar, Chan (2005), media agar merupakan substrat yang sangat baik untuk memisahkan campuran mikroorganisme sehingga masing-masing jenisnya menjadi terpisah. Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkannya setiap selnya berhimpun membentuk koloni, sekelompok massa sel yang dapat dilihat dengan mata bugil.

Dari hasil pemurnian yang dilakukan didapatkan hasil satu isolat murni dengan ciri-ciri yaitu berbentuk bulat, warna transparan agak sedikit kekuningan dengan ukuran koloni sangat kecil.

Setelah dilakukan pemurnian dan mendapatkan koloni tunggal yang diinginkan dilakukan proses agar miring. Proses agar miring ini juga untuk menghasilkan koloni tunggal dari suatu mikroorganisme. Ditambah oleh Lay, (1994), 10 ml media agar yang telah dimasak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditutup dan di bungkus lalu disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  pada tekanan 15 psi. Kemudian tabung yang berisi agar diletakkan pada kemiringan  $30-45^{\circ}\text{C}$ . Diperhatikan bahwa agar tidak menyentuh tutup tabung. Agar dibiarkan menjadi dingin dan keras.

Dari hasil agar miring dan mendapatkan koloni tunggal yang diinginkan selanjutnya dilakukan proses identifikasi dimana untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang terkandung dalam *Gracilaria sp* segar dan busuk yang dapat menyebabkan kerusakan pada sampel tersebut.

#### 4.4 Identifikasi Mikroorganisme

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan mengamati hasil reaksi biokimia yang terjadi pada bakteri, salah satu metode terbaru untuk identifikasi pada tingkat reaksi biokimia adalah metode Biolog. Metoda Biolog dirancang untuk mengidentifikasi bakteri, jamur dan yeast berdasarkan reaksi biokimia yang terjadi karena perbedaan sumber karbon yang terdapat didalam 95 lubang mikroplate. Mikroplate Biolog pertama kali diperkenalkan pada tahun 1989. Sumber karbon ini berasal dari polimer, gula, gula fosfat, asam amino, alkohol, asam karboksilat (Tang, 1998).

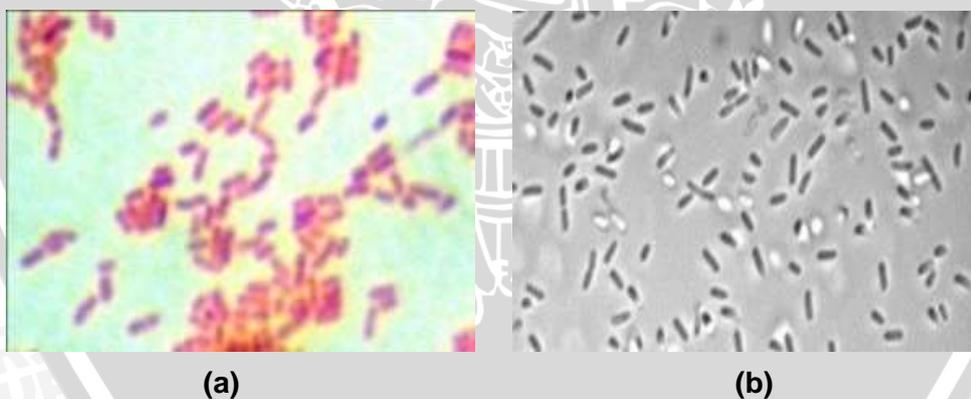
Proses identifikasi dilakukan dengan cara memurnikan kembali koloni dengan menggunakan media TSA (*Tryptic Soy Agar*) fungsi dari media tersebut untuk menumbuhkan mikroorganisme, pemurnian ini dilakukan kembali agar koloni tersebut benar-benar dalam satu bakteri. Setelah itu dilakukan proses pewarnaan gram untuk mengetahui bakteri yang terkandung gram negatif atau gram positif, selanjutnya dilakukan tes oksidase untuk menentukan bakteri enterik atau non enterik, di tambah dengan penelitian sebelumnya oleh Gardenia, *et al.* (2010), test ini dilakukan menggunakan oksidase test strip (*Merck*) dengan cara menggoreskan satu ose bakteri pada kertas oksidase tersebut. Setelah didiamkan selama kurang lebih 60 detik, diamati perubahan warna yang terjadi. Perubahan warna test strip menjadi biru menandakan reaksi positif dan bakteri tersebut termasuk bakteri non-enterik. Sedangkan bila tidak terjadi perubahan warna maka reaksi dinyatakan negatif yang menandakan bakteri tersebut termasuk bakteri enterik. Di tambah oleh Marlina (2008), keadaan oksigen pada enzim oksidase akan merekduksi substan-substan organik diantaranya substan yang terdapat pada *oxidase test strip*. Reaksi tersebut akan menghasilkan molekul *indophenol blue* yang mengakibatkan warna *test strip*

akan berwarna biru. Ini merupakan reaksi positif untuk bakteri non enterik, sedangkan pada bakteri enterik tidak terjadi perubahan warna.

Identifikasi mikroorganisme penyebab kerusakan pada alga merah *Gracilaria sp.* Metode konvensional meliputi pemeriksaan morfologi, pewarnaan gram dan uji biokimia meliputi uji O/F, uji oksidase, uji katalase, uji motilitas, produksi indol, uji TSIAm dan uji gula (Austin and Austin, 1999). Dan dari hasil isolasi yang dilakukan dan diidentifikasi telah diketahui bakteri yang terdapat pada sampel segar yaitu *Pseudomonas pseudomallei* dan untuk sampel busuk didapatkan bakteri *Enterobacter gergoviae*.

#### 4.4.1 *Pseudomonas pseudomallei*

Dari hasil identifikasi didapatkan bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dari hasil isolat pada sampel segar yaitu dengan isolat S-1. Dengan karakteristik morfologi koloni yaitu berbentuk bulat, dengan tepian tidak rata, evalasi datar, warna koloni krem, dan masuk golongan gram negatif. Adapun gambar *Pseudomonas pseudomallei* dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14 :

a. Sel *Pseudomonas pseudomallei* (perbesaran 1000x)

b. Sel *Pseudomonas pseudomallei* (perbesaran 1000x) (Kenneth, 2008)

Pada gambar *Pseudomonas pseudomallei* ini dapat dilihat pada pembesaran 1000x. *Pseudomonas* biasanya hidup di tanah dan air, merupakan organisme patogen pada tanaman. Tetapi *P. Aeruginosa* bersama spesies

terdahulu dari *Pseudomonas* yaitu *Pseudomonas cepacia* (kini dinamakan *Burkholderia cepacia*) dan *Pseudomonas maltophilia* (dinamakan kembali menjadi *Xanthomonas maltophilia* dan sekarang disebut *Stenorophomonas maltophilia*) adalah patogen pada manusia. *Pseudomonas pseudomallei* (kini dinamakan *Burkholderia pseudomallei*) adalah penyebab melioidosis.

*Pseudomonas pseudomallei* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran 0.6 x 2 µm. Dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak.

*Pseudomonas pseudomallei* tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C. Pertumbuhan pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dalam kelompok fluoresen. Bakteri ini oksidase positif, nonfermenter, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa (Mayasari, 2005).

Data hasil uji identifikasi dan biokimiawi pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 6 dan 7.

Tabel 6. Data Hasil Uji Identifikasi Bakteri

Parameter	Kode Isolat
	S-1
Warna koloni	Pucat
Diameter koloni (mm)	1,5-3,0
Reaksi gram	Negatif
Bentuk sel	Batang
Motilitas	Motil
Oksidase	Positif
Katalase	Negatif
Produksi indol	Negatif
Penggunaan karbon dari citrate	Positif
Uji TSIA	Alk/As
VP	Negatif

Ket :

+	:	ada
-	:	tidak ada
TD	:	tidak dilakukan identifikasi
Alk/As	:	laktose atau sukrosa fermentasi
As/As	:	glukosa dan laktosa atau sukrosa terfermentasi
Alk/Alk	:	gula yang tidak terfermentasi

Tabel 7. Data Hasil Uji Biokimia *Pseudomonas pseudomallei*

No.	Uji Biokimia	Kode Isolat
		S-1
1	Spora	-
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	+
5	Lysin	+
6	Ornithin	+
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	+
9	Manitol	+
10	Xylosa	+
11	ONPG	-
12	Indole	+
13	Urease	-
14	V-P	-
15	Sitrat	+
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	+
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	+
21	Sukrosa	+
22	Lactosa	-
23	Arabinosa	-
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	+
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	-
29	Koagulase	-

Ket : (+) : hasil uji positif (-) : hasil uji negatif (td) : tidak diuji

Menurut Palleroni dan Norberto (1952), *Pseudomonas pseudomallei* hidup pada suhu optimum yaitu 37°C, struktur dari koloni tersebut sedikit kasar dan berlendir. Dari warna koloni yaitu krim sampai jingga terang. Koloni tersebut hidup di tanah dan air yang berdaerah tropis khususnya di Asia Tenggara. Untuk karakteristik dari *Pseudomonas pseudomallei* dapat dilihat pada Tabel 8. Dan untuk guna referensi karakteristik pada bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 8. Karakteristik *Pseudomonas pseudomallei*

Karakteristik	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Diameter Koloni, $\mu\text{m}$	0.8
Panjang koloni, $\mu\text{m}$	1.5
Jumlah Flagella	>1
Produksi Pigmen	-
Warna Pigmen (Kuning atau Orange)	+
Pertumbuhan $\text{H}_2$	-
Reaksi Oksidase	+
Akumulasi Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate	+
Pencairan Gelatin	+
Pati hydrolysis	+
Lipase	+
Ekstraseluler poly- $\beta$ -hydroxybutyrate hy-drolysis	+
Denitrifikasi	+
Arginine dihydrolase	+
Catechol, ortho belahan dada	+
Protocatechuate, ortho belahan dada	+
Pertumbuhan pada 4°C	-
Pertumbuhan pada 41°C	+
Mol % G + C dari DNA (Bd)	69.5

Sumber : Palleroni dan Norberto (1952)

Ket : (+) : hasil uji positif (-) : hasil uji negatif

Tabel 9. Referensi Karakteristik pada Bakteri *Pseudomonas pseudomallei*

Karakteristik	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
Mol % G + C dari DNA	69.5
Jumlah Flagella	>1
Akumulasi PHB	+
$\text{H}_2$ autotrophy	-
Pertumbuhan pada 40°C	+
Produksi pyoverdin	-
Produksi pyocyanin	-
Seluler pugmen kuning	D
Arginine dihydrolase	+
Pati hydrolysis	+
PHB hydrolysis	+
Pada pertumbuhan :	
D-silosa	-
Maltosa	+
Saccharate	-
Manitol	+
Ethylene glycol	-
2,3-Butylene glycol	-
Geraniol	-
Azelate	+
Levulinate	+
Glikolat	-
L-serine	+
L-arginine	+
L-histidine	+
Betaine	+
Sarcosine	d

Sumber : Palleroni dan Norberto (1952)

Ket : (+) : hasil uji positif (-) : hasil uji negatif (d) : antara (+) dan (-)

Dari Tabel 7 dan 9 dapat dilihat bahwa ada beberapa jenis uji biokimia yang hasilnya belum sesuai dengan buku panduan *Bergey's Manual Systematic Bacteriology* tentang karakteristik bakteri *Pseudomonas pseudomallei* seperti xylosa, gelatin, dan arginin. Hal ini dikarekan bakteri merupakan makhluk hidup yang pertumbuhannya di pengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga hasil yang didapatkan tidak sama persis dengan *Bergey's Manual Systematic Bacteriology*, selain faktor lingkungan hal ini juga dapat mempengaruhi bagaimana cara mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri tersebut.

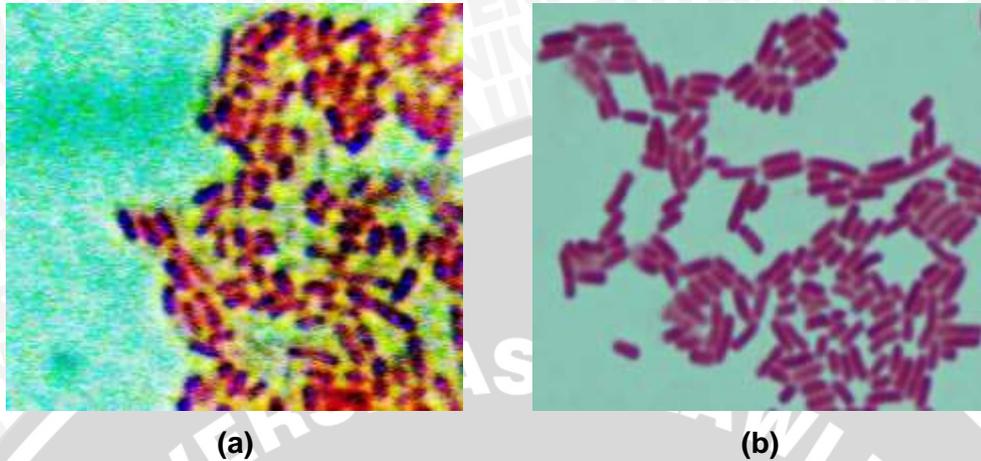
Pengujian ini dilakukan menggunakan microbact system yang parameter ujiannya tidak semuanya sama dengan *Bergey's Manual Systematic Bacteriology* karena bakteri yang diuji merupakan jenis bakteri gram negatif. Dari hasil pengujian KIT microbact system menunjukan spesies *Pseudomonas pseudomallei* dengan tingkat persentase 99.99%. Untuk hasil pengujian mikrobact system dapat dilihat pada Lampiran 6.

Menurut laporan peneliti Masithah (2008), dari hasil penelitian diperoleh satu isolat bakteri pektinolitik potensial. Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dan fisiologi serta identifikasi molekuler, bakteri tersebut yaitu *Pseudomonas pseudomallei* (*Burkholderia pseudomallei*). Bakteri tersebut mampu hidup bersama *Microcystis aeruginosa* serta memiliki sifat bentuk batang pendek, dinding sel gram negatif dan motil. Selain itu *Pseudomonas pseudomallei* menghasilkan enzim katalase dapat melakukan fermentasi terhadap gula (glukosa dan sukrosa).

#### **4.4.2 *Enterobacter gergoviae***

Dari hasil identifikasi didapatkan bakteri *Enterobacter gergoviae* dari hasil isolat pada sampel busuk yaitu dengan isolat B-2. Dengan karakteristik morfologi koloni yaitu berbentuk bulat, dengan tepian rata, elevasi cembung, berwarna

pucat, dan masuk golongan gram negative. Adapun gambar *Enterobacter gergoviae* dapat dilihat pada Gambar 15.



**Gambar 15 :**

**a. Sel *Enterobacter gergoviae* (perbesaran 1000x)**

**b. Sel *Enterobacter gergoviae* (perbesaran 1000x) (Anonymous, 2012<sup>f</sup>)**

Dari hasil pengujian yang telah dilakukan bakteri *Enterobacter gergoviae* dapat dilihat pada pembesaran 1000x. *Enterobacter gergoviae* adalah bakteri gram negatif, tidak membentuk spora. Pada beberapa kasus terjadi secara sporadis bakteri ini terbukti menyebabkan sepsis. *Enterobacter gergoviae* berpigmen kuning (Estuningsih, 2011).

*Enterobacter gergoviae* tidak memfermentasi D-sorbitol. Untuk penghasil  $\beta$ -xilosidase dan gelatinase hasil dari bakteri ini adalah negatif dan positif. Bakteri ini merupakan bakteri penghasil ODC dan LDC, tetapi tidak menghasilkan ADH. *Enterobacter gergoviae* adalah urease positif, sedangkan spesies *Enterobacter* lainnya adalah urease-negatif. *Enterobacter gergoviae* kadang muncul menjadi patogen oportunistik dan telah diisolasi dari urin, nanah, dahak, darah dan spesimen klinis lainnya. Spesies ini telah terlibat dalam sebuah wabah nosokomial infeksi saluran kemih (Krieg, 1989).

Data hasil uji identifikasi dan biokimiawi pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 10 dan 11.

Tabel 10. Data Hasil Uji Identifikasi Bakteri

Parameter	Kode Isolat
	B-3
Warna koloni	Kuning
Diameter koloni (mm)	1,2-2,5
Reaksi gram	Negatif
Bentuk sel	Batang
Motilitas	Motil
Oksidase	Negatif
Katalase	Negatif
Produksi indol	Negatif
Penggunaan karbon dari citrate	Positif
Uji TSIA	As/As
VP	Positif

Ket :

+	:	ada
-	:	tidak ada
TD	:	tidak dilakukan identifikasi
Alk/As	:	laktose atau suktosa fermentasi
As/As	:	glukosa dan laktosa atau sukrosa terfermentasi
Alk/Alk	:	gula yang tidak terfermentasi

Tabel 11. Data Hasil Uji Biokimia *Enterobacter gergoviae*

No.	Uji Biokimia	Kode Isolat
		B-3
1	Spora	-
2	Oksidase	-
3	Motilitas	+
4	Nitrat	-
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H <sub>2</sub> S	-
8	Glukosa	+
9	Manitol	+
10	Xylosa	+
11	ONPG	+
12	Indole	-
13	Urease	+
14	V-P	+
15	Sitrat	+
16	TDA	-
17	Gelatin	-
18	Malonat	-
19	Inositol	-
20	Rhamnosa	-
21	Sukrosa	-
22	Lactosa	-
23	Arabinosa	-
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	-
29	Koagulase	-

Ket : (+) : hasil uji positif (-) : hasil uji negatif (td) : tidak diuji

Menurut Richard (1963), *Enterobacter gergoviae* tidak memfermentasikan *D-sorbitol*, untuk *b-xylosidase* dan gelatinase adalah negatif, dan untuk ODC dan LDC positif, tetapi untuk ADH yaitu negatif. *E. gergoviae* adalah urease positif, sedangkan untuk spesies *Enterobacter* memiliki urease negatif. Untuk referensi *Enterobacter* dapat dilihat pada Tabel 12 dan referensi karakteristik bakteri *Enterobacter gergoviae* dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 12. Referensi Bakteri *Enterobacter*

Karakteristik	<i>Enterobacter</i>
Motilitas	+
Ornithine decarboxylase	+
Arginine dihydrolase	D
Deoxyribonuclease	-
Gelatinase	D
Pemanfaatan sitrat	[+]
Surceptible to Hafnia phage	-
D-Sorbitol (asam)	[+]

Sumber : Guinee and Valkenburg (1968)

Ket :

- (+) : hasil uji positif
- (-) : hasil uji negatif
- (D) : spesies yang berbeda
- [+] : 89% memiliki gram positif

Tabel 13. Referensi Karakteristik Bakteri *Enterobacter gergoviae*

Karakteristik	<i>Enterobacter gergoviae</i>
KCN	-
Urease	+
Gelatin	-
Decarboxylases :	
Lisin	+/(+)
Ornithine	+
Arginin	-
$\beta$ - Xylosidase	-
Asam terdiri dari:	
Sorbitol	-
Sucrosa	+
Raffinose	+
$\alpha$ -Methylglucoside	-
Mucate	-
Garam Sitrat	+
Indole	-
Pigmen Kuning yang Terbentuk	-

Sumber : Brisou (1972)

Ket : (+) : hasil uji positif      (-) : hasil uji negatif      +/(+) : beberapa alur positif

Dari Tabel 11 dan 13 dapat dilihat bahwa ada beberapa jenis uji biokimia yang hasilnya belum sesuai dengan buku panduan *Bergey's Manual Systematic Bacteriology* tentang karakteristik bakteri *Enterobacter gergoviae* seperti lysin, ornithin, sukrosa, raffinosa. Hal ini dikarekan bakteri merupakan makhluk hidup yang pertumbuhannya di pengaruhi oleh faktor lingkungan sehingga hasil yang didapatkan tidak sama persis dengan *Bergey's Manual Systematic Bacteriology*, selain faktor lingkungan hal ini juga dapat mempengaruhi bagaimana cara mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri tersebut.

Pengujian ini dilakukan menggunakan microbact system yang parameter ujiinya tidak semuanya sama dengan *Bergey's Manual Systematic Bacteriology* karena bakteri yang diuji merupakan jenis bakteri gram negatif. Dari hasil pengujian KIT microbact system menunjukan spesies *Enterobacter gergoviae* dengan tingkat persentase 93.93%. Untuk hasil pengujian mikrobact system dapat dilihat pada Lampiran 6.

*Enterobacter gergoviae* adalah bakteri gram negatif, fakultatif-anaerob, berbentuk batang dan merupakan bakteri dari keluarga *Enterobacteriaceae*. Beberapa koloni dari bakteri ini patogen dan menyebabkan infeksi oportunistik dalam. Kandung kemih dan saluran pernafasan adalah bagian yang sering terinfeksi (Wikipedia, 2010<sup>o</sup>). Akan tetapi, bakteri *Enterobacter gergoviae* juga mempunyai manfaat lain yaitu sebagai zat pelarut dalam meremediasi tanah tercemar. Nursanti dan Madjid (2009) mengatakan bahwa, bakteri pelarut (*Pseudomonas puptida* dan *Enterobacter gergoviae*) mampu meningkatkan kelarutan pada tanah ultisol.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

- Rusaknya *Gracilaria sp* disebabkan oleh bakteri
- Dari hasil isolat yang telah dilakukan didapatkan isolat S-1 pada sampel segar dan isolat B-3 untuk sampel busuk.
- Dan dari hasil isolasi yang dilakukan dan diidentifikasi telah diketahui bakteri yang terdapat pada sampel segar yaitu *Pseudomonas pseudomallei* dan untuk sampel busuk didapatkan bakteri *Enterobacter gergoviae*

### 5.2 Saran

Dilakukan penelitian lebih lanjut secara eksperimen pada alga merah *Gracilaria sp.*



## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M. 2000. **Mikrobiologi Dasar**. Erlangga. Jakarta
- Adrianto. 2010. **Metodologi Penelitian Pendidikan**. Bumi Aksara. Jakarta.
- Adrianto, Y. Fitriyani, N. Theadora, S. 2011. **Penetapan Kadar Air Metode Oven Biasa (Pemanasan Langsung)**. Jurnal. Fakultas Ekologi Manusia. Institut Pertanian. Bogor.
- Akhdiya, A. 2003. **Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termostabil**. Jurnal. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. Hal. 39.
- Angga, W. S. 2010. **Laporan Tetap Pratikum Dasar-dasar Mikrobiologi Akuatik Isolasi Bakteri**. Fakultas Pertanian Universitas Srimijaya. Indralaya
- Anggadiredja, J. 1995. **Gracilaria spp.** Resources in Indonesia Sminar Paper : IV, Management of Natural Resource of Agrophyta Nasional Seawerd Research Agency for Assesment and Aplication of Teknologi. Jakarta.
- \_\_\_\_\_, Zatnika, A. Purwoto, H. dan Istini, S. 2006. **Rumput Laut Pembudidayaan, Pengolahan dam Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial**. Jakarta. 146 Hal.
- Angkasa, I.W., Purwoto, H., Ruli, P. 2011. **Teknik Budidaya Rumput Laut**. [www.morfologi.html](http://www.morfologi.html). Diakses pada tanggal 14 Juli 2011.
- Anonymous. 2007<sup>a</sup>. **Apakah Serat Makanan?**. <http://www.vegeta.co.id/id/kontak/faq.html>. Diakses tanggal 20 Maret 2007. 4 Hal.
- \_\_\_\_\_. 2007<sup>b</sup>. **Melihat Manfaat Serat**. **Harian Kompas**. 5 September 2007. 3 Hal.
- \_\_\_\_\_. 2008<sup>c</sup>. **Mengenai Ragi Saccharomyces cereviside**. [www.yalun.wordpress.com/2008/11/23/mengenai-ragi-saccharomyces-coreviside](http://www.yalun.wordpress.com/2008/11/23/mengenai-ragi-saccharomyces-coreviside). Diakses tanggal 11 September 20011.
- \_\_\_\_\_. 2008<sup>d</sup>. **Mikrobiologi Dasar**. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi. Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto.
- \_\_\_\_\_. 2011<sup>e</sup>. [www.overcomingcendida.com](http://www.overcomingcendida.com). Diakses pada tanggal 11 September 2011.
- \_\_\_\_\_. 2012<sup>f</sup>. [www.bacteriainphotos.com](http://www.bacteriainphotos.com). Diakses pada tanggal 1 Agustus 2012.
- AOAC. 1990. **Offical Methods Of Analysis Of The Official Analytic Chemist**. Washinton DC.

- Atmaja, W. S., Sulistijo., Kadi, A., Sahari, R. 1996. **Pengenalan Jenis Rumput Laut di Indonesia**. P30 LLPI. Jakarta.
- Aslan, L.M. 1998. **Budidaya Rumput Laut**. Kanisius. Yogyakarta. 26, 97 Hal.
- Astawan, M. 2010. **Bakteri Patogen Pada Makanan**. Departemen Teknologi Pangan dan Gizi. IPB. Bogor. Diakses pada tanggal 5 Agustus 2011.
- Austin, B. and Austin, D.A. 1999. **Bacterial Fish Pathogens : Disease of Farmed And Wild Fish**. Praxis Publishing. Chichester.
- Baroroh dan Umi, L.U. 2004. **Diktat Kimia Dasar I**. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Brady, J.E. 1999. **Kimia Universitas Asas dan Struktur**. Binarupa Aksara, Jakarta.
- Brisou. 1972. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1**. Williams & Wilkins Baltimore. U.S.A. Hal : 467
- Buckle, K., dan Adwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Djambatan. Malang.
- \_\_\_\_\_. 2007. **Mikrobiologi Terapan**. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Capucino, J.G., and Sherman, N. 1987. **Microbial A Laboratory Manual**. The Benjamin / Cumming's Publishing Co. California.
- Diana dan Dwi, U. 2011. **Pengembangan Sensor pH Menggunakan Prussian Blue-Polipirol**. Fakultas MIPA. Universitas Jember
- Dwidjoseputro. 1989. **Dasa-dasar Mikrobiologi**. Jakarta : Djambatan.
- Estuningsih, S. 2011. **Enterobacter sakazakii**. Auditorium Sumardi Sastra Kusuma. Fakultas Perikanan dan Hewan. IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut**. IPB. Bogor. Hal 28, 51.
- \_\_\_\_\_. 1993. **Analisis Mikrobiologi Pangan**. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Fibriko, S.D., Suriawan, A., Zaneveld, H. 2008. **Peningkatan Produksi Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Di Tambak Dengan Penambahan Pupuk**. Jurnal Seminar Indonesia Akuakultur. 14 Hal.
- Gardenia, L., Koesharyani, I., Supriyadi, H. 2010. **Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin Dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)**. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Pusat Riset Perikanan Budidaya. Jakarta Selatan. Hal. 879.
- Guinee and Valkenburg. 1968. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1**. Williams & Wilkins Baltimore. U.S.A. Hal : 467
- Gunawan, A. dan Roeswati. 2004. **Tangkas Kimia**. Kartika. Surabaya.

Hadioetomo, R.S. 1985. **Mikrobiologi Dasar Dalam Pratek**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Hudaya, S. 1999. **Pengolahan dan Pengawetan Pangan**. <http://www.bahanpangan.com>. Diakses pada tanggal 16 Juli 2011.

Husaini, Z. 2011. **Sejarah dan Manfaat Rumput Laut**. [www.manfaat-rumput-laut-sejarah.com](http://www.manfaat-rumput-laut-sejarah.com). Diakses pada tanggal 12 Oktober 2011. Jam 14.51.

Ilham, H. 2010. **Laporan Penetapan Kadar Air Dengan Metode Oven Biasa**. [www.wardpres.com](http://www.wardpres.com).

Inayatullah, M.A. 2010. **Sistem Penunjang Identifikasi Spesies Bakteri Batang Gram Negatif Berdasarkan Uji Biokimia Berbasis Multimedia**. Jurnal. Amikom. Yogyakarta. Hal : 7.

Iud, W. 2008. **Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi**. UMM Pres. Malang.

Kadi, A. dan Atmaja, W.S. 1988. **Rumput Laut (Algae): Jenis, Reproduksi, Produksi Budidaya dan Pasca Panen**. Puslitbang Oseaologi. LIPI.71p.

Kenneth, T. 2008. *Pseudomonas aeruginosa*. [www.textbookofbacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net). Diakses Pada Tanggal 23 Februari 2011.

Khopkar, S.M. 1990. **Konsep Dasar Kimia Analitik**. Universitas Indonesia, Jakarta.

Krieg, N.R. 1989. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1**. Williams & Wilkins Baltimore. London.

Krettiawan, H. 2011. **Isolasi Bakteri**. Jurnal. Diakses pada tanggal 4 Juli 2011. Hal 1-6.

Kismanto, Y. 2011. **Perubahan Kadar Senyawa Bioaktif Rimpang Temulawak Dalam Penyimpanan (Curcuma Xanthorrhiza Roxb)**. Teknologi Pertanian Institute Pertanian (INTAN). Yogyakarta.

Kusnadi. 2003. **Mirobiologi**. Biologi FPMIPA LPI. IMSTEP

Lay, B. 1994. **Analisa Mikroba di Laboratorium**. Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Lehninger, A. L. 1982. **Dasar-dasar Biokimia**. Erlangga. Jakarta.

Madigan, M.T. 2009. Brock Biology of Microorganisms Twelfth Edition.

Maier, R.M., and Pepper, I.L. 2009. **Environmental Microbiology**. 2nd Edition. [ISBN 978-0-12-370519-8](http://wwwISBN978-0-12-370519-8).

Magfoer, D. 2011. **Biokimia Selulosa**. <http://www.sifatlelulosa.htm>. Diakses pada tanggal 04 Juli 2011. 2 Hal.

Marlina. 2008. **Identifikasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* Dengan Metode Biologi dan Deteksi Gen ToxR nya Secara PCR**. Jurnal Sains dan

- Teknologi Farmasi, Vol. 13, No. 1. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas.
- Masithah, D.E. 2008. **Pengembangan Bakteri Pektinolitik Sebagai Probiotik Antagonisme Penekan Pertumbuhan Microcystis Aeruginosa.** Fakultas Kedokteran Hewan.
- Mayasari, E. 2005. **Pseudomonas derugonosa Karakteristik Infeka dan Penanganan.** Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatra Utara. Medan. Hal : 4 dan 5.
- Michael, P. 1997. **Metode Ekologi Untuk Penyelidikan Ladang dan Laboratorium.** UI Press. Jakarta.
- Muchtadi, T.R. dan Sugiono. 1992. **Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan.** Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Murray, R.K. 1995. **Biokimia Harper.** EGC. Jakarta.
- Moat, A. G., dan Foster, J. W. 1979. **Microbial Physiology.** John Wiley and Sons.
- Moejiharto, Chamidah dan Tri. 2000. **Pengaruh Lama Perendaman dan Lama Penyimpanan Ikan Bandeng Asap dengan Larutan Asap Cair terhadap Nilai Aw, Tekstur, Organoleptik dan Mikrobiologi.** Dalam Jurnal Makanan Tradisional Indonesia Vol. 2 No. 2. Malang.
- Napianto, E. 2010. **Selulosa.** <http://www.templatepicturewindow.com>. Didukung oleh Blogger. Diakses pada tanggal 04 Juli 2011. 1 Hal
- Naylaturohmah. 2010. **Laporan Akhir Pratikum Mikroba Perikanan (Pemurnian Mikroba).** Jurnal. Fakultas Perikan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Sumedang. Hal : 6.
- Nikiyan, H., Vasilchencko, A., Deryabin, D. 2010. **Humidity-Dependent Bacterial Cells Functional Morphometry Investigations Using Atomic Force Microscope.** *Int J Microbiol.* Vol 2010. doi:10.1155/2010/704170.
- Nindyaning, R. 2007. **Potensi Rumput Laut.** <http://ptp2007.wordpress.com/2007/09/28potensi-rumput-laut/>. Diakses pada tanggal 1 Desember 2008 pukul 19.46 WIB. 1 Hal.
- Nursanti dan Madjid, A. 2009. **Dasar-dasar Ilmu Tanah.** [http://dasar2ilmutanah.blogspot.com/2009\\_05\\_24\\_archive.html](http://dasar2ilmutanah.blogspot.com/2009_05_24_archive.html). Diakses pada Tanggal 22 Oktober 2010.
- Nurwantoro, V.P., Bintoro, A.M., Legowo, L.D., Ambara, A. 1997. **Mikcobiological and Physical Properties of Beef Marinated With Garlie Juice.** Faculty of Animal Agriculture. Diponogoro University. Semarang.

- Ory, B. 2009. **pH**. <http://www.orybun.blogspot.com/> Diakses pada tanggal 10 Mei 2011 pukul 20.00 WIB
- Palleroni and Norberto. 1952. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1**. Williams & Wilkins Baltimore. U.S.A. Hal : 174, 175, 183
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Pirzada, H.A. 2009. **Kajian Aktifitas Ekstrak Kasar Enzim Protease Bakteri *Mirococcus sp* Yang Di Isolasi Dari Larva Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*)**. Tesis. Program Budidaya Perairan. Universitas Negeri Malang. Malang. Hal 94.
- Poernama. 2009. **Aktifitas Air dan Peranannya Dalam Pengawetan Pangan**. UI Pres. Jakarta.
- Poncomulyo, T., Maryani, H., dan Kristiana, L. 2008. **Budi Daya dan Pengolahan Rumput Laut**. Agromedia. Jakarta. Hal 41-47.
- Putra, M.R., Amallya, F., Derri, N., Nur, Y. 2010. **Identifikasi Mikroba Dengan Metode Sistem Metabolisme**. Jurnal. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Rachman, A. 1989. **Pengantar Teknologi Fermentasi**. Universitas Pangan dan Gizi Instuti Pertanian Bogor. Bogor. Hal 82-83.
- Rahmat, D. 2010. **Kelenturan Fenotif Bakteri *Streptococcus lads* Pada Berbagai Kondisi Lingkungan**. Fakultas Peternakan. UNPAD. Semarang.
- Rezqi, P., Ayu E., Dwi, R. 2010. **Mikrobiologi Pewarnaan Gram**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Ramdan, A. 2011. **Alga**. <http://www.arh'ssitealga.com>. Diakses pada tanggal 4 Juli 2011. 1 Hal.
- Richard, C. 1963. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1**. Williams & Wilkins Baltimore. London. Hal : 465
- Risjani, Y. 2004. **Potensi Sumberdaya Rumput Laut di Jawa Timur dari Jenis Ekonomis Penting**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 3, 40, 42.
- Rusdimin. 2003. **Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek**. PT. Gramedia. Jakarta.
- Sediaoetama, A.D. 2000. **Ilmu Gizi**. Jilid I. Dian Rakyat. Jakarta. Hal 17, 179.
- Siri, R.H. 1985. **Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek**. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Penerbit PT Gramedia. Jakarta. Hal 100.
- Sinulingga, M. dan Sri, D. 2011. **Kemampuan Mengikat Air Oleh Tanah Pasir Yang Diberlakukan Dengan Tepung Rumput Laut *Gracilaria***

**verrucora**. Jurnal. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA. UNDIP. Semarang. Hal 34.

Soemartini. 2008. **Principal Component Analysis (PCA) Sebagai Salah Satu Metode Untuk Mengatasi Masalah Multikolinearitas**. Jurnal. Jurusan Statistik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Padjadjaran. Jatinangor. Hal 7-8.

Suptijah, P. 2002. **Rumput Laut : Prospek dan Tantangannya**. Makalah Pengantar Falsafah Sains Program Pasca Sanjana/S3. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 5 Hal.

Suriawiria, U. 2005. **Mikrobiologi Dasar**. Papar Sinar Sinanti. Jakarta.

Suriawiria. 2003. **Bahan Baku Industri Bernilai Tinggi**. <http://www.kompas.com>. Hal 1-3.

Sutedjo. 1991. **Mikrobiologi Tanah**. Rhineka Cipta. Jakarta.

Tang, Y.W., Elis, N.M., Yildis. 1998. **Comparison of Phenolypic and Gendypic Techniques for Identification of Unursual Pathogenic Aerobic Gram Negatif Bacill**. Joernal. Joernal of Clinical Mikrobiology. Hal 30, 3674-3679.

Waluyo, L. 2005. **Mikrobologi Umum**. MM Press. Malang.

Widanarni. 2007. **Administration of Vibrio SKI-6 Probiotic Bacteria on Tiger Shrimp Larvae Though Artomia Enrichmet**. Vol 2. Jurnal Kultur Indonesia.

Wikieepedia. 2011<sup>a</sup>. **Enterobacter**. <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Enterobacter>. Diakses Pada Tanggal 23 Februari 2011.

\_\_\_\_\_. 2011<sup>b</sup>. Inkubasi. [www.wikieepedia.id](http://www.wikieepedia.id). Diakses pada tanggal 11 September 2011.

\_\_\_\_\_. 2011<sup>c</sup>. **Enterobacter gergoviae**. [http://id.wikipedia.org/wiki/Enterobacter\\_gergoviae](http://id.wikipedia.org/wiki/Enterobacter_gergoviae). Diakses pada tanggal 23 Oktober 2011 pukul 07.58 WIB.

Winarno, F.G. 1990. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut**. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. Hal 179.

\_\_\_\_\_. 2004. **Kimia Pangan dan Gizi**. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Wulandari, S., Sayuti, I. dan Asnaini. 2005. **Analisis Mikrobiologi Produk Ikan Kaleng (Sardines) Kemasan Dalam Limit Waktu Tertentu (Expire)**. Jurnal. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP. Universitas Riau. Pekanbaru.

Yuddhi. 2009. **Khasiat dan Manfaat Rumput Laut**. [www.khasiat-dan-manfaat-rumput-laut.html](http://www.khasiat-dan-manfaat-rumput-laut.html). Diakses pada tanggal 12 Oktober 2011.

Yudhabuntara, D. 2008. **Pengendalian Mikroorganisme Dalam Bahan Pangan**. Diakses pada tanggal 16 Juli 2011.

Zhang, F. 2011. **Underwater Sensor Networks for Water Quality Monitoring Project Final Report**.



# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Data Pengujian Kadar Air

### A. Data Kadar Air Rumput Laut Segar

No.	Berat Awal (gr)	Berat Sampel (gr)	Berat Akhir (gr)	% Wb	% db
1.	31.7400	2.00	32.0668	83.66	511.99
2.	17.4512	2.06	17.7920	83.45	504.46
3.	17.7779	2.05	18.1121	83.60	513.40
Rata-rata				<b>83.57</b>	<b>509.95</b>

$$\% Wb = \frac{(A+B)-C}{B} \times 100\%$$

$$\% db = \frac{(A+B)-C}{C-A} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat Awal

B = Berat Sampel

C = Berat Akhir

#### Percobaan 1

$$\% Wb = \frac{(31.7400 + 2.00) - 32.0668}{2.00} \times 100\%$$

$$= \frac{1.6732}{2.00} \times 100\%$$

$$= 83.66 \%$$

$$\% db = \frac{(31.7400 + 2.00) - 32.0668}{32.0668 - 31.7400} \times 100\%$$

$$= \frac{1.6732}{0.3268} \times 100\%$$

$$= 511.99 \%$$

#### Percobaan 2

$$\% Wb = \frac{(17.4512 + 2.06) - 17.7920}{2.06} \times 100\%$$

$$= \frac{1.7192}{2.06} \times 100\%$$

$$= 83.45 \%$$

$$\begin{aligned} \% db &= \frac{(17.4512 + 2.06) - 17.7920}{17.7920 - 17.4512} \times 100\% \\ &= \frac{1.7192}{0.3408} \times 100\% \\ &= 504.46\% \end{aligned}$$

### Percobaan 3

$$\begin{aligned} \% Wb &= \frac{(17.7779 + 2.05) - 18.1121}{2.05} \times 100\% \\ &= \frac{1.7158}{2.06} \times 100\% \\ &= 83.69\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% db &= \frac{(17.7779 + 2.05) - 18.1121}{18.1121 - 17.7779} \times 100\% \\ &= \frac{1.7192}{0.3342} \times 100\% \\ &= 513.405\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai Rata-rata \%Wb} &= \frac{\text{Percobaan 1} + \text{Percobaan 2} + \text{Percobaan 3}}{3} \\ &= \frac{83.66 + 83.45 + 83.69}{3} \\ &= 83.60\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai Rata-rata \%db} &= \frac{\text{Percobaan 1} + \text{Percobaan 2} + \text{Percobaan 3}}{3} \\ &= \frac{511.99 + 504.46 + 513.405}{3} \\ &= 509.95\% \end{aligned}$$

## B. Data Kadar Air Rumput Laut Busuk

No.	Berat Awal (gr)	Berat Sampel (gr)	Berat Akhir (gr)	% Wb	% db
1.	32.7650	2.00	33.0678	84.86	560.50
2.	18.4513	2.06	18.7824	83.92	522.16
3.	18.7789	2.05	19.1122	84.17	515.06
Rata-rata				<b>84.17</b>	<b>532.573</b>

$$\% Wb = \frac{(A+B)-C}{B} \times 100\%$$

$$\% db = \frac{(A+B)-C}{C-A} \times 100\%$$

Keterangan : A = Berat Awal

B = Berat Sampel

C = Berat Akhir

### Percobaan 1

$$\% Wb = \frac{(32.7650 + 2.00) - 33.0678}{2.00} \times 100\%$$

$$= \frac{1.6972}{2.00} \times 100\%$$

$$= \mathbf{84.86\%}$$

$$\% db = \frac{(32.7650 + 2.00) - 33.0678}{33.0678 - 32.7650} \times 100\%$$

$$= \frac{1.6732}{0.3028} \times 100\%$$

$$= \mathbf{560.50\%}$$

### Percobaan 2

$$\% Wb = \frac{(18.4513 + 2.06) - 18.7824}{2.06} \times 100\%$$

$$= \frac{1.7289}{2.06} \times 100\%$$

$$= \mathbf{83.92\%}$$

$$\begin{aligned} \% db &= \frac{(18.4513 + 2.06) - 18.7824}{18.7824 - 18.4513} \times 100\% \\ &= \frac{1.7289}{0.3311} \times 100\% \\ &= 522.16\% \end{aligned}$$

### Percobaan 3

$$\begin{aligned} \% Wb &= \frac{(18.7789 + 2.05) - 19.1122}{2.05} \times 100\% \\ &= \frac{1.7167}{2.06} \times 100\% \\ &= 83.74\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% db &= \frac{(18.7789 + 2.05) - 19.1122}{19.1122 - 18.7789} \times 100\% \\ &= \frac{1.7169}{0.3333} \times 100\% \\ &= 515.06\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai Rata-rata \%Wb} &= \frac{\text{Percobaan 1} + \text{Percobaan 2} + \text{Percobaan 3}}{3} \\ &= \frac{84.86 + 83.92 + 83.74}{3} \\ &= 84.17\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai Rata-rata \%db} &= \frac{\text{Percobaan 1} + \text{Percobaan 2} + \text{Percobaan 3}}{3} \\ &= \frac{560.50 + 522.16 + 515.06}{3} \\ &= 532.57\% \end{aligned}$$

## Lampiran 2. Data Perhitungan Jumlah Koloni

### 1. Sampel Segar

Jenis Sampel	Pengenceran	
	$10^{-6}$	$10^{-7}$
Segar	110	85

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Koloni} &= \frac{110 + 85}{2} \\ &= 98\end{aligned}$$

Jumlah Pengenceran =  $110 : 85 \rightarrow$  hasil dari rata-rata  $< 2$ , berarti pengenceran yang digunakan yaitu nilai koloni yang paling kecil yaitu  $10^{-7}$

$$\begin{aligned}\text{Nilai Jumlah Bakteri} &= \text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Jumlah Pengenceran}} \\ &= 98 \times \frac{1}{10^{-7}} \\ &= 9.8 \times 10^8 \text{ cfu/gr}\end{aligned}$$

### 2. Sampel Busuk

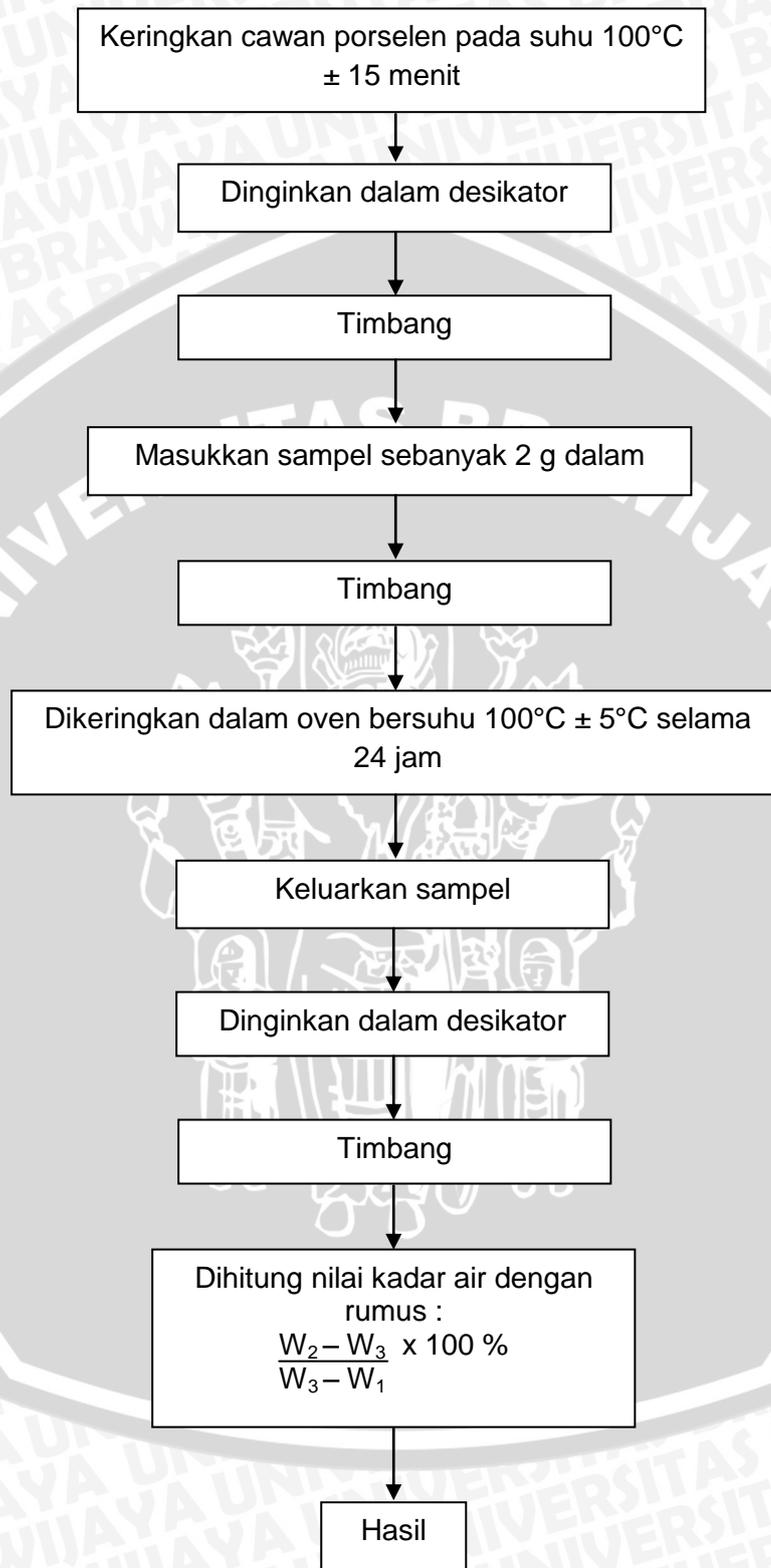
Jenis Sampel	Pengenceran	
	$10^{-6}$	$10^{-7}$
Busuk	254	168

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Koloni} &= \frac{254 + 168}{2} \\ &= 211\end{aligned}$$

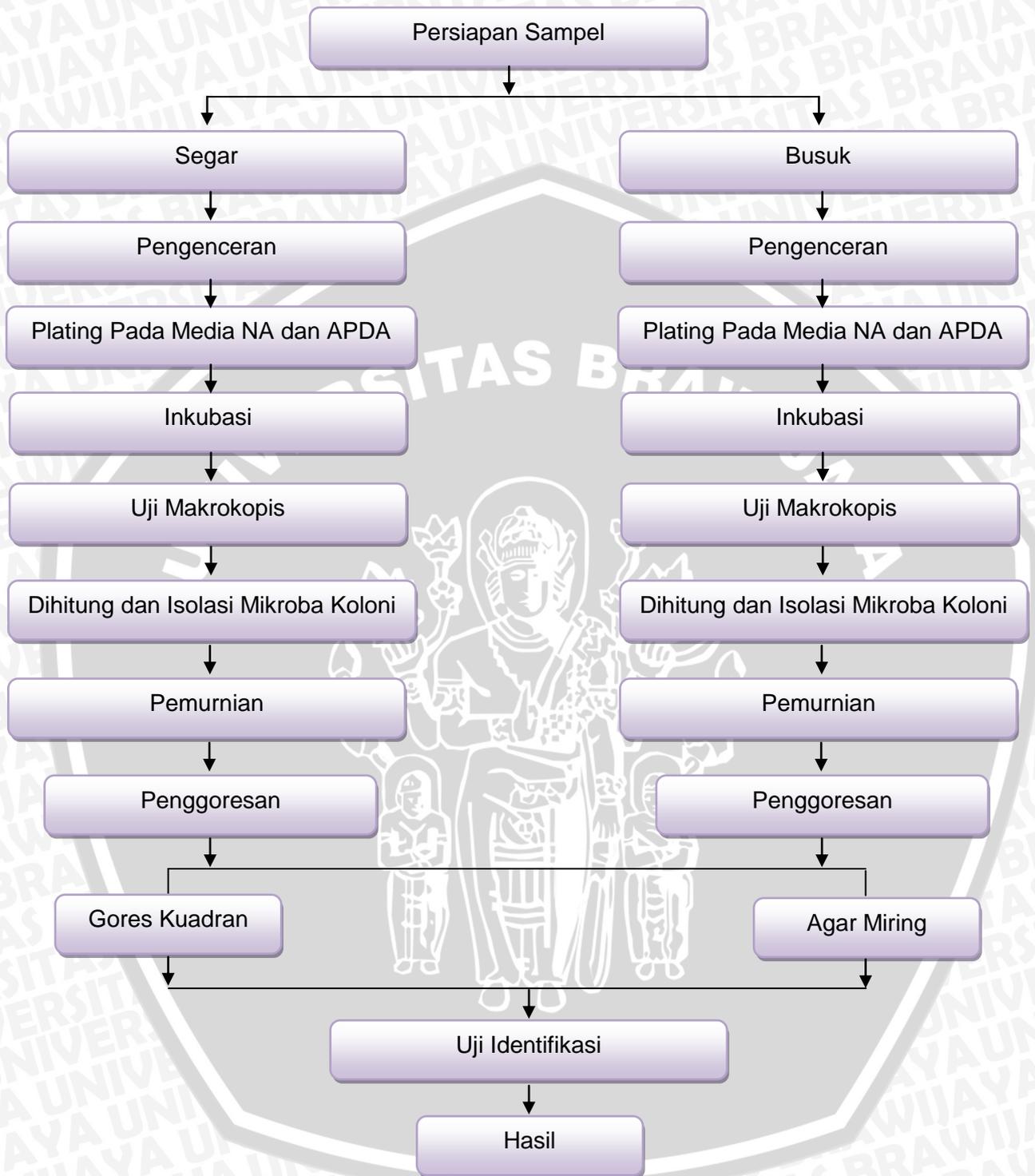
Jumlah Pengenceran =  $254 : 168 \rightarrow$  hasil dari rata-rata  $< 2$ , berarti pengenceran yang digunakan yaitu nilai koloni yang paling kecil yaitu  $10^{-7}$

$$\begin{aligned}\text{Nilai Jumlah Bakteri} &= \text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Jumlah Pengenceran}} \\ &= 211 \times \frac{1}{10^{-7}} \\ &= 211 \times 10^7 \\ &= 2.1 \times 10^9 \text{ cfu/gr}\end{aligned}$$

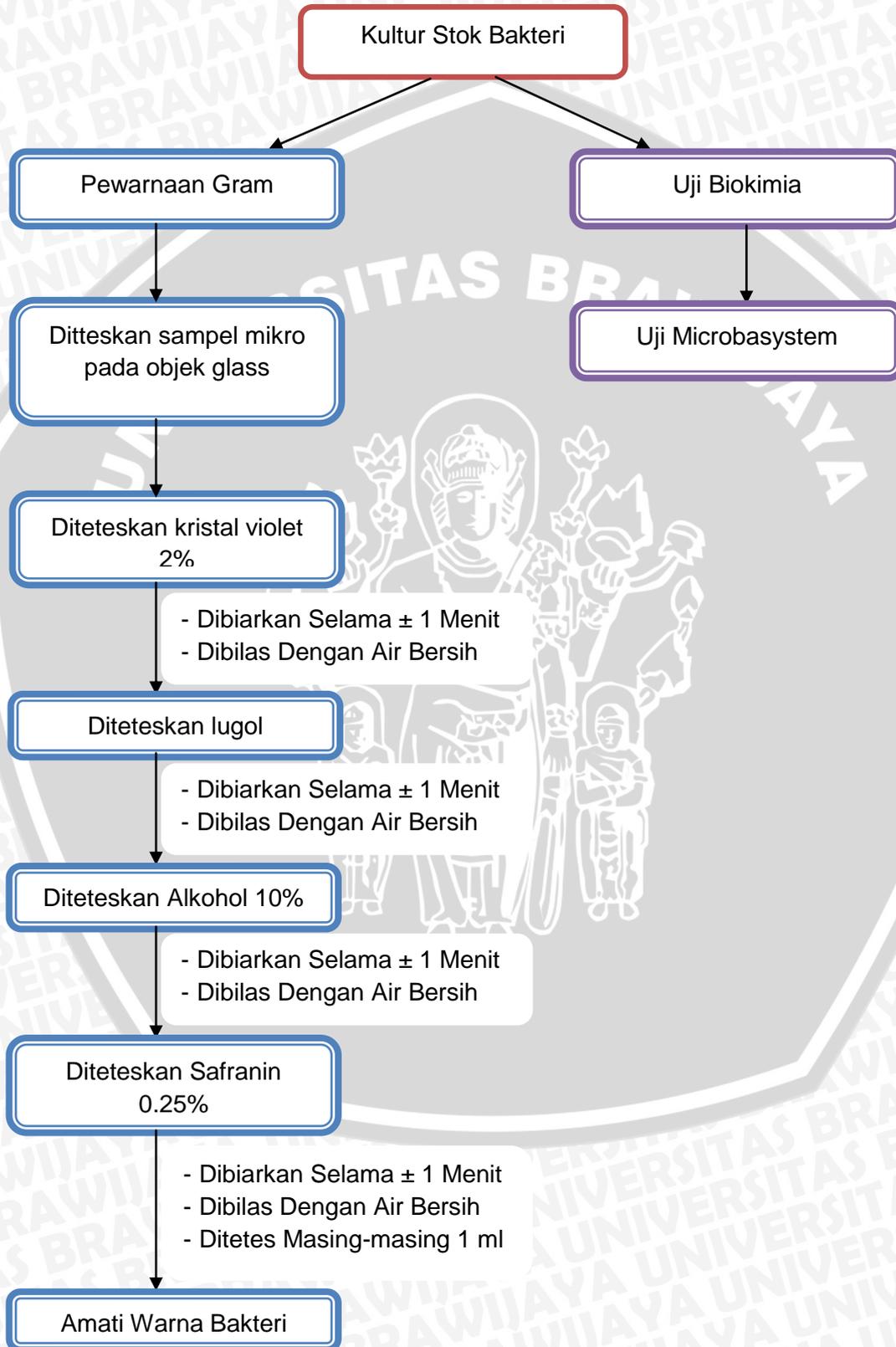
Lampiran 3. Tahapan Kadar Air (AOAC, 1990)



#### Lampiran 4. Tahapan Penelitian



Lampiran 5. Diagram Alir Identifikasi Bakteri



Lampiran 6. Hasil Pengujian Mikrobact System *Pseudomonas pseudomallei* dan *Enterobacter gergoviae*.

a. *Pseudomonas pseudomallei*

OXOID  
MICROBACT™  
IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E 03/IB/E-D

			GNB 24E																							
			GNB 12A / 12E											GNB 12B												
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum / Suma / Summe / Summa / Suma / Sumas																										
Identification / Identificación / Identifikation / Identificação / Identifizierung / Identifikasyon			<i>Ps. pseudomallei</i> 99.99%																							

b. *Enterobacter gergoviae*

OXOID  
MICROBACT™  
IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E 02/IB/E-2

			GNB 24E																							
			GNB 12A / 12E											GNB 12B												
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
			+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-												
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum / Suma / Summe / Summa / Suma / Sumas			6			7			5		6															
Identification / Identificación / Identifikation / Identificação / Identifizierung / Identifikasyon			<i>E. gergoviae</i> 93.93%																							

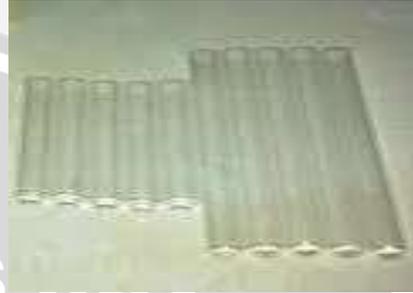


## Lampiran 7. Alat dan Bahan Penelitian

- ✚ Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada gambar berikut.



Pipet Tetes



Tabung Reaksi



Erlemeyer



Cawan Petri



Timbangan Analitik 0.0001 gram



Ruangan LAF



Mikro Pipet



Inkubator



Autoclave



pH Mete



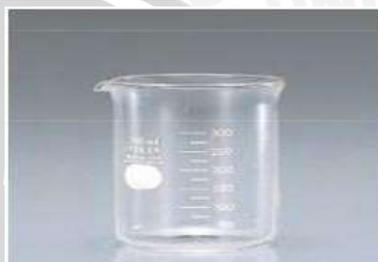
Mikroskop



Tip



Vortex



Gelas Ukur



Desikator



Oven

✚ Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar berikut.



Sampel *Gracilaria* Segar



Sampel *Gracilaria* Busuk



Media NA



Media APDA

TAS



Larutan Kristal Violet



Larutan Lugol



Alkohol



Larutan Safranin



Aquadest

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

