

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu potensi biota laut perairan Indonesia adalah alga makro atau dikenal dalam perdagangan sebagai rumput laut (*seaweed*) (Waryono, 2008). Saat ini Indonesia masih merupakan eksportir penting di Asia. Ekspor rumput laut tahun 2000 yaitu sebesar 23.073.441 kg, tahun 2001 adalah 27.874.058 kg, tahun 2002 adalah 28.559.855 kg dan 2003 adalah 40.162.137 kg dengan rata-rata ekspor rumput laut dalam negeri sekitar 28.950.755 kg/th (Anggadiredja *et al.*, 2006). Pada 2010, ekspor rumput laut mencapai 114.000 ton. Sementara pada 2011, target ekspor 180.000 ton bakal terealisasi. Artinya, akan ada angka kenaikan 57,89 %. Sementara pada 2010, produksi rumput laut Indonesia mencapai angka 3,082 juta ton. Angka ini melampaui target awal 2,574 juta ton. Hingga akhir 2011, target produksi rumput laut Indonesia di posisi 3,504 juta ton (Primus, 2011). Tetapi produksi dan eksport yang nilainya sekian masih didominasi oleh alga merah, sementara untuk agarofit dan alginofit ini nilainya masih sangat kecil.

Namun, seiring dengan perkembangan teknologi rumput laut telah ditingkatkan pemanfaatannya sehingga memberikan nilai yang lebih tinggi misalnya sebagai bahan baku pembuatan alginat. Rumput laut coklat yang potensial untuk digunakan sebagai sumber penghasil alginat diantaranya adalah jenis *Macrocystis*, *Turbinaria*, *Padina* dan *Sargassum* sp (Winarno, 1996).

Alga coklat termasuk salah satu sumberdaya hayati laut yang banyak ditemukan tumbuh di perairan pantai Indonesia. Salah satu jenis alga coklat tersebut adalah *Sargassum duplicatum* (Rasyid, 2003). Menurut Mulyo (2010) *Sargassum duplicatum* mengandung protein 2,97%, lemak 0,26%, zat anti tumor,

algin, mineral (Ca, K, Na, Cu, Zn, Mg, I, S dan P, Fenol). Alga ini juga mengandung zat anti bakteri dan anti virus. Ditambahkan oleh Khan and Saten (2003) Kandungan kimia yang berasal dari alga coklat seperti asam alginat, mannitol, laminarin, fucoidin, dan iodine yang telah diekstraksi merupakan bahan yang dapat dikomersilkan. Disamping itu rumput laut coklat juga mengandung protein, lemak, serat kasar, vitamin dan zat anti bakteri serta mineral (Yunizal, 2004). Dinding sel dari alga coklat terdiri dari komposisi polisakarida: asam alginat, alginat (polisakarida karboksilase, garam dari asam alginat) dan fucans (polisakarida sulfat) yang meliputi hingga 40% bagian dari berat thallus kering (Koivikko *et al.*, 2004).

Dilihat dari banyaknya produksi dan besarnya potensi rumput laut khususnya alga coklat yang ada di Indonesia, maka penanganan pasca panen dirasa perlu untuk menjaga kualitas rumput laut agar tetap dalam keadaan baik. Menurut Bachtiar (2007), rumput laut segar tidak dapat disimpan lama pada suhu ruang. Penyebab pembusukan adalah karena adanya makhluk hidup yang berukuran sangat kecil, seperti bakteri dan jamur. Kandungan air yang terlalu banyak dalam bahan makanan menyebabkan pembusukan lebih mudah terjadi. Belum adanya informasi mikroorganisme apa yang paling dominan dalam proses kerusakan alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar sehingga peneliti tertarik untuk mengetahui jenis mikroorganisme apa yang dapat menyebabkan kerusakan pada alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar.

1.2 Rumusan Masalah

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. 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 prinsipnya sama dengan pengujian indikator kebusukan terhadap produk-produk daging dan unggas (Fardiaz, 1992). Dari uraian tersebut di dapat rumusan masalah sebagai berikut:

- Mikroorganisme apa yang paling dominan dalam proses kerusakan alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang dapat merusak alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah diduga alga coklat (*Sargassum duplicatum*) terjadi kerusakan akibat mikroorganisme pembusuk.

1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian diharapkan dapat memberikan informasi kepada pihak yang berkepentingan tentang isolasi dan identifikasi mikroorganisme yang dapat merusak alga coklat (*Sargassum duplicatum*) sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Selain itu penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk penanganan pasca panen alga coklat (*Sargassum duplicatum*).

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Yang dilaksanakan pada bulan November 2011 - Januari 2012.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga Coklat

Rumput laut merupakan salah satu hasil perikanan laut yang dapat menghasilkan devisa negara dan merupakan sumber pendapatan masyarakat pesisir. Rumput laut dibagi dalam empat kelas yaitu : *Chlorophyceae* (alga hijau), *Rhodophyceae* (alga merah), *Cyanophyceae* (alga biru), *Phaeophyceae* (alga coklat). Rumput laut merupakan bagian terbesar dari tanaman laut yang memegang peran cukup penting dalam fungsinya sebagai bahan makanan dan obat-obatan. Secara garis besar, rumput laut dibedakan sebagai penghasil agar, karaginan, furcellaran dan alginat. Alga coklat yang sering disebut *kelp* atau *rockweed* merupakan sumber alginat atau algin, yaitu salah satu jenis polisakarida yang terdiri dari unit-unit asam manurat dan asam glukoronat (Istini, 2011).

Alga coklat merupakan anggota *Pheophyta*, alga khas daerah tropik, mengandung pigmen klorofil a dan c, alfa dan beta karoten, alginat dan lain-lain. Alga coklat dapat tumbuh subur disebagian besar pantai perairan laut Indonesia, contohnya di pantai selatan Gunung Kidul D.I Yogyakarta. (Mulyo, 2010). Kandungan komposisi kimia dan jenis kadar mineral alga coklat dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Komposisi kimia alga coklat

Komposisi Kimia	Jumlah (%)
Karbohidrat	19,06
Protein	5,53
Lemak	0,74
Air	11,71
Abu	34,57
Serat kasar	28,39

Sumber : Yunizal (1999)

Tabel 2. Jenis dan kadar mineral alga coklat

Unsur	Kadar
Chlor	9,8 – 15,00
Kalium	6,4 – 7,8
Natrium	2,6 – 3,8
Magnesium	1,0 – 1,9
Belerang	0,7 – 2,1
Silikon	0,5 – 0,6
Fosfor	0,3 – 0,6
Kalsium	0,2 – 0,3
Besi	0,1 – 0,2
Yodium	0,1 – 0,8
Brom	0,003 – 0,14

Sumber : Yunizal (1999)

2.2 *Sargassum Duplicatum*

Alga *Sargassum duplicatum* merupakan salah satu marga *Sargassum* termasuk dalam kelas *Phaeophyceae*. Ada 150 jenis Marga *Sargassum* yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin (Nizamuddin, 1970). Habitat alga *Sargassum* tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5–10 m, ada arus dan ombak. Pertumbuhan alga ini sebagai makro alga bentik melekat pada substrat dasar perairan. Di daerah tubir tumbuh membentuk rumpun besar, panjang *thalli* utama mencapai 0,5-3 m dengan untaian cabang *thalli* terdapat kantong udara (*bladder*), selalu muncul di permukaan air.

Di Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 15 jenis alga *Sargassum* dan yang telah dikenal mencapai 12 jenis. Sedangkan di perairan Indo-Pasifik, tercatat 58 jenis (Bosse, 1928). Alga *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun, alga ini bersifat “perennial” atau setiap musim barat maupun timur dapat dijumpai di berbagai perairan. *Sargassum* secara ekologis ikut andil dalam pembentukan ekosistem terumbu karang dan merupakan tempat asuhan bagi biota kecil, termasuk untuk perlindungan benih ikan dan benur udang serta sarang

melekatnya telur cumi-cumi. Alga coklat *Sargassum* sp. termasuk tumbuhan kosmopolitan, tersebar hampir diseluruh perairan Indonesia. Lingkungan tempat tumbuh alga *Sargassum* terutama di daerah perairan yang jernih yang mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik dan benda-benda yang bersifat massif yang berada di dasar perairan.

Alga *Sargassum* tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus deras. Kedalaman untuk pertumbuhan dari 0,5–10 m. Marga *Sargassum* termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* tumbuh subur pada daerah tropis, suhu perairan 27,25–29,30°C dan salinitas 32–33,5°C. Kebutuhan intensitas cahaya matahari marga *Sargassum* lebih tinggi daripada marga alga merah. Boney (1965) menyatakan pertumbuhan *Sargassum* membutuhkan intensitas cahaya matahari berkisar 6500–7500 lux. Alga *Sargassum* tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang. Panjang *thalli* utama mencapai 1–3 m dan tiap-tiap percabangan terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut "*Bladder*", berguna untuk menopang cabang-cabang *thalli* terapung ke arah permukaan air untuk mendapatkan intensitas cahaya matahari.

Adapun klasifikasi *Sargassum* menurut Anggadiredja et al. (2008) sebagai berikut :

- Divisi : Rhodophyta
- Kelas : Phaeophyceae
- Ordo : Fucales
- Famili : Sargassaceae
- Genus : *Sargassum*
- Spesies : *Sargassum duplicatum*



Gambar 1. *Sargassum duplicatum*

2.3 Kerusakan Pangan

Pangan adalah bahan-bahan yang dimakan sehari-hari untuk memenuhi kebutuhan energi bagi pemeliharaan, pertumbuhan, kerja dan penggantian jaringan tubuh yang rusak. Kehidupan manusia tidak mungkin tanpa adanya ketersediaan bahan pangan. Jadi, untuk mempertahankan kehidupan maka manusia harus makan secukupnya dengan mengonsumsi pangan yang mengandung nutrisi untuk memenuhi gizi (Budiyanto, 2001). Kebusukan dan kerusakan berbagai bahan pangan merupakan akibat dari reaksi kimia yang berantai panjang serta rumit (Winarno, 2004).

Kerusakan bahan pangan adalah perubahan karakteristik fisik dan kimiawi suatu bahan makanan yang tidak diinginkan atau penyimpangan dari karakteristik normal. Karakteristik fisik meliputi sifat organoleptik seperti warna, bau, tekstur, bentuk. Karakteristik kimiawi meliputi komponen penyusunnya seperti kadar air, karbohidrat, protein, lemak, mineral, vitamin, pigmen dan sebagainya. Kerusakan bahan pangan akan berakibat kebusukan. Ciri-ciri Kebusukan pada bahan pangan *irreversible*, bau tidak sedap, perubahan bentuk secara drastis, kehilangan daya tarik dan perubahan nilai gizi.

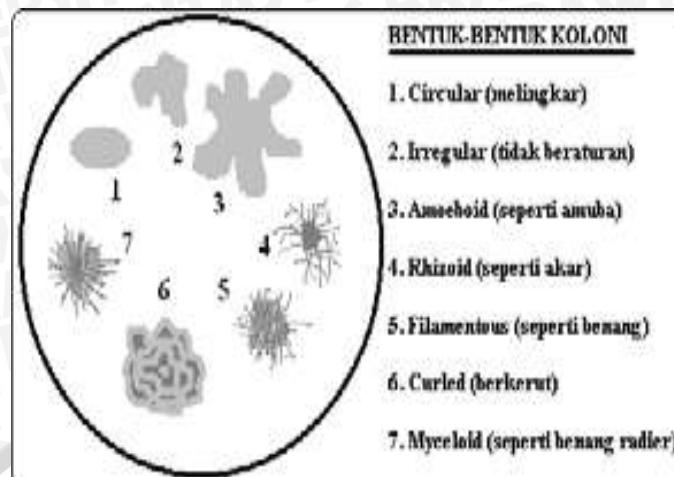
Kerusakan bahan pangan dapat disebabkan oleh faktor-faktor sebagai berikut : pertumbuhan dan aktifitas mikroba terutama bakteri, kapang, khamir, aktivitas enzim-enzim di dalam bahan pangan, serangga, parasit dan tikus. Suhu termasuk oksigen, sinar dan waktu. Mikroba terutama bakteri, kapang dan khamir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

Menurut Siagian (2002) Bahan pangan atau makanan disebut busuk atau rusak jika sifat-sifatnya telah berubah sehingga tidak dapat diterima lagi sebagai makanan. Kerusakan pangan dapat disebabkan oleh berbagai faktor, yaitu pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme, kerusakan karena serangga atau hewan pengerat, aktivitas enzim pada tanaman atau hewan, reaksi kimia nomenzimatik, kerusakan fisik misalnya karena pembekuan, hangus, pengeringan, tekanan, dan lain-lain.

2.4 Bakteri

Menurut Purnomo (2005) bakteri merupakan mikroorganisme bersel tunggal, tidak berklorofil dan berkembang biak dengan cara membelah diri. Ukuran bakteri lebih kecil dari protozoa maupun fungsi satu sel. Pengamatan-pengamatan yang dilakukan Leewenhoek merupakan pengamatan yang menampilkan penampilan kasar bakteri yang hanya menampilkan sel bulat, seperti batang atau spiral.

Perkembangan pengamatan sel bakteri sampai dengan sebelum tahun 1940-an meliputi teknik pewarnaan ternyata dapat memperbaiki apa yang diamati Leewenhoek sehingga dapat lebih tepat mengamati morfologi bakteri yang meliputi : bentuk, ukuran, struktur luar, dan pola penataan bakteri. Morfologi bakteri dapat berupa morfologi koloni dan morfologi sel bakteri. Beberapa contoh bentuk-bentuk koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.



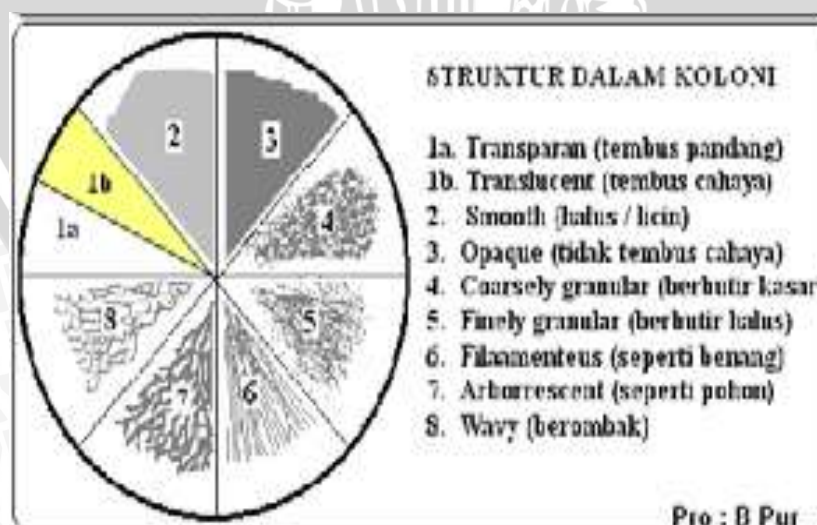
Gambar 2. Bentuk-bentuk koloni bakteri (Sumber : Purnomo, 2005)

Beberapa contoh bentuk tepi koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Bentuk tepi koloni bakteri (Sumber : Purnomo, 2005)

Beberapa contoh struktur dalam koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur dalam koloni bakteri (Sumber : Purnomo, 2005)

Beberapa contoh bentuk elevasi koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 5.

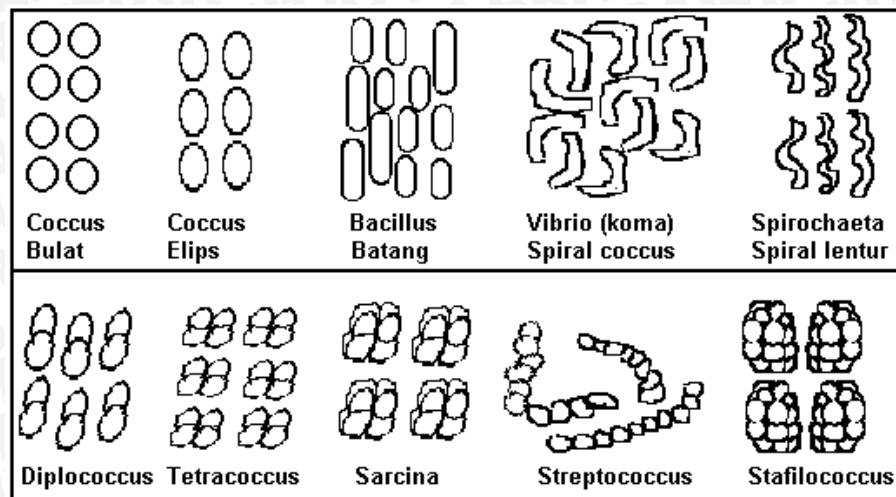


Gambar 5. Bentuk-bentuk elevasi koloni bakteri (Sumber : Purnomo, 2005)

Koloni bakteri merupakan kumpulan bakteri sejenis hasil reproduksi yang mengumpul pada satu tempat di medium kultur atau kumpulan bakteri pada medium kultur yang berasal dari hasil pertumbuhan atau keturunan dari satu sel bakteri. Beberapa kelompok bakteri menunjukkan ciri-ciri koloni yang saling berbeda, baik dilihat dari bentuknya, elevasi, maupun bentuk tepi koloni. Ukuran, bentuk, dan penataan sel merupakan ciri morfologi kasar sel bakteri.

Setelah ditemukan mikroskop elektron dan teknik-teknik memotong sel menjadi irisan-irisan bagian sel, serta teknik isolasi senyawa sel maka kemudian ditemukan ciri morfologi dan ciri biokimiawi yang lebih detail lagi. Ciri morfologi dari irisan-irisan bagian sel ini kemudian kita sebut morfologi struktur halus dari sel bakteri.

Sel-sel bakteri dapat berbentuk seperti bola, elips (*coccus*), batang (*bacillus*) dan spiral (*heliks*). Spesies-spesies tertentu bakteri menunjukkan adanya pola penataan sel, misalnya: berpasangan, bergerombol, membentuk rantai atau filamen. Bentuk sel-sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Bentuk sel-sel bakteri (Sumber : Purnomo, 2005)

2.5 Jamur

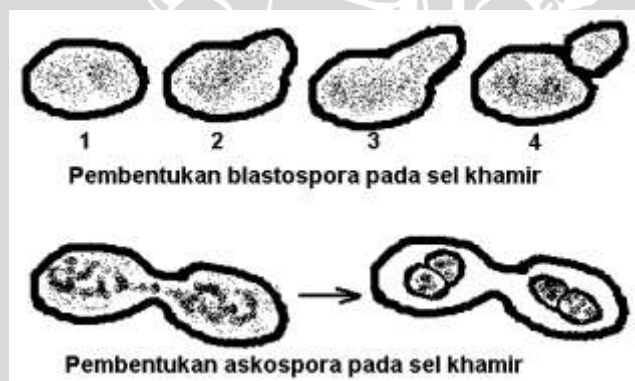
Menurut Purnomo (2005), jamur merupakan organisme heterotrofik absorbtik yang memerlukan senyawa organik untuk sumber tenaganya. Jamur dapat hidup pada benda organik mati maupun organisme hidup. Mereka yang hidup dari bahan organik mati disebut saprofit dan yang hidup pada organisme hidup disebut parasit. Jamur saprofitik berperan penting dalam merombak sisa-sisa bahan organik menjadi senyawa-senyawa yang sederhana dan dapat dimanfaatkan oleh organisme lain. Sebagai parasit, jamur dapat menyerang manusia, hewan dan tumbuhan. *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestan*, *Coletotrichum gloeosporoides* merupakan contoh jamur parasit yang menyebabkan penyakit pada tumbuhan.

Jamur memerlukan kelembaban yang tinggi, persediaan bahan organik, dan oksigen untuk pertumbuhannya, meskipun akan tumbuh terbaik pada suhu kamar (20-32°C). Kebanyakan bersifat saprofit atau hidup dari bahan organik mati, lingkungan mengandung gula dan tidak asam (Purnomo, 2005).

2.6 Khamir (Yeast)

Menurut Purnomo (2005), tubuh atau *thallus* khamir berupa sel tunggal. Khamir bersifat mikroskopik sebagai sel bebas yang sederhana. Biasanya berbentuk bulat atau lonjong, termasuk sel eukariotik. Berkembang biak secara seksual maupun aseksual. Cara seksual yang umum dilakukan yaitu dua sel khamir melebur (fusi) menjadi sel tunggal berbentuk kantong yang disebut askus. Di dalam askus terbentuk satu sampai delapan spora, yang disebut askospora. Dalam kondisi yang cocok, askus akan pecah selanjutnya askospora akan tumbuh membentuk sel khamir baru.

Cara aseksual yang biasa untuk pembiakan khamir menggunakan proses aseksual yang disebut blastospora. Sel khamir pada awalnya akan terjadi benjolan-benjolan (tunas) berbagai ukuran yang semakin membesar, kemudian berangsur-angsur menyempit pada bagian yang berhubungan dengan dinding sel induk sehingga akhirnya terpotong dari sel induknya. Pembentukan spora pada sel khamir dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Pembentukan spora pada sel khamir (Sumber : Purnomo, 2005)

Proses pertunasan (blastospora) berbeda dengan pembelahan biner yang didahului oleh terbelahnya inti. Semua kelompok khamir dapat berkembang biak secara aseksual, tetapi tidak semua khamir dapat berkembangbiak secara seksual. Khamir yang hanya berkembangbiak secara aseksual dikelompokkan ke dalam *Deuteromycetes*, sedangkan khamir yang membentuk spora seksual

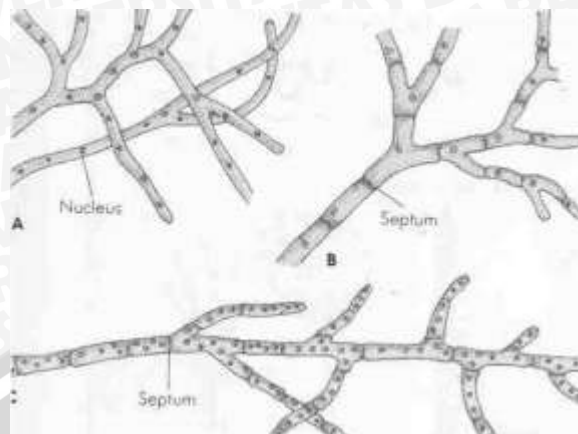
dikelompokkan sesuai dengan spora seksual yang dibentuknya. Umumnya khamir yang berkembang biak secara seksual membentuk askospora sehingga dikelompokkan ke dalam *Ascomycetes*. Beberapa contoh khamir misalnya : *Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir permukaan memproduksi gas sangat cepat, *S. carsbergensis* merupakan khamir dasar karena memproduksi gas sangat lambat, *Hansenula anomala* (*Ascomycetes*), *Candida albicans* merupakan khamir yang tidak membentuk spora seksual.

2.7 Jamur Benang

Jamur benang meliputi : kapang (*mold*), buduk (*mildew*), jamur payung dan sejenisnya (*mushroom, champignon*), jamur karat (*rust fungi*), jamur jelaga (*smuts fungi*), jamur bola (*puff-ball fungi*), dan jamur mangkok (*cup fungi*). Tubuh atau *thallus* jamur benang terdiri dari dua bagian, yaitu bagian vegetatif berupa benang dan bagian generatif berupa spora. Bagian vegetatif jamur parasit biasanya berupa benang-benang halus yang bersekat atau tidak bersekat. Bagian yang berupa benang disebut hifa dan kumpulan dari hifa disebut miselium. Setiap hifa lebarnya hanya 2 – 10 μm .

Pada prinsipnya hifa jamur dibedakan menjadi hifa senositis (*coenocytis*) atau hifa tidak bersekat dan hifa seluler (*cellular*) atau hifa bersekat. Hifa tidak bersekat terdapat pada jamur-jamur kelas *Phycomycetes* dan hifa bersekat terdapat pada jamur-jamur pada kelas *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* dan *Deutromycetes* (*Imperfecty*).

Bentuk-bentuk hifa jamur dapat dilihat pada Gambar 8.

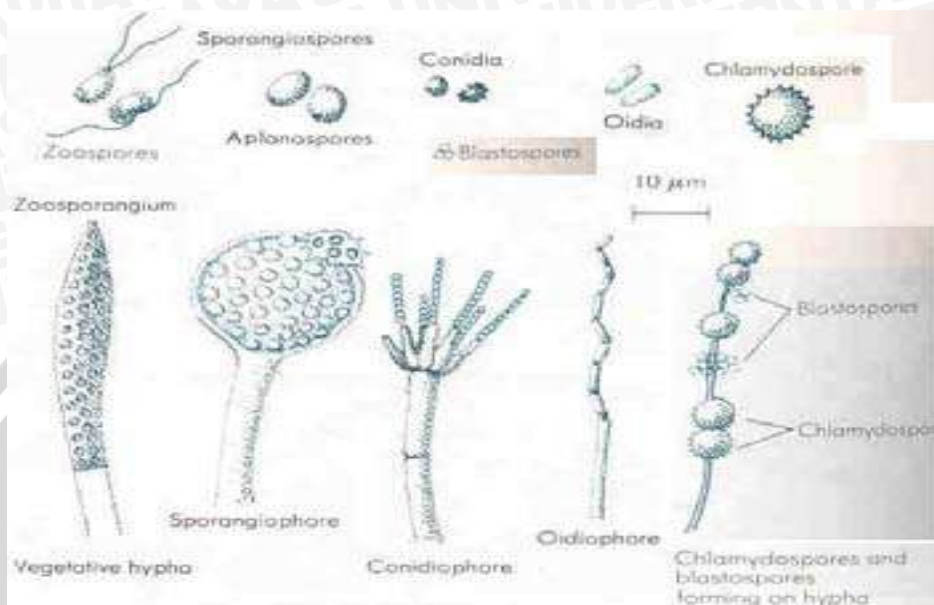


Gambar 8. Bentuk-bentuk hifa jamur (Sumber : Purnomo, 2005)

Beberapa jamur dapat membentuk rhizomorf, sklerotium dan kladospora sebagai alat pertahanan diri. Jamur mempunyai dua macam alat perkembangbiakan, yakni seksual (dengan kawin) dan aseksual (tanpa kawin). Perkembangbiakan aseksual pada *Phycomycetes* terjadi dengan pembentukan sporangiospora (spora yang dibentuk di dalam sporangium) yang dapat berupa zoospora (sporangiospora yang mempunyai alat gerak dan tidak mempunyai dinding yang jelas), konidium (sporangium yang hanya membentuk satu spora), kladospora (pembulatan sel hifa dan berdinding tebal).

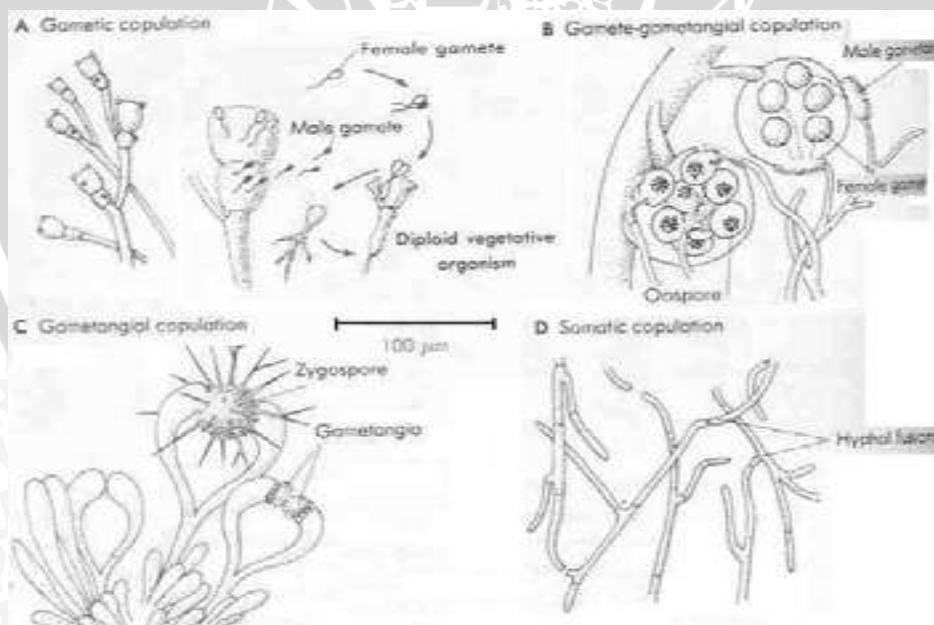
Pada klas *Ascomycetes* dan *Deuteromycetes* pembentukan konidiumnya bervariasi dari yang hanya satu sel sampai beberapa sel. Pendukung konidiumnya (konidiofor) juga bervariasi dari yang sederhana dan pendek sampai panjang dan bercabang-cabang. Konidiofor tersebut dapat dibentuk secara bebas pada permukaan jaringan tanaman inang pada anggota-anggota *Moniliales*, atau dibentuk dalam badan buah tertentu seperti piknidium pada anggota-anggota *Sphaeropsidales*, *aservulus* pada anggota-anggota *Melanconiales*, dan jika tidak dibentuk di dalam piknidium atau aservulus termasuk dalam anggota-anggota *Hyphomycetes*. Perkembangbiakan seksual *Phycomycetes* yang paling sederhana berlangsung secara isogami dan yang

lebih tinggi tingkatannya berlangsung secara anisogami. Perkembangbiakan seksual tersebut antara lain menghasilkan oospora dan zygospora. Macam-macam spora aseksual jamur dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Macam-macam spora aseksual jamur (Sumber: Purnomo, 2005)

Macam-macam kopulasi seksual jamur dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Macam-macam kopulasi seksual jamur (Sumber: Purnomo, 2005)

Perkembangbiakan seksual pada *Ascomycetes* berlangsung dengan terjadinya persatuan dua inti yang berbeda jenisnya yang kemudian berkembang menjadi askus. Di dalam askus dibentuk askospora yang umumnya berjumlah 2-8. Badan yang membentuk atau mendukung askus disebut askokarp. Badan buah tersebut dapat berupa apotesium, kleistotesium, peritesium atau askostroma. *Basidiomycetes*, perkembangbiakan seksualnya dengan cara pembentukan basidiospora pada basidium atau di luar basidium melalui suatu tangkai yang disebut sterigma. Ada bermacam-macam badan buah pembentuk spora pada *Basidiomycetes*. *Uredinales* adalah salah satu contoh dari anggota *Basidiomycetes* yang dikenal sebagai jamur karat dapat membentuk 5 macam stadium pembentuk spora, yakni : *pycnia*, *aecia*, *uredinia*, *telia* dan *basidium*.

Seluruh bagian tubuh jamur potensial mampu tumbuh dan berkembangbiak. Secara alamiah jamur berkembangbiak dengan berbagai cara, baik seksual maupun aseksual. Perkembangbiakan secara aseksual dengan fragmentasi hifa dan pembentukan spora.

Pembentukan spora aseksual ada beberapa macam cara, antara lain sbb :

1. Konidiospora atau konidium yaitu spora yang dibentuk di ujung atau disisi suatu hifa, dapat satu-satu atau berantai.
2. Sporangiospora yaitu spora yang dibentuk di dalam kantong yang disebut sporangium di ujung hifa khusus yang disebut sporangiofor. Jika satu kantong hanya berisi satu spora maka sporanya disebut konidiospora, jika tidak mempunyai alat gerak disebut aplanospora, dan jika mempunyai flagela disebut zoospora.
3. Arthrospora atau oidium yaitu spora yang terbentuk karena hasil fragmentasi sel-sel hifa.
4. Klamidospora yaitu spora yang terbentuk karena adanya penebalan sel-sel hifa sehingga menjadi sel yang sangat tahan terhadap keadaan lingkungan

yang buruk. Jika terbentuk di ujung hifa disebut klamidospora terminal, dan jika tidak di ujung disebut klamidospora interkalar.

5. Blastospora yaitu spora yang dibentuk dari hasil pertunasan hifa.

Pembentukan spora seksual ada 3 macam cara, antara lain sebagai berikut :

1. Zigospora yaitu spora seksual yang berdinding tebal hasil gametangiagami atau perkawinan dua hifa serasi.
2. Oospora yaitu spora seksual dalam oosfer hasil perkawinan oogonium (sel betina) dengan anteridium (gamet jantan).
3. Askospora yaitu spora seksual di dalam kantong askus hasil perkawinan sel-sel antheridial dengan sel-sel oogonial. Setiap askus dapat dibentuk 2, 4 atau 8 askospora.
4. Basidiospora yaitu spora seksual di atas struktur berbentuk gada yang disebut basidium hasil perkawinan sel-sel antheridial dengan sel-sel oogonial. Setiap basidium dapat dibentuk 2, 4 atau 8 basidiospora.

2.8 Jamur Lendir

Jamur lendir (*slime mold*) mempunyai pola pertumbuhan yang khusus. Jamur ini lebih mirip dengan protozoa, tetapi pada satu tahap perkembangannya jamur ini membentuk spora. Dalam skema klasifikasi, jamur lendir dikelompokkan ke dalam *Myxomycetes*.

Perkembangan jamur lendir bervariasi sesuai dengan jenisnya. Tahap plasmodium terdiri atas massa protoplasma bernukleus banyak. Pada tahap plasmodium ini jamur dapat bergerak pada substrat seperti amoeba dan melakukan ingesti terhadap bakteri maupun benda kecil. Jika kondisi tidak menguntungkan, misalnya substrat mengering, akan berubah menjadi sel berinti yang berfungsi sebagai spora atau membentuk kantong (*sporangium*) tanpa

tangkai yang berisi banyak spora. Jika kondisi menguntungkan lagi, spora akan memproduksi protoplas berflagela satu kemudian berpasangan, berfusi membentuk zigot yang berflagela dua. Zigot yang berflagela ganda ini kemudian melepaskan kedua flagelanya dan melakukan pembelahan sehingga terbentuk plasmodium.

2.9 Air dalam Bahan Pangan

2.9.1 Klasifikasi Air dalam Bahan Pangan

Air dalam suatu bahan makanan menurut Sudarmadji *et al.*, (2003) terdapat dalam berbagai bentuk yaitu :

1. Air bebas, terdapat dalam ruang-ruang antar sel dan inter-granular dan pori-pori yang terdapat dalam bahan.
2. Air yang terikat secara lemah karena terserap (*terabsorpsi*) pada permukaan koloid makromolekuler seperti protein, pectin pati, selulosa. Selain itu air juga terdispersi diantara koloid tersebut dan merupakan pelarut zat-zat yang ada dalam sel. Air yang ada dalam bentuk ini masih tetap mempunyai sifat air bebas dan dapat dikristalkan pada proses pembekuan. Ikatan antara air dengan koloid tersebut merupakan ikatan hidrogen.
3. Air dalam keadaan terikat kuat yaitu membentuk hidrat. Ikatannya bersifat ionic sehingga relatif sukar dihilangkan atau diuapkan. Air ini tidak membeku meskipun pada 0°F.

Air imbibisi merupakan air yang masuk ke dalam bahan pangan dan akan menyebabkan pengembangan volume, tetapi air ini tidak merupakan komponen penyusun bahan tersebut. Air Kristal adalah air terikat dalam semua bahan baik pangan maupun non pangan yang berbentuk kristal seperti gula, garam, CuSO_4 dan lain-lain (Winarno, 2002).

2.9.2 Fungsi Air dalam Bahan Pangan

Air berfungsi sebagai bahan yang dapat mendispersikan berbagai senyawa yang ada dalam bahan makanan. Untuk beberapa bahan malah berfungsi sebagai pelarut. Air dapat melarutkan berbagai bahan seperti garam, vitamin, yang larut air, mineral, dan senyawa-senyawa cita rasa seperti yang terkandung adalah teh dan kopi. Air juga merupakan komponen penting dalam bahan makanan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, serta cita rasa makanan kita (Winarno, 2002).

Pertumbuhan sel jasad renik di dalam suatu makanan sangat dipengaruhi oleh jumlah air yang tersedia selain merupakan bagian terbesar dari komponen sel (70-80%), air juga dibutuhkan sebagai reaktan dalam berbagai reaksi biokimia (Fardiaz, 1992).

Menurut Gaonkar (1995), fungsi air antara lain :

- Pendispersi-Pelarut

Keadaan yang dapat dilarutkan pada air dikontrol oleh keseimbangan antara interaksi *solute-solute*, *solute-air*, dan *air-air*.

- Pembentuk struktur
- Mobilitas

Air mungkin merupakan substansi yang paling penting dalam hidup. Substansi ini memiliki susunan spesifik secara kimiawi maupun fisika yang berbeda nyata dengan komponen lain ditinjau dari struktur molekulnya. Karakteristik penting yang dimiliki oleh air di dalam produk susu mencakup kemampuannya sebagai pelarut dan *plasticizer* untuk komponen karbohidrat dan protein (Fox, 1997).

2.9.3 a_w dan Pengaruhnya dalam Bahan Pangan

Pertumbuhan mikroba tidak pernah terjadi tanpa adanya air. Air dalam substrat yang dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroba biasanya dinyatakan dengan istilah "Water Activity" (a_w) yaitu perbandingan antara tekanan uap air dari larutan (P) dengan tekanan uap air murni pada suhu yang sama (P_o). $a_w = P / P_o \times (Muchtadi, 1997)$.

Menurut Sudarmadji *et al.*, (2003), a_w aktivitas air dipergunakan untuk menentukan kemampuan air dalam proses-proses kerusakan bahan makanan. Pada kadar air yang tinggi belum tentu memberikan a_w yang tinggi bila bahannya berbeda. Hal ini dikarenakan mungkin bahan yang satu disusun oleh bahan-bahan yang mudah mengikat air sehingga air bebas relatif menjadi lebih kecil akibatnya bahan jenis ini mempunyai a_w yang rendah.

Kandungan air dalam bahan makanan dapat mempengaruhi daya tahan makanan terhadap serangan mikroorganisme yang dinyatakan dalam aktivitas air (a_w) yaitu jumlah air bebas yang digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya, dimana semakin tinggi kadar air yang terkandung dalam bahan pangan, maka semakin cepat rusak karena aktivitas mikroorganisme (Achyadi dan Afiana, 2004).

1. Bakteri

Tumbuh kembang bakteri memerlukan aktivitas air (a_w) lebih tinggi dari pada kapang dan khamir (ragi) yaitu 0,86 sampai mendekati 1. Bakteri dapat tumbuh pada konsentrasi gula 1% dan garam 0,85%. Pada konsentrasi gula 3-4% dan garam 1-2%, pertumbuhan bakteri dapat dihambat. a_w terendah untuk beberapa bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. a_w terendah untuk beberapa bakteri

Jenis Bakteri	a_w Terendah
<i>Pseudomonas</i>	0,97
<i>Eschericia colli</i>	0,96
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Bacillus cereus</i>	0,92
<i>Clostridium botulinum</i>	0,95
<i>Clostridium perfringens</i>	0,97
<i>Salmonella</i>	0,96

2. Kapang

Pertumbuhan kapang memerlukan aktivitas air (a_w) optimum dan kisaran a_w untuk spora-spora bergerminasi adalah berbeda untuk setiap jenis kapang. a_w berkorelasi dengan kadar air, oleh sebab itu dengan pengeringan tertentu dan pengaturan a_w , pangan dapat terhindar dari pertumbuhan kapang. a_w di bawah 0,62 kapang tidak tumbuh. a_w germinasi spora dan pertumbuhan kapang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. a_w germinasi spora dan pertumbuhan kapang

Jenis Kapang	a_w germinasi	a_w Pertumbuhan
<i>Aspergillus sp</i>	0,93	0,98
<i>Rhizopus sp</i>	0,93	0,96
<i>Penicillium sp</i>	0,93	0,99

3. Khamir / Ragi

Pertumbuhan khamir/ragi umumnya membutuhkan a_w sekitar 0,88 sampai 0,94. Selain itu khamir relatif dapat tumbuh pada konsentrasi gula (40 – 60%) dan garam lebih tinggi (20 – 26,5%) dari pada bakteri. Beberapa khamir dapat tumbuh pada susu kental manis yaitu pada a_w 0,9; atau roti pada a_w 0,91; bahkan ada yang dapat tumbuh pada sirup yang mempunyai a_w 0,78. Beberapa jenis ragi penyebab kerusakan antara lain *Torulla*, *Rhodotorulla* dan *Hansenulla* yang dapat mengakibatkan perubahan warna.

Suatu bahan yang telah mengalami pengeringan ternyata lebih bersifat higroskopis daripada bahan asalnya. Oleh karena itu selama pendinginan sebelum penimbangan, bahan selalu ditempatkan dalam ruang tertutup yang kering.

Menurut Winarno (1986), kadar air suatu bahan dapat dinyatakan dalam dua cara yaitu berdasarkan bahan kering (*dry basis*) dan bahan basah (*wet basis*). Kadar air secara bahan kering adalah berbanding antara berat air di dalam bahan tersebut dengan berat keringnya, sedangkan berat air bahan basah adalah perbandingan antara berat air di dalam bahan dengan berat mentah.

2.9.4 Macam - Macam Metode Analisis

Menurut Apriyantono *et.al* (1989), metode penentuan air meliputi:

1. Penentuan air dengan metode oven
2. Penentuan air dengan metode oven vakum
3. Penentuan air dengan metode karl fisher 1
4. Penentuan air dengan metode karl fisher 2

Dalam penentuan kadar air, prinsip yang digunakan yaitu penentuan jumlah air yang dipisahkan dengan cara destilasi dengan menggunakan pelarut organik (toluen), yang tidak bercampur dengan air dan ditimbang dalam tiap ukuran (SNI, 1995).

Menurut Winarno (1986), penetapan kandungan air ada beberapa tergantung pada sifat bahannya, pada umumnya penentuan kadar air dilakukan dengan mengeringkan bahan dalam oven pada suhu 105 – 110°C selama 3 jam atau sampai didapat berat yang konstan. Sedangkan bahan-bahan yang kadar airnya tinggi dan mengandung senyawa-senyawa yang mudah menguap (volatil) seperti sayuran dan susu, menggunakan cara destilasi dengan pelarut tertentu, misalnya toluen, xytol, heptana yang berat jenisnya lebih rendah daripada air.

Sampel dimasukkan pada tabung bola (flask), kemudian dipanaskan. Air dan pelarut menguap, diembunkan dan jatuh pada tabung Aufausher yang berskala. Air yang mempunyai berat jenis lebih besar ada di bawah, sehingga jumlah air yang diuapkan dapat dilihat pada skala tabung Aufausher tersebut. Bahwa contoh dipanaskan pada suhu yang tidak banyak melebihi suhu mendidih ($105 - 110^{\circ}\text{C}$) sampai diperoleh berat konstan. Pada suhu ini, semua air bebas (yang tidak terikat dengan zat lain) dapat dengan mudah diuapkan tetapi tidak demikian halnya dengan air yang terikat.

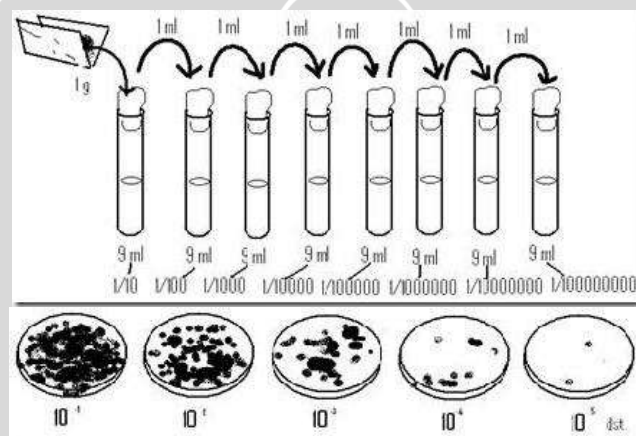
2.10 pH

Hampir semua mikroba tumbuh pada tingkat pH yang berbeda. Sebagian Bakteri tumbuh pada pH mendekati netral (pH 6,5–7,5). Pada pH dibawah 5,0 dan diatas 8,0 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik, kecuali bakteri asam asetat (misalnya *Acetobacter suboxydans*) yang mampu tumbuh pada pH rendah dan bakteri *Vibrio sp* yang dapat tumbuh pada pH tinggi (basa). Sebaliknya, khamir menyukai pH 4,0-5,0 dan dapat tumbuh pada kisaran pH 2,5–8,5. Oleh karena itu khamir dapat tumbuh pada pH rendah di mana pertumbuhan bakteri terhambat. Untuk pertumbuhan kapang memerlukan pH optimum antara 5,0–7,0 tetapi seperti halnya khamir, kapang masih dapat hidup pada kisaran pH yang luas yaitu antara pH 3,0–8,5.

2.11 Metode TPC (*Total Plate Count*)

Pertumbuhan mikroorganisme patogen maupun non patogen ini dapat diketahui dengan berbagai macam metode pemurnian air salah satunya *Total Plate Count* (TPC). TPC adalah pengujian kemurnian air untuk mengetahui berapa banyak bakteri tanpa memperhatikan jenis bakteri seperti, mikroalga, fungi, ataupun kelompok bakteri tertentu. Sample air yang digunakan biasanya

diencerkan dengan air steril, jumlah yang telah diukur dicampur dengan medium hara dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 24 jam, dan hitung dengan cara mengalikan jumlah koloni pada cawan dengan faktor pengenceran (Sutopo, 2008). 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 (Pradhika, 2008). Teknik pengenceran bertingkat dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Teknik pengenceran bertingkat (Sumber : Pradhika, 2008)

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme dalam suatu produk, prinsip dari angka lempeng total ini adalah jika sel mikroba yang ditumbuhkan pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan berbentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata. Metode yang biasa digunakan adalah metode tuang (*Pour Plate*) dan metode sebar (*Spread Plate*). Metode tuang adalah dengan cara menanamkan contoh ke dalam cawan petri terlebih dahulu kemudian ditambahkan media pemupukan, sedangkan metode sebar adalah dengan menanamkan contoh ke dalam cawan petri yang telah berisi media pemupukan

dan disebarkan menggunakan batang gelas bengkok. Di dalam standar penentuan Angka Lempeng Total (ALT) metode yang biasa digunakan adalah metode tuang (SNI, 1991).

2.12 Isolasi Dan Identifikasi Bakteri

Mikroba di lingkungan pada umumnya berada dalam populasi campuran, sulit ditemukan mikroba dijumpai sebagai spesies tunggal. Untuk itu dibutuhkan metode isolasi agar dapat mencirikan dan mengidentifikasi suatu mikroorganisme tertentu. Pertama kali harus dapat dipisahkan dari mikroorganisme lainnya yang dijumpai dalam habitatnya, lalu ditumbuhkan menjadi biakan murni. Terdapat dua metode untuk memperoleh biakan murni yaitu teknik cawan gores dan cawan tuang. Kedua teknik ini berdasarkan pada pengenceran organisme sehingga dapat dipisahkan hanya spesies tertentu berada sebagai sel tunggal. Dengan demikian dapat diperoleh ciri-ciri kultural, morfologis, fisiologis, maupun serologis (Karliana, 2009).

Prinsip pada metode isolasi pada agar cawan adalah mengencerkan mikroorganisme sehingga diperoleh individu spesies yang dapat dipisahkan dari organisme lainnya. Setiap koloni yang terpisah yang tampak pada cawan tersebut setelah inkubasi berasal dari satu sel tunggal. Terdapat beberapa cara dalam metode isolasi pada agar cawan, yaitu: Metode gores kuadran, dan metode agar cawan tuang. Pada metode gores kuadran, bila metode ini dilakukan dengan baik akan menghasilkan terisolasinya mikroorganisme, dimana setiap koloni berasal dari satu sel (Sofa, 2008).

Menurut Hadioetomo (1985) metode cawan gores mempunyai dua keuntungan, yaitu menghemat bahan dan waktu. Teknik menggores yang baik maka pada suatu area tertentu pada permukaan medium yang digores, sel-sel bakteri akan terpisahkan satu dari yang lainnya. Sel-sel tunggal yang terpisahkan

seperti ini disebut sel induk. Pada waktu inkubasi setiap sel induk berbagi diri dengan pembelahan biner dalam waktu 20-30 menit menjadi 2 sel anak dan begitu seterusnya.

Bila setelah masa inkubasi koloni-koloni tersebut saling terpisahkan cukup jauh sehingga tidak bersentuhan, maka diperoleh koloni murni. Ditambahkan oleh Pradhika (2008) teknik penanaman dengan penggoresan bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam medium baru.

1. Goresan Sinambung

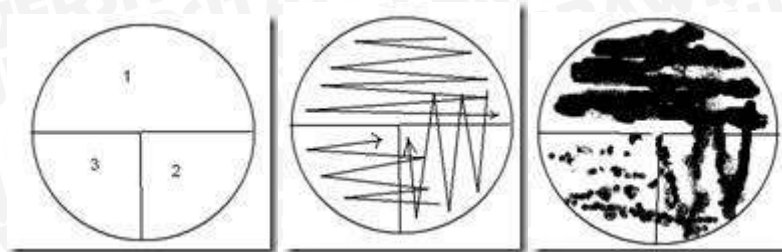
Goresan sinambung umumnya digunakan bukan untuk mendapatkan koloni tunggal, melainkan untuk peremajaan ke cawan atau medium baru. Sentuhkan inokulum loop pada koloni dan gores secara kontinyu sampai setengah permukaan agar. Jangan pijarkan loop, lalu putar cawan 180°C lanjutkan goresan sampai habis. Goresan sinambung dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Goresan sinambung (Sumber : Pradhika, 2008)

2. Goresan T

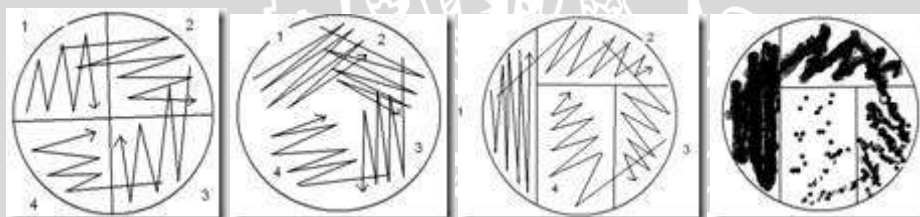
Bagi cawan menjadi 3 bagian menggunakan spidol marker. Inokulasi daerah 1 dengan streak zig-zag. Panaskan jarum inokulan dan tunggu dingin, kemudian lanjutkan streak zig-zag pada daerah 2 (*streak* pada gambar). Cawan diputar untuk memperoleh goresan yang sempurna. Lakukan hal yang sama pada daerah 3. Goresan T dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Goresan T (Sumber : Pradhika, 2008)

3. Goresan Kuadran (*Streak quadrant*)

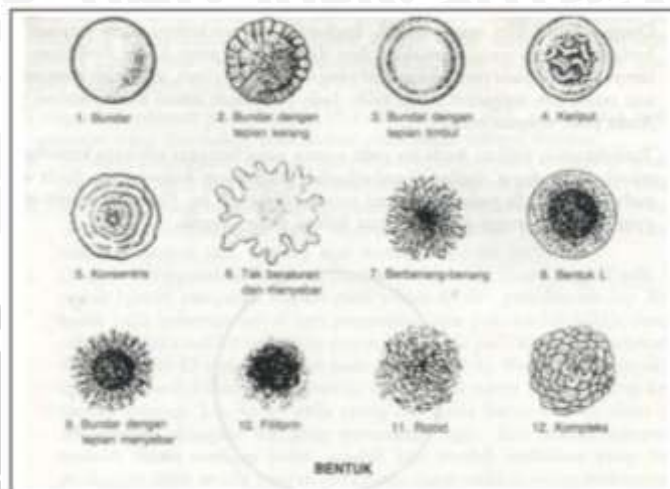
Hampir sama dengan goresan T, namun berpola goresan yang berbeda yaitu dibagi empat. Daerah 1 merupakan goresan awal sehingga masih mengandung banyak sel mikroorganisme. Goresan selanjutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal. Goresan kuadran dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Goresan kuadran (Sumber : Pradhika, 2008)

Menurut Hadioetomo (1985) bakteri dapat ditumbuhkan dalam suatu medium agar dan akan membentuk penampakan berupa koloni. Koloni sel bakteri merupakan sekelompok masa sel yang dapat dilihat dengan mata langsung. Semua sel dalam koloni itu sama dan dianggap semua sel itu merupakan keturunan (progeny) satu mikroorganisme dan karena itu mewakili sebagai biakan murni. Penampakan koloni bakteri dalam media lempeng agar menunjukkan bentuk dan ukuran koloni yang khas, dapat dilihat dari bentuk keseluruhan penampakan koloni, tepi dan permukaan koloni. Koloni bakteri dapat berbentuk bulat, tak beraturan dengan permukaan cembung, cekung atau datar serta tepi koloni rata atau bergelombang dan sebagainya. Pada medium agar miring penampakan koloni bakteri ada yang serupa benang (filamen),

menyebar, serupa akar dan sebagainya. Penampakan koloni dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Penampakan macam-macam bentuk koloni bakteri pada lempeng agar (Sumber : Hadioetomo, 1985)

Menurut Pradhika (2008) mengamati morfologi koloni bakteri merupakan tindakan pertama kali jika ingin mempelajari suatu jenis bakteri lebih lanjut, khususnya untuk tujuan identifikasi. Setelah mendapatkan kultur murni maka biakan yang diinginkan ditumbuhkan ke berbagai bentuk media untuk dikenali ciri koloninya.

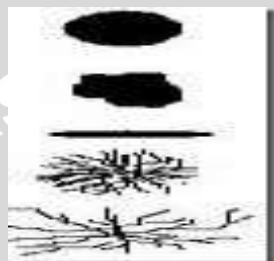
1. Pertumbuhan pada Cawan Petri

Ciri-ciri yang perlu diperhatikan adalah ukuran; *pinpoint/punctiform* (titik), *small* (kecil), *moderate* (sedang), *large* (besar). Seperti yang terlihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Ukuran koloni (Sumber : Pradhika, 2008)

Pigmentasi, mikroorganisme kromogenik sering memproduksi pigmen intraseluler, beberapa jenis lain memproduksi pigmen ekstraseluler yang dapat terlarut dalam media. Karakteristik optik diamati berdasarkan jumlah cahaya yang melewati koloni. *opaque* (tidak dapat ditembus cahaya), *translucent* (dapat ditembus cahaya sebagian), *Transparent* (bening). Bentuk : *circular*, *irregular*, *spindle*, *filamentous*, *rhizoid*. Bentuk koloni dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Bentuk koloni (Sumber : Pradhika, 2008)

Permukaan : halus mengkilap, Kasar, Berkerut, Kering seperti bubuk. Elevasi : *flat*, *raised*, *convex*, *umbonate* seperti terlihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Permukaan koloni (Sumber : Pradhika, 2008)

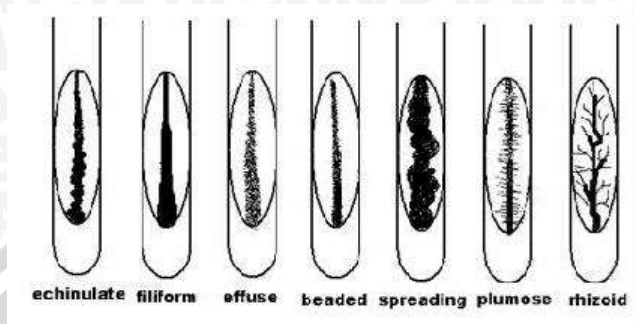
Margins : *entire*, *lobate*, *undulate*, *serrate*, *felamentous*, *curled* seperti terlihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Margins koloni (Sumber : Pradhika, 2008)

2. Pertumbuhan pada Agar Miring

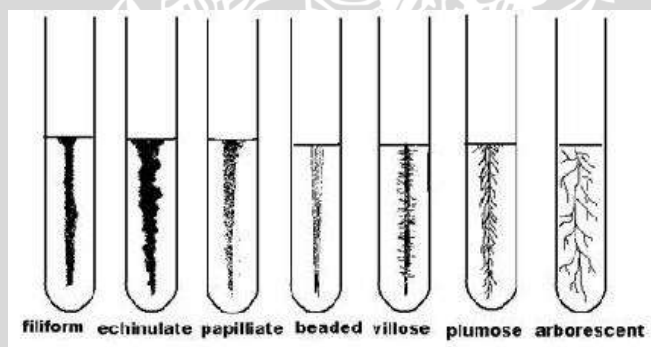
Ciri-ciri koloni diperoleh dengan menggoreskan jarum inokulum tegak dan lurus. Ciri koloni berdasarkan bentuk dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Bentuk koloni dalam media agar miring (Sumber : Pradhika, 2008)

3. Pertumbuhan pada Agar Tegak

Cara penanaman adalah dengan menusukkan jarum inokulum *needle* ke dalam media agar tegak. Ciri-ciri koloni berdasar bentuk dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Bentuk koloni dalam media agar tegak (Sumber : Pradhika, 2008)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan (sampel) yang digunakan dalam penelitian ini adalah alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar yang diperoleh dari Desa Padike, kecamatan Talango, Sumenep Madura. Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah media NA (*Nutrient Agar*) yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Media APDA (*Acid Potato Dextrose Agar*) yang dibuat dari ekstrak kentang, agar, glukosa, ditambah asam tartarat. Untuk pengujian kadar air bahan yang digunakan sampel (*Sargassum duplicatum*). Sedangkan pada pewarnaan gram dibutuhkan bahan yaitu ungu kristal, larutan iodium gram, alkohol 70%, safranin dan biakan murni.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur serta lemari es untuk menyimpan sampel. Adapun peralatan yang digunakan untuk uji TPC (*Total Plate Count*) Timbangan dengan ketelitian 0,0001 g, *autoclave*, inkubator 37°C, LAF (*Laminar Air Flow*) sebagai tempat untuk melakukan kegiatan pengenceran dan penanaman bakteri agar tidak terjadi kontaminasi, cawan petri 15 mm x 90 mm, tabung reaksi, rak tabung reaksi, alat penghitung koloni (*colony counter*), *stomacher*, *vortex*, pipet gelas atau pipetor: 1ml, bunsen, tusuk gigi, dan jarum ose.

Pada pengujian kadar air, peralatan yang digunakan adalah oven untuk mengeringkan botol timbang dan sampel pada suhu 105°C selama 24 jam. Desikator untuk mendinginkan botol timbang selama 15 menit dan untuk

menyerap uap air dari bahan. Botol timbang + tutup sebagai tempat sampel yang telah dihaluskan. Timbangan digital untuk menimbang botol timbang dan tutupnya dengan ketelitian 0.0001 gram. Mortar untuk menghaluskan sampel. Spatula untuk mengambil sampel. Jam/timer sebagai penanda waktu untuk perlakuan pengamatan. Loyang sebagai tempat/wadah peralatan dan bahan. Wadah plastik sebagai tempat bahan-bahan yang akan digunakan. *Crussable tank* untuk mengambil botol timbang dan tutupnya.

Peralatan 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, dan jarum ose berfungsi untuk mengambil biakan bakteri.

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 (Suryabrata, 1983).

Dalam penelitian ini, peneliti mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme yang menyebabkan pembusukan pada alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar. Sampel yang berupa alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar diisolasi dan diidentifikasi mikroorganismenya baik dari kondisi yang masih

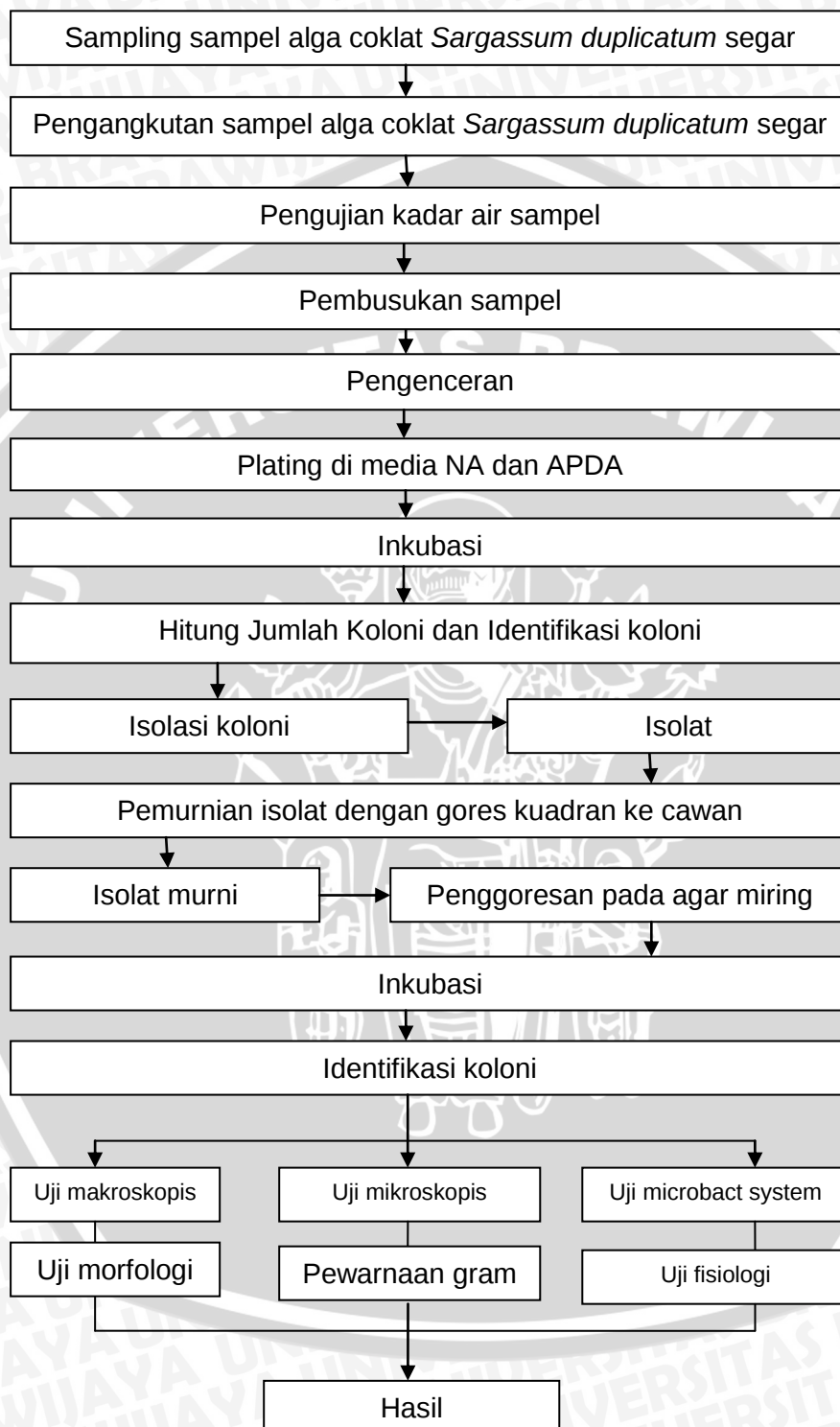
segar maupun ketika sampel telah mengalami pembusukan. Diamati ciri-ciri mikroorganismenya dan ditentukan jenis mikroorganisme tersebut.

Tahapan dalam penelitian ini terbagi menjadi 2 yaitu tahap isolasi dan tahap identifikasi. Tahap pertama adalah tahap isolasi mikroorganisme yaitu pengenceran sampel yang telah disampling terlebih dahulu, plating di media NA dan APDA, inkubasi, penghitungan jumlah koloni dan identifikasi koloni, isolasi koloni, pemurnian isolat dengan gores kuadran ke cawan, penggoresan isolat murni ke agar miring, dan diinkubasi lagi. Tahap selanjutnya yaitu tahap identifikasi mikroorganisme menggunakan uji makroskopis (uji morfologi), uji mikroskopis (pewarnaan gram), dan uji *microbact system* (uji fisiologi).

Kedua tahapan ini dilakukan pada sampel yang masih segar maupun yang telah mengalami pembusukan. Untuk parameter penunjang, masing-masing sampel juga diuji kadar airnya. Selain itu, dari sampel yang masih segar sampai yang telah mengalami pembusukan diukur pHnya 3 hari sekali menggunakan pH meter.

3.3 Kerangka Tahapan Penelitian

Adapun tahapan penelitian dapat dilihat pada skema dibawah ini :



Gambar 22. Alur proses penelitian

3.4 Kerangka Proses Penelitian

3.4.1 Sampling Sampel

Tahap pertama yaitu melakukan sampling sampel alga coklat *Sargassum duplicatum* segar dengan cara membeli alga tersebut dari beberapa penjual yang ada di Desa Padike, kecamatan Talango, Sumenep Madura. Kemudian sampel dibersihkan terlebih dahulu menggunakan air laut agar tidak cepat membusuk setelah itu dilakukan pengangkutan menggunakan transportasi darat. Selama pengangkutan sampel dikemas menggunakan *coolbox* agar tetap terjaga kesegarannya.

3.4.2 Uji Kadar Air

Tahap kedua dilakukan pengujian kadar air dengan metode thermogravimetri atau pengeringan (AOAC, 1990) pada sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*) yang masih segar untuk mengetahui nilai kadar air yang terdapat dalam sampel tersebut. Hal yang sama juga dilakukan pada sampel yang telah mengalami pembusukan.

3.4.3 Pembusukan Alga Coklat (*Sargassum duplicatum*)

Tahap ketiga adalah membusukkan sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar. Sampel dimasukkan ke dalam kantong plastik yang diberi rongga udara kemudian disimpan dalam suhu ruang $\pm 25^{\circ}\text{C}$ (Wikipedia^a, 2012). Penyimpanan dilakukan selama 1 bulan sampai alga membusuk.

3.4.4 Pengenceran

Sampel Alga coklat (*Sargassum duplicatum*) baik yang masih segar ataupun yang telah mengalami pembusukan kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan dimasukkan dalam aquadest yang telah disterilkan dengan

perbandingan 9:1 (dihitung sebagai pengenceran 10^{-1}). Setelah itu dihomogenkan menggunakan vortex. Pengenceran dilakukan mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-6} . Masing-masing sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*) ditimbang sebanyak 1 gram dan diencerkan menggunakan aquadest kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dicatat sebagai 10^{-1} . Dihomogenkan tabung reaksi I diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi II dihomogenkan dicatat sebagai 10^{-2} tabung reaksi II diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi III dihomogenkan dicatat sebagai 10^{-3} dan seterusnya sampai tabung reaksi VI.

3.4.5 Plating di media NA dan APDA

Tahap kelima yaitu melakukan plating dengan metode *pour plate* (metode tuang) pada media NA untuk pertumbuhan bakteri dan media APDA untuk pertumbuhan kapang dan khamir. Dari setiap pengenceran diambil 1ml sampel untuk diplating dalam cawan petri yang telah disterilkan. Setelah itu cawan petri diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C menggunakan inkubator.

3.4.6 Penghitungan Jumlah Koloni

Tahap berikutnya yaitu menghitung jumlah koloni yang terdapat dalam cawan petri yang telah diinkubasi selama 2 hari (48 jam). Penghitungan dilakukan menggunakan *colony counter* agar meminimalisir kesalahan dalam menghitung. Hanya cawan petri yang memiliki jumlah 30-300 koloni saja yang bisa digunakan untuk diisolasi koloninya.

3.4.7 Isolasi Koloni

Cawan petri yang telah dihitung jumlah koloninya dan memenuhi persyaratan 30-300 koloni kemudian diamati bentuk dan ciri-cirinya secara makroskopis, diambil yang dominan untuk diisolasi dan dimurnikan.

3.4.8 Pemurnian Isolat

Koloni mikroorganisme dominan yang telah diisolasi kemudian dimurnikan dengan metode gores kuadran agar didapat koloni tunggal.

3.4.9 Penggoresan Pada Agar Miring

Koloni tunggal yang didapat dari isolat murni kemudian digores kembali dalam agar miring yang bertujuan untuk memperoleh spesies individu yang dapat dipisahkan dari organisme lainnya. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C dalam inkubator.

3.4.10 Identifikasi Mikroorganisme

Tahap akhir yaitu melakukan identifikasi. Identifikasi dilakukan melalui beberapa uji yaitu uji makroskopis, uji mikroskopis, dan uji *microbact system*. Serangkaian uji ini dilakukan untuk mengetahui jenis mikroba apa yang menyebabkan kerusakan pada alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Pengambilan Sampling dan Pengangkutan *Sargassum duplicatum* Segar

Pengambilan sampel alga coklat *Sargassum duplicatum* diperoleh dari Desa Padike, kecamatan Talango, Sumenep Madura, perairan ini diperoleh alga coklat yang segar. Sampling dilakukan dengan cara membeli alga coklat

Sargassum duplicatum segar dari pedagang yang berbeda. Kemudian sampel diangkut menggunakan transportasi darat menuju kota Malang, sampel dimasukkan kedalam wadah yang kering, bersih dan terpisah dari bahan dan zat adiktif agar sampel tidak terkontaminasi dan tidak mengalami kerusakan akibat goncangan atau getaran.

3.5.2 Pengujian Kadar Air

Sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*) baik yang masih segar maupun yang telah mengalami pembusukan diuji kadar airnya menggunakan metode thermogravimetri (pengeringan).

Langkah awal yaitu membersihkan botol timbang dan tutupnya agar tidak ada kotoran yang menempel. Setelah dibersihkan, botol timbang dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam agar air menguap seluruhnya sehingga botol timbang benar-benar kering dan tidak mempengaruhi berat akhirnya. Pada saat dikeringkan tutupnya diambil dari oven dengan menggunakan penjepit agar lebih mudah pada saat pengambilan, kemudian dimasukkan dalam desikator selama ± 10 menit untuk menyerap uap air dan mendinginkan botol timbang beserta tutupnya. Selanjutnya botol ditimbang dengan timbangan analitik yang ketelitiannya 0,0001 gram dan dinyatakan sebagai A.

Sampel dimasukkan dalam botol timbang dan ditimbang beratnya (B) dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C dengan posisi tutup botol timbang miring agar uap air yang terdapat dalam botol timbang keluar dengan sempurna sampai berat konstan. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama ± 10 menit untuk menyerap uap air. Kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik yang ketelitiannya 0,0001 gram dan dinyatakan sebagai C. semua

langkah ini diulang sampai 3 kali ulangan agar nilai kadar air yang didapat lebih meyakinkan.

Sehingga kadar air untuk nilai Wb dan Db dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\% Wb)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir} \times 100\%}{\text{berat sampel}}$$

$$\text{Kadar air (\% Db)} = \frac{(\text{berat botol timbang} + \text{berat sampel}) - \text{berat akhir} \times 100\%}{\text{berat akhir} - \text{berat botol timbang}}$$

3.5.3 Pembusukan

Setelah tiba di kota Malang sampel tersebut disimpan pada suhu ruang $\pm 25^{\circ}\text{C}$, sampel dibiarkan pada suhu yang agak lembab agar sampel cepat mengalami proses pembusukan. Proses pembusukan ini dilakukan di dalam kantong plastik yang tertutup dan dilubangi untuk rongga udara dan disimpan di dalam *coolbox* agar sampel tidak mengalami kontaminasi dari luar.

3.5.4 Pembuatan Ekstrak Kasar Dari Alga Coklat (*Sargassum duplicatum*) Segar

Alga coklat *Sargassum duplicatum* yang masih segar dan yang telah mengalami pembusukan dicuci dan dibersihkan kemudian dihaluskan menggunakan mortar dimasukkan dalam larutan aquadest yang telah disterilisasi dengan perbandingan 9:1. Selanjutnya dilakukan isolasi dan identifikasi isolat terhadap bakteri.

3.5.5 Pengenceran Dan Plating

Mengambil sampel berupa ekstrak kasar alga coklat *Sargassum duplicatum* yang masih segar maupun yang telah mengalami pembusukan. ditambahkan 90ml aquadest (pengenceran 10^{-1}) kemudian dibuat seri pengenceran selanjutnya dari 10^{-2} sampai 10^{-6} menggunakan 9ml aquadest.

Selanjutnya diambil 1ml bahan dari setiap pengenceran 10^{-1} . Kemudian dibuat seri pengenceran selanjutnya dari 10^{-2} sampai 10^{-6} menggunakan 9ml aquadest. Selanjutnya diambil 1ml bahan dari setiap pengenceran dan dilakukan plating dengan metode *pour plate* (metode tuang) pada media NA (*Nutrient Agar*) dan Media APDA (*Acid Potato Dextrose Agar*).

Cara Kerja :

- a. Sampel yang masih segar maupun yang telah mengalami pembusukan (mengandung bakteri) dimasukkan ke dalam tabung pengenceran pertama ($1/10$ atau 10^{-1}) secara aseptis (dari preparasi suspensi). Perbandingan berat sampel dengan volume tabung pertama adalah 1 : 9 dan aquades yang digunakan sudah termasuk pengencer 10^{-1} . Setelah sampel masuk lalu dilarutkan dengan mengocoknya menggunakan vortex.
- b. Diambil 1 ml dari tabung 10^{-1} dengan pipetor 1ml kemudian dipindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis kemudian dikocok dengan vortex sampai homogen. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama, hal yang perlu diingat bahwa tip yang digunakan harus selalu diganti, artinya setiap tingkat pengenceran digunakan tip steril yang berbeda/baru. Prinsipnya bahwa tip tidak perlu diganti jika memindahkan cairan dari sumber yang sama.

3.5.6 Hitung dan Isolasi Mikroba

Isolat bakteri ditumbuhkan pada media NA dan APDA, dihitung jumlah koloninya dan juga dihitung jumlah koloni yang sama ciri-cirinya. selanjutnya diambil bakteri yang berbeda bentuk dan ukuran kemudian dilakukan tahap pemurnian. Menurut Pradhika (2009) sebaiknya didapatkan 30-300 koloni per cawan dengan alasan utama adalah kesalahan statistik, karena kisaran 30-300 koloni ini digunakan secara internasional.

3.5.7 Pemurnian

Dari metode *direct plating* yang dilakukan saat di lapangan, diamati koloni-koloni yang tumbuh sesudah inkubasi selama satu hingga dua minggu. Banyaknya koloni dihitung, kemudian koloni-koloni yang bentuk dan warnanya berbeda diisolasi (paling dominan). Masing-masing koloni dilakukan purifikasi, yaitu dengan cara menggoreskan 1 ose koloni arah zig-zag pada cawan petri yang berisi media, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 1-2 hari. Sesudah tumbuh koloni-koloni baru dilakukan penggoresan ulang pada media hingga didapatkan koloni tunggal.

3.5.8 Penggoresan Pada Agar Miring

Penggoresan dilakukan untuk mengencerkan mikroorganisme sehingga diperoleh individu spesies yang dapat dipisahkan dari organisme lainnya. Setiap koloni yang terpisah yang tampak pada agar miring tersebut setelah inkubasi berasal dari satu sel tunggal. Menurut Aini (2010) Teknik untuk memperoleh biakan murni ada 3 cara, yaitu: teknik penggoresan agar, teknik agar tuang, teknik agar sebar.

3.5.9 Identifikasi Mikroba

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan morfologi koloni, sifat gram dan motilitas bakteri. Identifikasi ini dilakukan melalui 2 tahap yaitu secara makroskopis, serta mikroskopis. Menurut Purnomo (2005) mengamati morfologi bakteri meliputi : bentuk, ukuran, struktur luar, dan pola penataan bakteri. Morfologi bakteri dapat berupa morfologi koloni dan morfologi sel bakteri.

3.5.9.1 Uji Makroskopis

Setelah didapatkan koloni murni, selanjutnya koloni tersebut ditanam di dalam medium NA dan APDA baru dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan secara makroskopis dengan cara diamati dengan mata telanjang atau dengan bantuan kaca pembesar. Berdasarkan pengamatan visual pada bakteri yang didapat, maka bakteri ini dapat dibedakan berdasarkan warna, bentuk, dan ukuran koloni yang tumbuh pada media NA dan APDA Agar setelah masa inkubasi 24 - 48 jam pada suhu 37°C.

3.5.9.2 Uji Mikroskopis

Selanjutnya dilakukan pengujian secara mikroskopis dimana dilakukan tahap pewarnaan/pengecatan bakteri. Tahap ini dilakukan untuk mengetahui sel bakteri, apakah tergolong dalam bakteri gram positif atau gram negatif. 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 *diblown* sampai kering sehingga dapat mempermudah untuk proses pewarnaan gram.

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 iodum untuk memperkuat warnanya dan didiamkan pula selama satu menit lalu dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa iodum. 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. Namun sebelumnya pada preparat ditetesi minyak imersi untuk memperjelas indeks bias pada mikroskop. Diamati bentuk bakterinya dan motilitasnya.

3.5.9.3 Uji Fisiologi

Secara morfologis, biakan maupun sel bakteri yang berbeda dapat tampak serupa. Karena itu ciri fisiologis atau biokimiawi merupakan kriteria yang amat penting di dalam identifikasi spesimen yang tidak dikenal. Uji fisiologi biasanya identik dengan uji biokimia. Uji-uji biokimia yang biasanya dipakai dalam kegiatan identifikasi bakteri atau mikroorganisme yang antara lain uji katalase, koagulase, uji nitrit, hidrolisis gelatin, uji hidrolisis kanji, uji hidrogen sulfid dan lain-lain.

3.5.9.4 Uji *Microbact System*

Menurut Murtiningsih (1997) prinsip pengujian Sistem Microbact™ Gram-negatif adalah sistem mikro-substrat standar yang dirancang untuk mensimulasikan substrat biokimia konvensional yang digunakan untuk identifikasi *Enterobacteriaceae* dan umum aneka basil Gram-negatif (MGNB). Identifikasi organisme didasarkan pada perubahan pH dan substrat utilisations sebagaimana ditetapkan oleh metodologi referensi diterbitkan. Gram-negatif terdiri dari dua strip substrat yang terpisah, 12A dan 12B. Setiap strip terdiri dari 12 substrat biokimia yang berbeda. Strip 12A dapat digunakan sendiri untuk identifikasi glukosa oksidase fermentor-negatif, nitrat-positif terdiri dari 15 genera dan mungkin berguna untuk *Enterobacteriaceae* patogen dari spesimen skrining enterik dan urin atau identifikasi isolat umum lainnya. Strip 12B dapat digunakan bersama dengan strip 12A untuk identifikasi oksidase positif, nitrat-negatif, dan glukosa-nonfermenters (MGNB) serta *Enterobacteriaceae*. Catatan: 12 substrat yang terkandung dalam strip 12A tersedia dalam format lempeng yang solid, disebut sebagai 12E. Strip 12B dapat digunakan bersama 12E, tetapi dalam nampan terpisah. Format lempeng 24E padat berisi 24 substrat yang terkandung dalam kombinasi dari kedua 12A dan 12B strip.

1. Mengatur prosedur isolasi

Sebuah 18-24 jam kultur murni dari organisme harus diidentifikasi harus diperoleh. Media agar-agar yang sesuai, misalnya *Mac Conkey* (CM0007), Eosin Metilen Biru (CM0069), Darah atau *Chocolate* (CM0331 dan SR0050), dapat digunakan untuk menumbuhkan organisme. Sebelum digunakan, melakukan tes oksidase pada organisme untuk diidentifikasi. Catatan: organisme oksidase positif tidak dapat diidentifikasi menggunakan Microbact™ 12A (12E) saja dan harus diperiksa dengan Microbact™ 24E (12A (12E) + 12B).

2. Persiapan inokulum

Pilih koloni terisolasi 1-3 dari budaya jam 18-24 dan emulsi dalam 2.5ml larutan garam steril jika 12A / E saja sedang digunakan atau 5,0 ml saline steril jika 24E (12A / E dan 12B) yang digunakan. Aduk untuk menyiapkan suspensi homogen. Jika organisme telah tumbuh pada medium selektif dan koloni kecil atau dihambat, mungkin perlu untuk emulsi koloni di ml air pepton 5.0 dan menetaskan pada $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama empat jam. Menggunakan pipet steril, transfer satu tetes air pepton budaya ke dalam volume yang sesuai (lihat Bagan Prosedur) dari larutan garam steril (0,85%).

3. Inokulasi

Sumur set substrat individu dapat terpapar dengan memotong tag akhir strip penyegelan dan perlahan-lahan mengelupas kembali. Tempatkan strip atau piring di baki memegang dan menggunakan pipet Pasteur steril tambahkan 4 tetes (sekitar 100 ml) dari suspensi bakteri, atau setengah isi masing-masing baik di set. Ketika *Actinobacillus* atau *Pasteurella* sp. per ml of saline suspension. diduga (tidak ada pertumbuhan pada media yang mengandung garam empedu atau pada media kekurangan dalam darah atau serum) tambahkan satu tetes serum steril (SR0035) per ml suspensi garam. Menggunakan pipet steril atau botol penetes, overlay substrat digarispawahi pada baki memegang dengan minyak mineral steril, yaitu sumur 1, 2 dan 3 untuk 12A (12E) atau 24E dan sumur 8 dan 12 untuk 12B atau sumur 20 dan 24 untuk 24E. (8 untuk 12B dan 20 untuk 24E tidak overlayed dengan minyak, untuk oksidase-positif, aneka basil Gram-negatif.)

4. Inkubasi

Reseal baris diinokulasi dengan segel perekat dan menulis nomor identifikasi spesimen pada tag berakhir dengan spidol. Inkubasi pada $35^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama 18-24 jam. Ketika *fluorescens* muncul sebagai organisme pilihan,

mengulang ujian pada suhu inkubasi $25^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$. Untuk menentukan kemurnian inokulum, disarankan untuk menyuntik media padat non-selektif dengan suspensi tes untuk bertindak sebagai kemurnian budaya cek.

5. Membaca strip tes

Para 12A (12E) pita harus dibaca pada 18-24 jam. Strip 12B/24E dibaca pada 24 jam ketika mengidentifikasi Enterobacteriaceae. Semua sistem harus dibaca setelah 48 jam untuk identifikasi Miscellaneous basil Gram-negatif. Lepaskan strip atau nampan dari inkubator, mengupas pita segel. Catat semua hasil yang positif. Reaksi dievaluasi sebagai positif atau negatif dengan membandingkan mereka dengan bagan warna. Catat hasil dalam pos yang sesuai pada formulir laporan. Untuk membantu dalam menafsirkan reaksi.

- 12A (12E) atau 24E

Tambahkan reagen berikut: 8 (Indole produksi) tambahkan 2 tetes Indole (Kovacs) reagen. Evaluasi dalam waktu 2 menit penambahan reagen. 10 (Voges-Proskauer reaksi), tambahkan 1 tetes setiap reagen dan reagen VPI VPII. Evaluasi 15 sampai 30 menit setelah penambahan reagen, tambahkan 1 tetes reagen TDA. Uji dapat dievaluasi segera setelah penambahan reagen.

-12B/24E

Sumur gelatin (baik 1 untuk 12B dan baik 13 untuk 24E) harus dibaca pada 24-48 jam untuk Enterobacteriaceae dan 48 jam untuk aneka basil Gram-negatif (MGNB). Hidrolisis gelatin ditandai dengan penyebaran partikel hitam seluruh sumur. Reaksi arginin (baik 12 untuk 12B dan baik 24 dari 24E) ditafsirkan berbeda pada 24 jam dan 48 jam inkubasi. 24 Jam Inkubasi (Enterobacteriaceae): kuning – negatif, hijau-biru – positif. 48 Jam Inkubasi (MGNB): kuning-hijau – negatif, biru – positif.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengujian Kadar Air

Dalam penelitian ini pengujian kadar air menggunakan metode thermogravimetri (pengeringan) (AOAC,1990). Sampel berupa alga coklat jenis *Sargassum duplicatum* baik yang masih segar maupun yang telah mengalami pembusukan diuji kadar airnya. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan nilai kadar air di Tabel 5.

Tabel 5. Nilai kadar air sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*)

Sampel	% wb	% db
Segar	80,186 % $\pm$ 0,190088	404,77 % $\pm$ 4,85706
Busuk	87,486 % $\pm$ 1,087673	702,71 % $\pm$ 73,94685

Keterangan. wb : wet basis (berat basah)
db : dry basis (berat kering)

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa kadar air yang terdapat dalam sampel busuk lebih besar daripada yang terdapat dalam sampel kering. Nilai kadar air sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*) yang telah mengalami pembusukan yaitu 87,486% untuk berat basahya dan 702,71% untuk berat keringnya. Hal ini dikarenakan terjadi pembongkaran senyawa-senyawa yang terdapat dalam bahan pangan tersebut (alga coklat *Sargassum duplicatum*) yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme. Semakin busuk sampel yang disimpan maka semakin banyak pula kadar air yang terkandung dalam sampel. Selain itu, mikroorganisme yang tumbuh semakin banyak dan cepat mengalami proses pembusukan.

Menurut Achyadi dan Afiana (2004), kandungan air dalam bahan makanan dapat mempengaruhi daya tahan makanan terhadap serangan mikroorganisme yang dinyatakan dalam aktivitas air (a_w) yaitu jumlah air bebas

yang digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya, dimana semakin tinggi kadar air yang terkandung dalam bahan pangan, maka semakin cepat rusak karena aktivitas mikroorganisme. Mikroba mempunyai nilai kelembaban optimum. Pada umumnya untuk pertumbuhan ragi dan bakteri diperlukan kelembaban yang tinggi diatas 85%, sedangkan untuk jamur diperlukan kelembaban yang rendah dibawah 80% (Dewangga, 2011).

Menurut Winarno (1996), alginat merupakan komponen utama dari getah ganggang coklat (*Phaeophyceae*), dan merupakan senyawa penting dalam dinding sel spesies ganggang yang tergolong dalam kelas *Phaeophyceae*. Secara kimia, alginat merupakan polimer murni dari asam uronat yang tersusun dalam bentuk rantai linier yang panjang. Alginat membentuk garam yang larut dalam air dengan *kation monovalen*, serta *amin* dengan berat molekul rendah, dan *ion magnesium*. Oleh karena alginat merupakan molekul linier dengan berat molekul tinggi, maka mudah sekali menyerap air.

4.2 pH

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, pH alga coklat (*Sargassum duplicatum*) yang masih segar adalah 7,09, sedangkan pH alga coklat (*Sargassum duplicatum*) yang telah mengalami pembusukan adalah 8,17. pH diukur secara berkala yaitu 3 hari sekali menggunakan pH meter dari kondisi segar sampai mengalami pembusukan. pH alga coklat *Sargassum duplicatum* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. pH Alga coklat (*Sargassum duplicatum*)

Hari	pH
Ke-0	7,09
Ke-1	7,15
Ke-2	7,21
Ke-3	7,48
Ke-4	7,63
Ke-5	7,72
Ke-6	7,86
Ke-7	8,06
Ke-8	8,17

Dari tabel 6 dapat dilihat bahwa semakin hari pH semakin tinggi (basa) hal ini dikarenakan akibat adanya senyawa-senyawa basa yang dihasilkan selama pertumbuhan bakteri tersebut. Pergesaran pH ini dapat sedemikian besar sehingga menghambat pertumbuhan seterusnya organisme itu.

Menurut *Schlegel* (1994) Kebanyakan organisme hidup paling baik, kalau kadar ion H^+ dan ion OH^- sama ($pH=7$). Banyak bakteri mengutamakan nilai pH yang lebih tinggi, jadi lingkungan yang basa lemah, seperti misalnya penitrifikasi, *Rhizobium*, *Actinomyceten*, bakteri pengurai ureum. Hanya sedikit yang tahan asam atau bahkan asidofil. Cendawan-cendawan mengutamakan nilai pH rendah, jika media biak dengan berbagai pH ditanam dengan tanah, maka pada pH 5,0 yang berkembang terutama cendawan, sedangkan pada pH 8,0 terutama bakteri.

4.3 Perhitungan Koloni

Semakin banyak koloni yang tumbuh pada permukaan agar, maka antar koloni dapat saling mempengaruhi baik menekan atau menstimulus pertumbuhan koloni tetangganya dan juga perebutan nutrisi dan tempat yang semakin ketat. Oleh karena itulah banyak koloni yang “hilang” sehingga menampilkan pengurangan koloni yang muncul pada cawan. Alasan inilah yang membatasi kisaran hitung pada 250 atau 300 koloni.

Perhitungan koloni bakteri dilakukan menggunakan perhitungan angka lempeng total. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan nilai perhitungan koloni bakteri pada Tabel 7.

Tabel 7. Nilai perhitungan koloni bakteri

Isolat Pada Sampel	Nilai Perhitungan Koloni Bakteri
Segar	$6,1 \times 10^6$ cfu/g
Busuk	$2,2 \times 10^8$ cfu/g

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa jumlah koloni bakteri yang terdapat pada isolat sampel alga coklat *Sargassum duplicatum* yang telah mengalami pembusukan lebih banyak daripada isolat pada sampel yang masih segar. Hal ini disebabkan karena terjadinya proses pembongkaran senyawa-senyawa yang terdapat dalam sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*). Menurut Fardiaz (1992), makanan yang kaya akan karbohidrat mudah diserang oleh mikroorganisme tertentu karena karbohidrat lebih mudah dipecah dan digunakan oleh mikroorganisme dibanding dengan protein dan lemak.

4.4 Isolasi Mikroorganisme

Isolasi mikroorganisme mengandung arti proses pengambilan mikroorganisme dari lingkungannya untuk kemudian ditumbuhkan dalam suatu medium di laboratorium (Sarles, 1956). Proses isolasi ini menjadi penting dalam mempelajari identifikasi mikrobial, uji morfologi, fisiologi, dan serologi (Soetarto, 2010). Sedangkan pengujian sifat-sifat tersebut di alam terbuka sangat mustahil untuk dilakukan (Pelczar, 1986).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, pada media NA didapatkan 3 isolat koloni bakteri pada sampel yang masih segar dan 10 isolat koloni bakteri pada sampel yang telah mengalami pembusukan. Sedangkan pada media APDA tidak tampak pertumbuhan mikroorganisme baik dari sampel yang masih segar

maupun yang telah mengalami pembusukan. Karakteristik dan jumlah isolat koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Karakteristik dan jumlah isolat koloni bakteri

No	Media	Sampel	Jenis Isolat	Karakteristik Isolat	Jumlah Koloni (cfu/gr)		Rata-rata (10 ⁻⁵)	Persentase jumlah koloni (%)
					10 ⁻⁵	10 ⁻⁶		
1.	NA	Segar	Isolat 1	Warna kekuningan, berbentuk bulat, tepian rata	11	12	66	28,45
			Isolat 2	Warna putih, berbentuk oval, ukuran kecil, tepian rata	30	10	65	28,02
			Isolat 3	Warna kuning, berbentuk bulat, tepian tidak rata, elevasi cembung	42	16	101	43,53
		Busuk	Isolat 1	Warna putih, bentuk bulat, tepian tidak rata	21	12	71	7,00
			Isolat 2	Warna kekuningan, bentuk oval, tepian rata	18	11	64	6,31
			Isolat 3	Warna kuning, bentuk bulat, tepian rata, cembung	42	32	181	17,85
			Isolat 4	Warna krem, bentuk bulat, tepian tidak rata, elevasi datar	54	45	252	24,85

Tabel. 8 Lanjutan

No	Media	Sampel	Jenis Isolat	Karakteristik Isolat	Jumlah Koloni (cfu/gr)		Rata-rata (10^{-5})	Persentase Jumlah Koloni (%)
					10^{-5}	10^{-6}		
1.	NA	Busuk	Isolat 5	Warna putih, bentuk oval, tepian rata, elevasi datar	14	8	47	4,64
			Isolat 6	Warna kekuningan, bentuk bulat, tepian tidak rata	19	10	60	5,92
			Isolat 7	Warna kekuningan, bentuk oval, tepian rata	25	18	103	10,15
			Isolat 8	Warna putih, bentuk tidak beraturan, tepian tidak rata	15	12	68	6,71
			Isolat 9	Warna putih, bentuk oval, ukuran kecil, tepian rata	30	19	110	10,85
			Isolat 10	Warna putih, bentuk oval, tepian tidak rata	16	10	58	5,72
2.	APDA	Segar	Isolat tidak tumbuh	-	-	-	-	-
		Busuk	Isolat tidak tumbuh	-	-	-	-	-

Sampel alga coklat *Sargassum duplicatum* segar maupun yang telah mengalami pembusukan diisolasi mikroorganismenya. Isolasi dilakukan pada media NA dan APDA. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, ditemukan 3 isolat koloni bakteri pada sampel alga coklat *Sargassum duplicatum* segar dengan jumlah 83 koloni bakteri pada pengenceran 10^{-5} dan 38 koloni bakteri pada pengenceran 10^{-6} . Kemudian 1 isolat yang paling dominan (isolat ke-3) dihitung dari jumlah koloni yang paling banyak yaitu 58 koloni dimurnikan dalam agar miring. Setelah diamati secara makroskopis koloni bakteri yang dominan tersebut

memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, tepiannya tidak rata, elevasinya cembung, dan berwarna kuning. Sedangkan pada sampel yang telah mengalami pembusukan ditemukan 10 isolat koloni bakteri dengan jumlah 254 koloni bakteri pada pengenceran 10^{-5} dan 177 koloni bakteri pada pengenceran 10^{-6} . Kemudian 2 koloni bakteri yang paling dominan (isolat ke-3 dan ke-4) dihitung dari jumlah koloni yang paling banyak dimurnikan dalam agar miring. Setelah diamati, 1 koloni bakteri (isolat ke-3) memiliki ciri-ciri yang sama dengan koloni bakteri yang terdapat pada sampel segar sedangkan 1 koloni bakteri dominan yang lain (isolat ke-4) memiliki ciri-ciri koloni bakteri berbentuk bulat, tepiannya tidak rata, elevasinya datar, dan berwarna krem. Sedangkan pada media APDA tidak ditemukan biakan kapang/khamir.

4.5 Identifikasi Bakteri

4.5.1 Uji Makroskopis

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan secara makroskopis, terdapat 2 isolat koloni bakteri yang dominan pada media NA. 1 isolat koloni bakteri yang paling dominan pada sampel alga coklat *Sargassum duplicatum* segar dengan persentase jumlah koloni sebesar 83,47% dan 1 isolat koloni bakteri yang paling dominan pada sampel yang telah mengalami pembusukan dengan persentase jumlah koloni sebesar 58,47%. Karakteristik morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Karakteristik morfologi koloni bakteri

No.	Sampel	Nama Isolat	Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri				
			Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Gram
1.	Segar	Isolat ke-3	Bulat	Tidak rata	Cembung	Kuning	Negatif
2.	Busuk	Isolat ke-4	Bulat	Tidak Rata	Datar	Krem	Negatif

Menurut Hadioetomo (1985) penampakan koloni bakteri dalam media lempeng agar menunjukkan bentuk dan ukuran koloni yang khas, dapat dilihat dari bentuk keseluruhan penampakan koloni, tepi dan permukaan koloni. Koloni bakteri dapat berbentuk bulat, tidak beraturan dengan permukaan cembung, cekung, atau datar serta tepi koloni rata bergelombang dan sebagainya.

4.5.2 Uji Mikroskopis

Identifikasi bakteri dilakukan terhadap isolat-isolat yang dominan pada masing-masing sampel alga coklat (*Sargassum duplicatum*) baik yang masih segar maupun yang telah mengalami pembusukan. Menurut Holt et al (1984) dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimia yaitu uji pewarnaan gram, uji motilitas, pengamatan bentuk sel, warna koloni, ukuran koloni, kemampuan memproduksi katalase dan oksidase. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan secara mikroskopis, didapatkan ciri bakteri seperti pada Tabel 10.

Tabel 10. Ciri bakteri secara mikroskopis

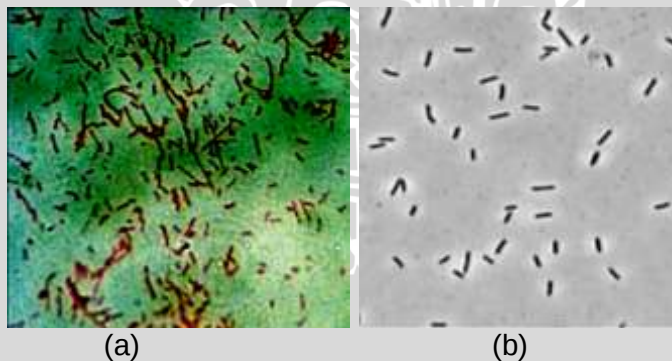
Parameter	Isolat Pada Sampel	
	Segar	Busuk
Warna koloni	Kuning	Krem
Diameter koloni (mm)	1,5-3,0	1,2-2,5
Reaksi gram	Negatif	Negatif
Bentuk sel	Batang bengkok	Batang
Motilitas	Motil	Motil
Oksidase	Positif	Negatif
Katalase	Negatif	Negatif
Produksi indol	Negatif	Negatif
Penggunaan karbon dari citrate	Negatif	Positif
Uji TSIA	As/As	As/As
VP	Positif	Positif

Keterangan	:
+	: 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

Dari hasil pengujian yang telah dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan fisiologi didapatkan dua koloni bakteri dominan yang terdapat dalam sampel alga coklat *Sargassum dulicatum*. Pada sampel segar, koloni bakteri yang dominan adalah *Vibrio alginolyticus* dan pada sampel yang telah membusuk *Enterobacter gergoviae*.

4.5.3 *Vibrio alginolyticus*

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan secara mikroskopis dengan perbesaran 1000x, didapatkan gambar sel bakteri yang paling dominan yang terdapat pada sampel segar. Sel bakteri yang terdapat dalam isolat sampel segar yaitu sel bakteri *Vibrio alginolyticus* seperti pada Gambar 23.



Gambar 23 a. Sel bakteri *Vibrio alginolyticus* (perbesaran 1000x)
23 b. Sel bakteri *Vibrio alginolyticus* (perbesaran 1000x: Muyzer, 2011)

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan secara fisiologi, didapatlah ciri bakteri *Vibrio alginolyticus* seperti pada Tabel 11.

Tabel 11. Ciri bakteri *Vibrio alginolyticus* secara fisiologi

No	Uji Biokimia	<i>Vibrio alginolyticus</i>
1	Spora	-
2	Oksidase	+
3	Motilitas	+
4	Nitrat	+
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H ₂ 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	-

Keterangan :

- +
 -
- : hasil uji positif
: hasil uji negatif

Menurut *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984) karakteristik dari bakteri *Vibrio alginolyticus* dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Karakteristik *Vibrio alginolyticus*

No	Karakteristik	<i>Vibrio alginolyticus</i>
1	Dera: 3-12 flagela kutub	-
2	Lateral flagela ketika ditumbuhkan pada media padat	+
3	Musim kawin pada media padat yang kompleks	+
4	Lurus batang	+
5	PHB-akumulasi	-
6	Pigmentasi:	-
	Kuning-oranye	-
	Biru tua	-
	Merah	-
7	Arginine dihydrolase	-
8	Oksidase	+
9	Pengurangan NO_3^- NO_2^-	+
10	Luminescence	-
11	Gas dari D-glukosa	-
12	Produksi acetoin dan atau diacetyl	+
13	Na^+ diperlukan untuk pertumbuhan	+
14	Kebutuhan untuk pertumbuhan organik	-
	Faktor	
	Pertumbuhan di:	
15	4°C	-
16	30°C	+
17	35°C	+
18	40°C	+
	Produksi:	
19	Amilase	+
20	Gelatinase	+
21	Lipase	+
22	Alginase	-
23	Kitinase	+
	Pemanfaatan:	
24	D-xylose	-
25	L-arabinosa	-
26	D-Mannose	d
27	D-galaktosa	d
28	Sukrosa	+
29	Trehalosa	+
30	Selobiosa	-
31	Melibiose	-
32	Laktosa	-
33	Salisin	-
34	D-glukonat	+
35	D-Glucuronate	-

Tabel 12. Lanjutan

No	Karakteristik	<i>Vibrio alginolyticus</i>
36	D-Galacturonate	-
37	Propionat	+
38	Valerat	+
39	Heptanoate	+
40	Glutarat	-
41	DL-Malate	+
42	β -hidroksibutirat	-
43	DL- Lactate	+
44	Citrate	+
45	α -Ketoglutarate	+
46	Pyruvate	+
47	D-Mannitol	+
48	D-Sorbitol	-
49	Meso-Inositol	-
50	Ethanol	d
51	p-Hydroxybenzoate	-
52	L- α -Alanine	+
53	D- α -Alanine	+
54	β -Alanine	-
55	L-Serine	+
56	L-Leucine	+
57	L-Glutamate	+
58	γ -Aminobutyrate	-
59	δ -Valerate	-
60	L-Histidine	+
61	L-Proline	+
62	L-Tyrosine	+
63	Putrescine	d
64	L-Rhamnose, malonate, benzoate, spermine, betaine, sarcosine, hippurate	-

Dari Tabel 11 dan Tabel 12 dapat dilihat bahwa ada beberapa jenis uji biokimia yang hasilnya belum sesuai dengan *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984) tentang karakteristik dari bakteri *Vibrio alginolyticus*. Seperti lysin, sitrat dan gelatin yang secara fisiologi hasilnya negatif (-) sedangkan dalam *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984) hasilnya positif (+). Hal ini dikarenakan bakteri merupakan makhluk hidup yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh faktor lingkungan, serta cara mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri tersebut. Faktor-faktor ini dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme

bakteri sehingga hasil yang didapat tidak sama persis dengan *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984). Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Selain itu dilihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi (Waluyo, 2004).

Pengujian ini dilakukan menggunakan *microbact system* yang parameter ujinya tidak semuanya sama dengan *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984), karena bakteri yang diuji merupakan jenis bakteri gram negatif. Dari hasil pengujian *microbact system kit* menunjukkan spesies bakteri *Vibrio alginolyticus* dengan tingkat persentase 93,82%. Hasil dari pengujian *microbact system* dapat dilihat pada Lampiran 6.

Vibrio adalah salah satu jenis bakteri yang tergolong dalam kelompok *marine bacteria*. Bakteri ini umumnya memiliki habitat alami di laut (Wikipedia^b, 2012). Menurut Fahri (2009) klasifikasi ilmiah dari jenis bakteri *Vibrio alginolyticus* ini dapat dilihat sebagaimana dalam susunan sebagai berikut :

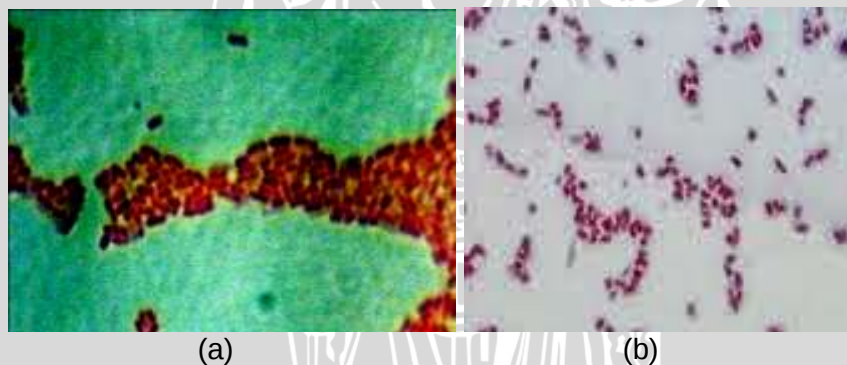
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Vibrionales
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Type species	: <i>Vibrio alginolyticus</i>

Vibrio alginolyticus dicirikan dengan pertumbuhannya yang bersifat swarm pada media padat non selektif. Ciri lain adalah gram negatif, motil, bentuk batang, fermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan maltosa, membentuk kolom berukuran 0.8 - 1.2 cm yang berwarna kuning pada media TCBS. bakteri ini adalah lysine positif, pengurangan nitrat, lipase, gelatinase, oxidase-fermentation

test tetapi negatif arginine, urease dan luminesensi. Sebanyak 10 jenis yang diisolasi berkembang dalam 1% peptone medium yang berisi 3, 6, 8, 10% klorid sodium tetapi tidak mengakar 0% NaCl. Jenis ini memproduksi asam dari glukosa, glycerol, mannitol, sucrose tetapi bukan dari lactose, salicin. Semua dari jenis ini tidak memproduksi gas dari glukosa. Didalam kasus dari tajin pangkat dengan diturunkan, ada hanya 10% reaksi positif dan VP reaksi mempunyai 20% reaksi positif (Fahri, 2009).

4.5.4 *Enterobacter gergoviae*

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan secara mikroskopis dengan perbesaran 1000x, didapatkan gambar sel bakteri yang paling dominan yang terdapat pada sampel busuk. Sel bakteri yang terdapat dalam isolat sampel busuk yaitu sel bakteri *Enterobacter gergoviae* seperti pada Gambar 24.



Gambar 24 a. Sel bakteri *Enterobacter gergoviae* (perbesaran 1000x)
24 b. Sel bakteri *Enterobacter gergoviae* (perbesaran 1000x: Rose, 2012)

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan secara fisiologi, didapatlah ciri bakteri *Enterobacter gergoviae* seperti pada Tabel 13.

Tabel 13. Ciri bakteri *Enterobacter gergoviae* secara fisiologi

No	Uji Biokimia	<i>Enterobacter gergoviae</i>
1	Spora	-
2	Oksidase	-
3	Motilitas	+
4	Nitrat	-
5	Lysin	-
6	Ornithin	-
7	H ₂ 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	Laktosa	-
23	Arabinosa	-
24	Adonitol	-
25	Raffinosa	-
26	Salicin	-
27	Arginin	-
28	Katalase	-
29	Koagulase	-

Keterangan :

- + : hasil uji positif
- : hasil uji negatif

Menurut *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984) karakteristik dari bakteri *Enterobacter gergoviae* dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Karakteristik *Enterobacter gergoviae*

No	Karakteristik	<i>Enterobacter gergoviae</i>
1	KCN	-
2	Urease	+
3	Gelatinase	-
	Dekarboksilase :	
4	Lisin	+
5	Ornithine	+
6	Arginin	-
7	β -Xilosidase	-
	Asam dari :	
8	Sorbitol	-
9	Sukrosa	+
10	Rafinosa	+
11	α -metilglukosida	-
12	Mucate	-
13	Garam sitrat (Simmons')	+
14	Indole	-
15	Pigmen kuning yang terbentuk	-

Dari Tabel 13 dan Tabel 14 dapat dilihat bahwa ada beberapa jenis uji biokimia yang hasilnya belum sesuai dengan *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984) tentang karakteristik dari bakteri *Enterobacter gergoviae*. Seperti lysin, ornithin, sukrosa dan raffinosa yang secara fisiologi hasilnya negatif (-) sedangkan dalam *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984) hasilnya positif (+). Hal ini dikarenakan bakteri merupakan makhluk hidup yang pertumbuhannya dipengaruhi oleh faktor lingkungan, serta cara mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri tersebut. Faktor-faktor ini dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme bakteri sehingga hasil yang didapat tidak sama persis dengan *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984). Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Selain itu dilihat kemampuannya

menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi (Waluyo, 2004).

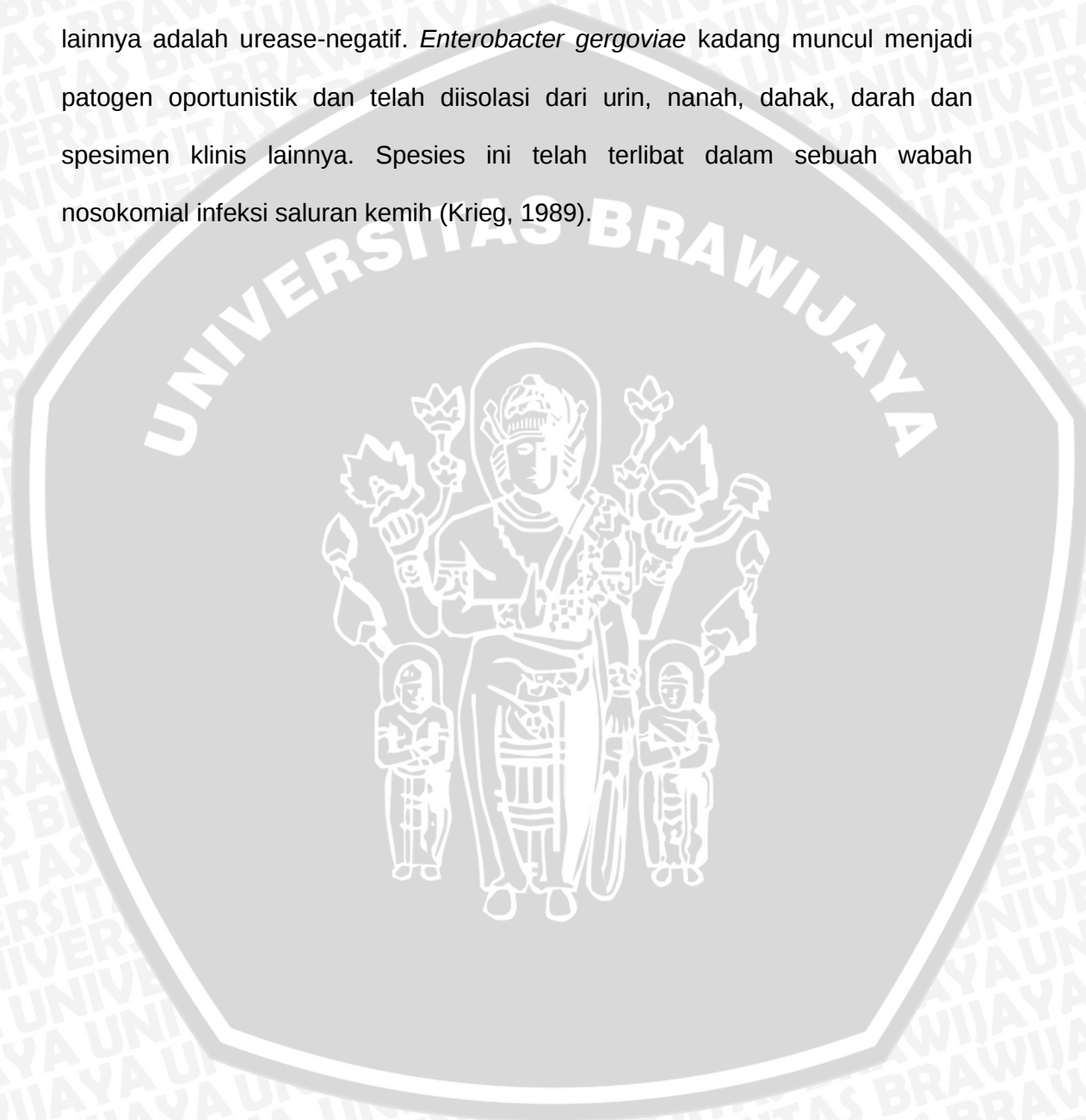
Pengujian ini dilakukan menggunakan *microbact system* yang parameter ujinya tidak semuanya sama dengan *Bergey's Manual of Systematic bacteriology* (1984), karena bakteri yang diuji merupakan jenis bakteri gram negatif. Dari hasil pengujian *microbact system* menunjukkan spesies bakteri *Enterobacter gergoviae* dengan tingkat persentase 93,81%. Hasil dari pengujian *microbact 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^c, 2010). Akan tetapi, bakteri *Enterobacter gergoviae* juga mempunyai manfaat lain yaitu sebagai pelarut zat P dalam meremediasi tanah tercemar. Nursanti dan Madjid (2009) mengatakan bahwa, bakteri pelarut P (*Pseudomonas putida* dan *Enterobacter gergoviae*) mampu meningkatkan kelarutan P pada tanah ultisol.

Klasifikasi bakteri *Enterobacter gergoviae* dalam Zipcodezoo (2011), adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Enterobacter</i>
Spesies	: <i>Enterobacter gergoviae</i>

Enterobacter gergoviae tidak memfermentasi D-sorbitol. Untuk penghasil β -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).



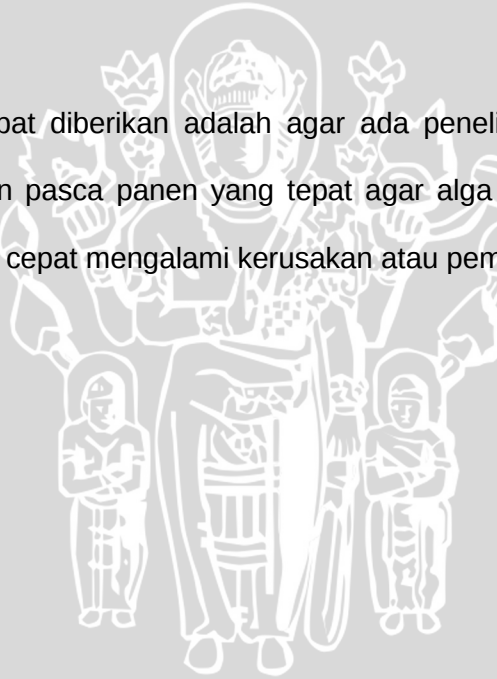
5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Mikroorganisme yang dapat mengakibatkan kerusakan pada Alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar adalah jenis bakteri pembusuk.
2. Koloni bakteri yang paling dominan yang terdapat pada alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar adalah *Vibrio alginolyticus* dan pada sampel yang telah membusuk adalah *Enterobacter gergoviae*.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah agar ada penelitian lanjutan untuk melakukan penanganan pasca panen yang tepat agar alga coklat (*Sargassum duplicatum*) segar tidak cepat mengalami kerusakan atau pembusukan.



DAFTAR PUSTAKA

- Achyadi, N. S. dan Afiana, H. 2004. **Pengaruh Konsentrasi Bahan Pengisi dan Konsentrasi Sukrosa Terhadap Karakteristik Fruit Leather Cempedak (*Artocarpus champeden lour*)**. Fakultas Teknik. Universitas Pasundan. Bandung.
- Aini, F. 2010. **Teknik Membuat Biakan Murni**. (Diakses pada hari Senin 09 Juli 2012 pada situs <http://feni-mikrobiologi.blogspot.com/2010/12/desinfektan.html>).
- Anggadireja, T., Zalnika, A., Heri Purwanto, dan Istini, S. 2006. **Rumput Laut; Pembudidayaan, Pengolahan & Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial**. Penebar Swadaya, Informasi Dunia Pertanian. Jakarta.
- AOAC. 1990. **Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytic Chemist**. Washington DC.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati & S. Budiyo. 1989. **Analisis Pangan**. PAU Pangan dan Gizi. IPB press. Bogor.
- Bachtiar, E. 2007. **Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) Sebagai Biotarget Industri, Makalah**. Universitas Padjadjaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Jatinangor. Bandung.
- Baumann, P., A.L.Furniss, and J.V. Lee. 1984. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Williams & Wilkins. Baltimore, U.S.A.
- Boney, A.D. 1965. **Aspect of The Biology of The Seaweeds of Economic Importance**. Mar.Bot. 3:205-253.
- Bosse, W.V. 1928. **Rhodophyceae; Gigartinales et Rhodimoniales**. List des algues du Siboga. Siboga exed : 49 (4) : 1 – 141.
- Budiyo, A. K. 2001. **Dasar-Dasar Ilmu Gizi**. UMM Press. Malang.
- Dewangga, A. 2011. **Pengaruh Lingkungan dan Fisiologi Terhadap Pertumbuhan Mikroba**. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret. Surakarta.
- Fahri, M. 2009. **Bakteri Pathogen pada Budidaya Perikanan *Vibrio alginolyticus***. (Diakses pada hari Minggu 08 Januari 2012 pada situs <http://elfahrybima.blogspot.com/2009/01/bakteri-pathogen-pada-budidaya.html>).
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan 1**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- _____. 1992. **Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Fox, P.F. 1997. **Advance Dairy Chemistry Volume 3**. Chepman and Hall London.
- Gaonkar, A. G. 1995. **Ingredient Interactions Effects on Food Quality**. University Bourgogne Dijoin. France.
- Hadioetomo, R.S. 1985. **Mikrobiologi Dasar dalam Praktek**. Gramedia pustaka utama. Jakarta.
- _____. 1993. **Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium Mikrobiologi**, Gramedia, Jakarta.
- Holt, J.B, Krieg N.R, Sneath PHA, Staley J.T, William S.T. 1984. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Lippolt Williams and Wilkins. New York.
- Istini, S. A. Zalnika dan Suhaimi. 2011. **Manfaat dan Penolahan Rumput Laut**. Jurnal Penelitian. BPPT. Jakarta.
- Karlina, Itjeu. 2009. **Identifikasi Mikroba Laut di Ujung Grenggengan Semenanjung Muria**. Jurnal Sigma Epsilon vol.13 No.2 Mei 2009.
- Khan.S and Satan.S.B, 2003. **Seaweed Mariculture: Scope and Potential In India**. Aquaculture Asia Journal October-December 2003 vol 1.VIII no.4 College of Fisheries Dr.B.S. Konkan Agricultural University Ratnagiri.India.
- Koivikko.R, Lojonen.J, Honkanen.T, and Jormalainen.N, 2004. **Contents of Soluble, Cell-Wall-Bound and Exude d Phlorotannins in The Brown Alga Fucus vesiculucus, With Implications on Their Ecological Functions**. Journal of Chemical Ecology, vol.31, No.1 (2005). 10886-005-0984-2.
- Krieg, N. R. 1989. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1**. Williams & Wilkins Baltimore. London.
- Mulyo, A. U. 2010. **Efek Ekstrak Alga Coklat (*Sargassum hystrix* J. Agardh) terhadap Arah dan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemia**.
- Muchtadi, F.R. 1997. **Teknologi Proses Pengolahan Pangan**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Murtiningsih. 1997. **Evaluation Of The Serobact (TM) And Microbact (TM) Systems For The Detection And Identification Of Listeria Spp**. Department Of Food Science And Technology, University Of New South Wales, Sydney, NSW 2052 (Australia).
- Muyzer, G. 2011. **Complete genome sequence of Thioalkalivibrio sp. K90mix**. (Diakses pada hari Minggu 08 Januari 2012 pada situs <http://www.standardsingenomics.org/index.php/sigen/article/view/sig.2315092/622>).

Nizamuddin, M. 1970. ***Phytogeography of the Fucales and Their Seasonal Growth***. Bot. Mar. 13 : 131-139.

Nursanti dan Madjid. 2009. **Bakteri Pelarut Fosfat sebagai Agents Pupuk Hayati**. (Diakses pada hari Selasa 21 Februari 2012 pada situs <http://www.scribd.com/doc/71584503/Bakteri-Pelarut-Fosfat>).

Pelczar, M. 1986. **Dasar- Dasar Mikrobiologi I**. Erlangga. Jakarta.

Pradhika, E.I. 2008. **Mikrobiologi Dasar**. (Diakses pada hari Sabtu 06 Agustus 2011 pada situs <http://ekmon-saurus.blogspot.com/2008/11/bab-4-isolasi-mikroorganisme>).

_____. 2009. **Mikrobiologi Dasar**. (Diakses pada hari Sabtu 06 Agustus 2011 pada situs <http://ekmon-saurus.blogspot.com/2009/10/prinsip-dasar-teori-menghitung.html>).

Primus, J. 2011. **Ekspor Rumput Laut Tetap Penting**. (Diakses pada hari Sabtu 06 Agustus 2011 pada situs <http://bisniskeuangan.kompas.com/read/2011/09/07/20412783/Ekspor.Rumput.Laut.Tetap.Penting>).

Purnomo, B. 2005. **Bahan Bacaan Kuliah : Dasar-Dasar Mikrobiologi**. PS.IHPT. Faperta Unib. Bengkulu.

Ranzsblog. 2011. **Bakteri Vibrio**. (Diakses pada hari Selasa 21 Februari 2012 pada situs <http://ranzsblog.blogspot.com/2011/04/bakteri-vibrio.html>).

Rasyid, A. 2003. **Algae Coklat (Phaeophyta) sebagai Sumber Alginat**. Oseana Volume XXVIII No. 1: 33-38.

Richard, C. 1984. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Williams & Wilkins. Baltimore, U.S.A.

Rose, S. 2012. **Biol 220**. (Diakses pada hari Minggu 08 Januari 2012 pada situs <http://www.napavalley.edu/people/srose/Pages/Biol220.aspx>).

Sarles W.B, W.C Frazier, J.B. Wilson, and S.G. Knight, 1956. **Microbiology General and Applied**. Harper&Brother. New York, pp.65,128-137.

Schlegel, H. S. 1994. **Allgemeine Mikrobiologie**. Penerjemah: R. M. T. Baskoro dan J. R. Wattimena. UGM Press. Yogyakarta.

Siagian, A. 2002. **Mikroba Patogen pada Makanan dan Sumber Pencemarannya**. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.

SNI. 1991. **Angka Lempeng Total Anaerob**. Badan Standardisasi Nasional.

_____. 1995. **Bumbu dan Rempah-Rempah, Penentuan Kadar Air (Metode Pemisahan dengan Cara Penyulingan)**. Badan Standardisasi Nasional.

- Soetarto, E.S., T.T. Suharni, S.Y. Nastiti, dan L.Sembiring. 2010. **Petunjuk Praktikum Mikrobiologi**. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Jogjakarta, hal. 4-11.
- Sofa. 2008. **Mikrobiologi, Bakteri dan Virus**. (Diakses pada hari Sabtu 06 Agustus 2011 pada situs <http://massofa.wordpress.com/2008/02/05/mikroorganisme-bakteri-dan-virus/>).
- Sudarmadji, S.B. Haryono dan Suhardi. 2003. **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty. Yogyakarta.
- Suryabrata, S. 1983. **Metodologi Penelitian**. Manajemen PT Rajagrafindo Persada. Jakarta.
- Waluyo, L. 2004. **Mikrobiologi Umum**. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Waryono, T. 2008. **Biogeografi Alga Makro (Rumput) Laut Di Kawasan Pesisir Indonesia**. (Diakses pada hari Sabtu 06 Agustus 2011 pada situs <http://www.scribd.com/doc/77753712/BiogeografiRumputLaut>).
- Wikipedia^a. 2012. **Suhu Kamar**. (Diakses pada hari Senin 09 Juli 2012 pada situs http://id.wikipedia.org/wiki/Suhu_kamar).
- _____.^b 2012. **Enterobacter gergoviae**. *Enterobacter gergoviae*. (Diakses pada hari Minggu 08 Januari 2012 pada situs <http://id.wikipedia.org/wiki/>).
- _____.^c 2012. **Vibrio**. (diakses pada hari Minggu 08 Januari 2012 pada situs <http://id.wikipedia.org/wiki/Vibrio>).
- Winarno, F. G., Fardiaz, S. Fardiaz, D. 1980. **Pengantar Teknologi Pangan**. PT Gramedia. Jakarta.
- Winarno, F. G. 1986. **Air Untuk Industri Pangan**. PT Gramedia. Jakarta.
- _____. 1996. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut**. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Winarno. 2002. **Kimia Pangan dan Gizi**. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- _____. 2004. **Kimia Pangan dan Gizi**. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Yunizal. 1999. **Teknologi Ekstraksi Alginat Dari Rumput Laut Coklat**. Instalasi Penelitian Perikanan Laut Slipi. Jakarta.
- _____. 2004. **Teknologi Pengolahan Alginat**. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Zipcodezoo. 2011. **Enterobacter gergoviae**. (Diakses pada hari Minggu 08 Januari 2012 pada situs http://www.zipcodezoo.com/Bacteria/E/Enterobacter_gergoviae/).

