

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT A1 DAN S1
DARI AIR LUMPUR DAN SEDIMEN PADAT LAPINDO SIDOARJO**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

Oleh :

ASTHERVINA WIDYASTAMI PUSPITASARI

NIM. 0910833018



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT A1 DAN S1
DARI AIR LUMPUR DAN SEDIMEN PADAT LAPINDO SIDOARJO**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan**

Universitas Brawijaya

Oleh :

ASTHERVINA WIDYASTAMI PUSPITASARI

NIM. 0910833018



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2014

SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT A1 DAN S1
DARI AIR LUMPUR DAN SEDIMEN PADAT LAPINDO SIDOARJO

Oleh :
ASTHERVINA WIDYASTAMI PUSPITASARI
NIM. 0910833018

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 5 Februari 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

Dosen Penguji I

(Eko Waluyo, S.Pi., M.Sc)
NIP.19800424 200501 1 001
Tanggal: _____

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

(Prof. Ir. Sukoso, M.Sc., Ph.D)
NIP. 19640919 198903 1 002
Tanggal: _____

Dosen Penguji II

(Ir. Yahya, MP)
NIP.19630706 199003 1 003
Tanggal: _____

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MP)
NIP. 19550503 198503 2 001
Tanggal: _____

Mengetahui,
Ketua Jurusan

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal: _____

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 8 Februari 2014

Mahasiswa,

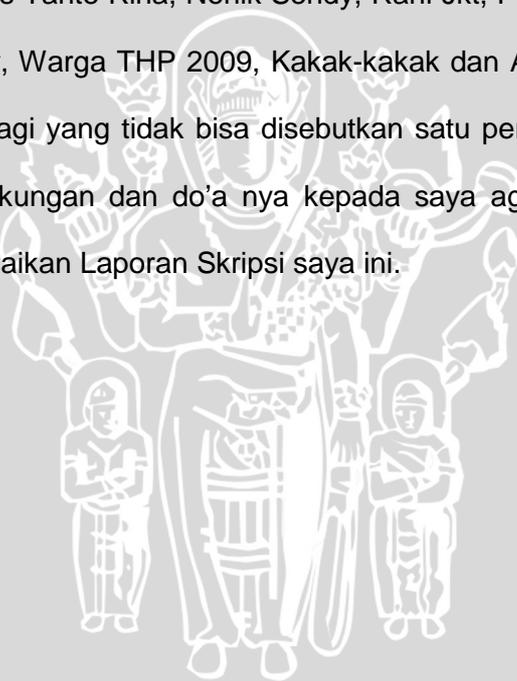
ASTHERVINA WIDYASTAMI P.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada ALLAH SWT, karena dengan Kehendak-Nya, dan Kebesaran-Nya sehingga saya dipertemukan dengan orang-orang yang hebat dalam hidup ini.
2. Terimakasih kepada kedua orang tua yang saya cintai, Bapak Dr. Joko Widodo, MS dan Ibu Dra. Wahyu Utami, MSi atas segala bantuan yang telah diberikan baik secara materiil (keuangan), semangat, do'a, kesabaran dan nasehat-nasehat kepada saya, sehingga saya mampu menyelesaikan seluruh rangkaian perkuliahan, penelitian hingga terbentuknya Laporan Skripsi ini dengan baik.
3. Terimakasih kepada Bapak Prof. Ir. Sukoso, M.Sc., Ph.D, selaku pembimbing 1 (pertama) saya, atas kesabaran dalam membimbing saya selama ini, terimakasih telah memberikan banyak ilmu serta masukan-masukan yang bermanfaat kepada saya selama saya menjalankan rangkaian penelitian hingga terbentuknya Laporan Skripsi ini. Dan terimakasih juga atas dana penelitian yang diberikan kepada saya demi kelancaran pelaksanaan penelitian saya.
4. Terimakasih kepada Ibu Dr. Ir. Kartini Zaelanie, MS, selaku pembimbing 2 (kedua) saya atas bimbingannya selama ini, yang telah memberikan masukan-masukan dan membimbing saya dengan sabar sehingga saya dapat menyelesaikan Laporan Skripsi ini dengan baik.
5. Terimakasih kepada Bapak Ir. Yahya, MP dan Bapak Eko Waluyo, S.Pi., M.Sc, selaku para penguji saya yang telah banyak memberikan masukan-masukan yang membangun demi kesempurnaan Laporan Skripsi saya.

6. Terimakasih kepada Eyang Marsilah dan Alm. Akung Samiharjo yang dengan sabar menunggu, memberikan semangat dan memonitor saya hingga terselesaikannya Laporan Skripsi saya ini.
7. Terimakasih kepada Fandy dan Micko (adik-adik saya), dan keluarga atas bantuannya selama ini.
8. Terimakasih kepada My Lovely Skripsi Team Kotok (Sari) dan Hapiz atas kerjasamanya, pengertiannya, kesabarannya, masukan-masukannya, dan semangatnya selama ini mulai dari awal penelitian hingga terbentuknya Laporan Skripsi yang tidak mudah ini.
9. My lovely friends Tante Rina, Nonik Sendy, Rani Jkt, Pia, Ohim, Dita, Bro Ruli, Kak Lussy, Warga THP 2009, Kakak-kakak dan Adik-adik THP dan masih banyak lagi yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terimakasih atas semua dukung dan do'a nya kepada saya agar sehingga saya dapat menyelesaikan Laporan Skripsi saya ini.



RINGKASAN

ASTHERVINA WIDYASTAMI PUSPITASARI Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Isolat A1 dan S1 dari Air Lumpur dan Sedimen Padat Lapindo Sidoarjo (dibawah bimbingan **Prof. Ir. SUKOSO, M.Sc., Ph.D** dan **Dr. Ir. KARTINI ZAELANIE, MS**)

Luapan lumpur panas Lapindo terletak di Kabupaten Sidoarjo, Provinsi Jawa Timur. Peristiwa geologi ini terjadi di lokasi pengeboran minyak milik Lapindo Brantas Inc. Meluapnya lumpur panas Lapindo hingga saat ini belum dapat dihentikan dan aliran lumpur Lapindo Sidoarjo kini dialirkan langsung ke sungai porong. Meluapnya lumpur Lapindo diduga terdapat bakteri termofil yang mampu hidup di kondisi lingkungan ekstrim lumpur lapindo, dimana bakteri termofil mampu menghasilkan enzim termostabil yang dapat dimanfaatkan kedalam industri pengolahan produk perikanan yang dalam prosesnya menggunakan suhu tinggi.

Bakteri termofil mampu hidup secara optimal di atas suhu 45°C, dengan struktur protein penyusun enzim yang tetap stabil atau tidak terdenaturasi oleh panas. Mikroorganisma ini sendiri tidak hanya bersifat toleran terhadap suhu lingkungannya yang bersifat ekstrim tetapi juga mampu untuk bertahan hidup dan berkembangbiak pada kondisi suhu yang ekstrim tersebut (Brock, 1986).

Termostabil umumnya dihubungkan dengan sifat alami dari enzim dan sumber penghasil enzim. Enzim termostabil sering dikenal dengan sebutan termozim merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme termofilik. Enzim ini tidak mengalami denaturasi akibat naiknya suhu lingkungan dan menunjukkan aktivitas optimum pada suhu tinggi (6-120°C) (Wiryawan, 2011).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik isolat bakteri A1 dan S1 yang diisolasi dari Lumpur Lapindo Sidoarjo baik secara morfologi maupun sifat biokimianya, dan untuk menduga jenis spesies bakteri dominan (A1 dan S1) yang mampu hidup pada kondisi air dan sedimen Lumpur Lapindo Sidoarjo dengan menggunakan uji biokimia (*microbact identification kits*) dan dibandingkan dengan uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso, M.Sc., Ph.D dan sebagai informasi awal untuk mengetahui peranan bakteri termofilik terhadap pengolahan produk perikanan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat A1 dan S1 termasuk kedalam kelompok bakteri termofilik karena mampu tumbuh pada suhu lebih dari 45°C dan diketahui memiliki enzim termostabil yang tidak mudah terdenaturasi pada suhu tinggi, dapat dimanfaatkan dalam pengolahan produk perikanan seperti pembuatan kitin dan kitosan.

Pada Isolat A1 diketahui jenis spesies bakteri dengan nama *Marinobacter lutaoensis* yang diperoleh berdasarkan hasil uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso M.Sc, Ph.D dan memiliki sifat biokimia serupa dengan *Enterobacter gergoviae* dengan ketepatan 88,58% yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) serta memiliki morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna putih tipis, memiliki tepi yang rata dan berelevasi datar, lalu morfologi sel nya berbentuk basil dan gram negatif, mampu hidup pada kondisi lingkungan lumpur Lapindo Sidoarjo yang memiliki suhu 45°C; pH 7,8 dan memiliki kadar salinitas sebesar 30 ppt atau dikategorikan dalam air payau dengan keasinan yang tinggi, dan beberapa kandungan logam berat yaitu Pb, Hg, Cu, Fe, Zn, Cr, Cd, Ni, Mn, Au dengan kadar tertinggi adalah logam Mn, sebesar 39,16 ppm dan tidak ditemukan kandungan logam Cd atau nihil.

Pada isolat S1 diketahui jenis spesies bakteri dengan nama *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* yang diperoleh berdasarkan hasil uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso M.Sc, Ph.D dan memiliki sifat biokimia serupa dengan *Klebsiella rhinoscleromatis* dengan ketepatan 88,67% yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) serta memiliki morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna kuning keputihan, memiliki tepi yang rata berlapis dan berelevasi timbul, lalu morfologi sel nya berbentuk basil dan gram negatif, mampu hidup pada kondisi lingkungan lumpur Lapindo Sidoarjo yang memiliki suhu 48°C; pH 7,5 dan beberapa kandungan logam berat yaitu Pb, Hg, Cu, Fe, Zn, Cr, Cd, Ni, Mn, Au dengan kadar tertinggi adalah logam Mn sebesar 528 ppm, dan terendah adalah kandungan logam Cd sebesar 0,03 ppm.

Berdasarkan penelitian ini, saran yang dapat diberikan adalah sebaiknya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik bakteri dengan lebih terperinci sehingga informasi yang didapat lebih lengkap dan dapat dilakukan penanganan ataupun pemanfaatan mengenai jenis bakteri tersebut khususnya dibidang pengolahan produk perikanan yang menggunakan suhu tinggi.



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul **“Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Isolat A1 Dan S1 Dari Air Lumpur dan Sedimen Padat Lapindo, Sidoarjo”**. Di dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pengambilan sampel di wilayah sekitar semburan lumpur Lapindo untuk dilakukan karakterisasi bakteri hingga diketahui jenis spesies bakteri tersebut.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 8 Februari 2014

Penulis

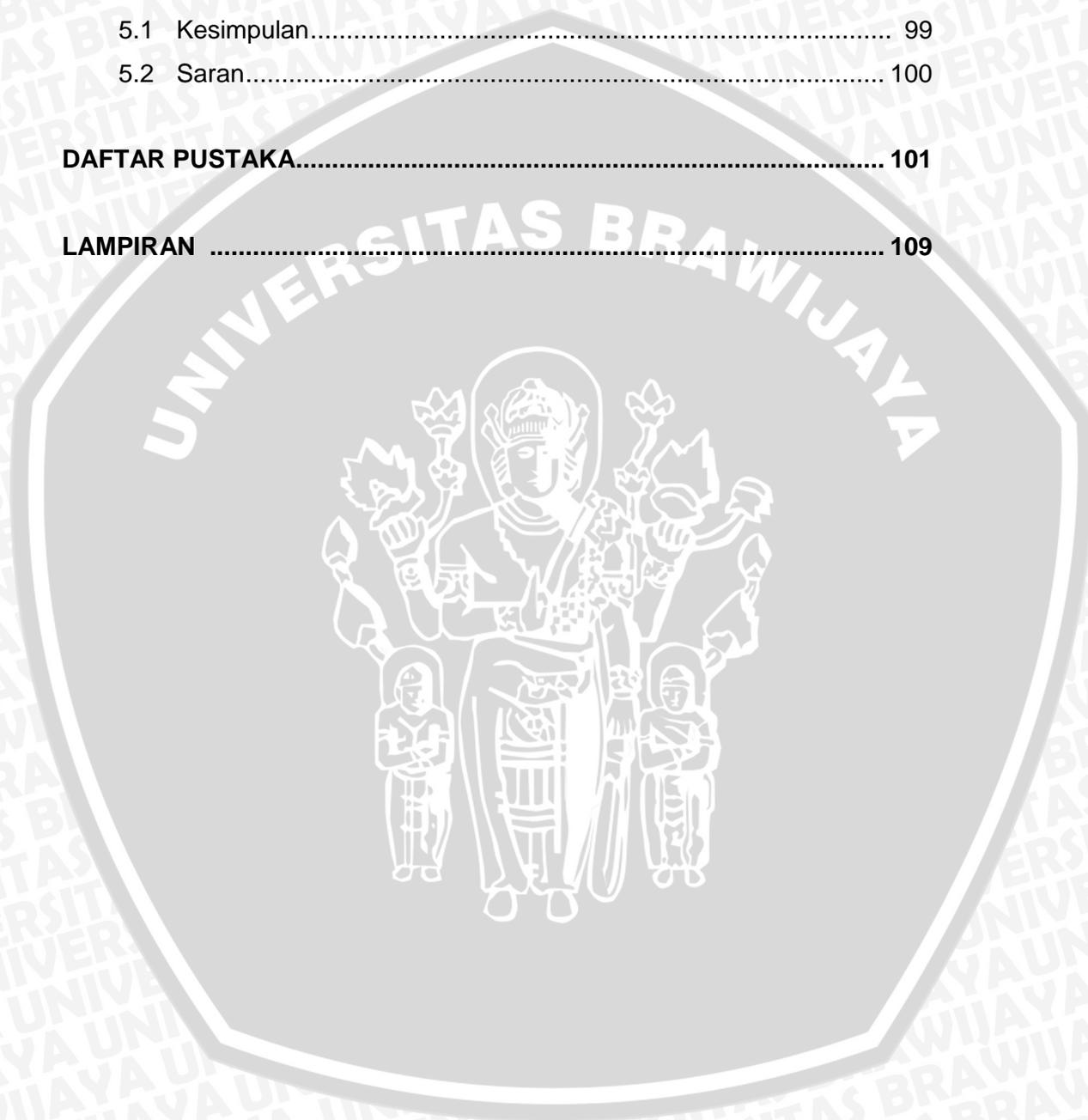
DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
UCAPAN TERIMAKASIH	iii
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Tempat dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Bakteri	5
2.1.1 Susunan Sel Bakteri.....	5
2.1.2 Bentuk Bakteri.....	12
2.1.3 Struktur Utama dan Morfologi Sel Bakteri	14
2.1.4 Pertumbuhan Bakteri	15
2.1.5 Metabolisme Bakteri.....	16
2.2 Bakteri Termofil	17
2.3 Enzim Termostabil.....	19
2.4 Peranan Enzim Termostabil Pada Produk Perikanan	21
2.5 Kultur Bakteri.....	24
2.5.1 Metode Tuang (<i>Pour Plate</i>).....	25
2.5.2 Metode Tebar (<i>Spread Plate</i>)	26

2.6	Isolasi Bakteri	26
2.6.1	Cawan Gores.....	28
2.6.2	Cawan Tuang	29
2.7	Karakteristik Bakteri.....	30
2.7.1	Uji Morfologi Bakteri.....	31
2.7.2	Uji Pewarnaan Gram	33
2.7.3	Uji Biokimia.....	35
2.7.3.1	TSIA.....	35
2.7.3.2	SIM	37
2.7.3.3	Urease	39
2.7.3.4	Nitrat	40
2.7.3.5	Sitrat	41
2.7.3.6	MR	42
2.7.3.7	VP.....	44
2.7.3.8	<i>Microbact Identification Kits</i>	46
2.7.4	Uji 16S rDNA	47
2.8	Parameter Fisika dan Kimia Lingkungan	49
2.8.1	Suhu	49
2.8.2	pH.....	52
2.8.3	Salinitas	52
2.8.4	Logam Berat	53
2.9	Lumpur Lapindo	55
2.9.1	Air.....	56
2.9.1.1	Bakteri Air	56
2.9.2	Sedimen Padat.....	59
2.9.2.1	Bakteri Sedimen	59
3.	METODE PENELITIAN	61
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	61
3.2	Materi Penelitian.....	61
3.2.1	Bahan Penelitian	61
3.2.2	Alat Penelitian.....	62
3.3	Metode Penelitian.....	62
3.4	Prosedur Penelitian	63
3.4.1	Pengambilan Sampel.....	63

3.4.2	Pengukuran Parameter Fisika dan Kimia Lingkungan	64
3.4.2.1	Pengukuran Suhu.....	64
3.4.2.2	Pengukuran pH	65
3.4.2.3	Pengukuran Salinitas	66
3.4.2.4	Pengukuran Kadar Logam Berat (<i>Atomic Absorbance Spectrophotometer</i> dan <i>Spektrofotometer</i>)..	66
3.4.3	Kultur Bakteri Massal	73
3.4.3.1	Air	74
3.4.3.2	Sedimen.....	74
3.4.4	Isolasi Bakteri Target	75
3.4.5	Uji Karakteristik Bakteri.....	76
3.4.5.1	Morfologi Koloni Bakteri.....	76
a.	Bentuk Koloni	76
b.	Warna Koloni.....	76
c.	Tepi Koloni	77
d.	Elevasi Koloni.....	77
3.4.5.2	Morfologi Sel Bakteri	77
a.	Pewarnaan Gram	77
b.	Bentuk Sel Bakteri.....	78
3.4.5.3	Uji Biokimia	78
a.	TSIA	78
b.	SIM.....	79
c.	Urease.....	79
d.	Sitrat.....	80
e.	Nitrat.....	80
f.	MR.....	81
g.	VP	81
3.4.5.4	Uji <i>Microbact Identification Kits</i>	82
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	84
4.1	Kondisi Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo	84
4.2	Morfologi Koloni dan Sel Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo.....	90
4.3	Karakteristik Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo Berdasarkan Uji Biokimia	91

4.4	Karakteristik Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo Berdasarkan <i>Microbact Identification Kits</i>	94
4.5	Pendugaan Jenis Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo.....	95
5.	PENUTUP	99
5.1	Kesimpulan.....	99
5.2	Saran.....	100
	DAFTAR PUSTAKA	101
	LAMPIRAN	109



DAFTAR TABEL

	Hal.
1. Pewarnaan Gram.....	33
2. Reaksi Uji TSIA (<i>Triple Sugar Iron Agar</i>).....	36
3. Kelompok Bakteri Berdasarkan Temperatur	51
4. Kondisi Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo	84
5. Kadar Logam Berat di Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo	86
6. Morfologi Koloni Bakteri	90
7. Morfologi Sel Bakteri.....	91
8. Karakteristik Bakteri Dominan Berdasarkan Uji Biokimia	92
9. Hasil Pendugaan Isolat Bakteri A1 dan S1.....	96



DAFTAR GAMBAR

	Hal.
1. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	16
2. Senyawa Kimia Khitin dan Khitosan.....	23
3. Jalur Degradasi Kitin Secara Enzimatis	23
4. Teknik Penanaman dengan Metode Tuang	25
5. Hasil Penanaman dengan Metode Tuang.....	25
6. Teknik Penanaman dengan Metode Tebar	26
7. Hasil Penanaman dengan Metode Tebar.....	26
8. Isolasi dengan Metode Cawan Gores	28
9. Tahapan Isolasi dengan Metode Cawan Tuang.....	29
10. Susunan Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.....	34
11. Reaksi Oksidasi Triptofan oleh Enzim Triptofanase.....	38
12. Reaksi Indol dengan Komponen dalam Perekasi Kovac.....	39
13. Reaksi dalam Biakan Urease.....	40
14. Reaksi dalam Biakan Simmon's Sitrat	42
15. Reaksi Fermentasi Glukosa dalam Media MR menjadi Asam Campuran ..	44
16. Reaksi Fermentasi Glukosa dalam Media VP menjadi Senyawa Non Asam.....	45
17. Deteksi Senyawa Asetilmetilkarbinol Menggunakan Pereaksi Alphanaftol..	46
18. Lokasi Pengambilan Sampel Air Lumpur dan Sedimen Padat Lapindo.....	64
19. Pengukuran Suhu Sampel Air Lumpur dan Sedimen Padat Lapindo	65
20. Pengukuran pH Sampel Air Lumpur dan Sedimen Padat Lapindo	65
21. Pengukuran Salinitas dengan Refraktometer.....	66
22. Pengukuran Kadar Logam Berat dengan AAS.....	67

23. Pengukuran Kadar Logam Berat dengan Spektrofotometer..... 73



DAFTAR LAMPIRAN

	Hal.
1. Skema Kerja Penelitian.....	109
2. Pengambilan Sampel.....	110
3. Pengukuran Parameter Fisika dan Kimia Lingkungan.....	111
3.1 Pengukuran Suhu	111
3.2 Pengukuran pH.....	111
3.3 Pengukuran Salinitas.....	112
3.4 Pengukuran Logam Berat dengan AAS	112
3.5 Pengukuran Logam Berat dengan Spektrofotometer	113
Logam Ni (Nikel).....	113
Logam Cr (Cromium).....	114
Logam Mn (Mangan).....	115
4. Kultur Bakteri Dominan.....	116
4.1 Persiapan Media NA (<i>Nutrient Agar</i>).....	116
4.2 Kultur Bakteri Massal.....	117
5. Isolasi Bakteri Target.....	118
5.1 Pembuatan Media NB (<i>Nutrient Broth</i>).....	118
5.2 Isolasi Bakteri Target	119
6. Uji Karakterisasi Bakteri.....	121
6.1 Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel Bakteri.....	122
6.2 Uji Biokimia.....	123
6.2.1 Uji Biokimia Manual.....	123
TSIA (<i>Triple Sugar Iron Agar</i>).....	123
SIM (<i>Sulfide Indol Motility</i>).....	123
Urease	124

Sitrat	124
Nitrat	125
MR (<i>Methyl Red</i>)	125
VP (<i>Voges Proskauer</i>)	126
6.2.2 Uji Biokimia <i>Microbact Identification Kits</i>	127
7. Pembuatan Blanko (Kontrol Negatif)	128
8. Lokasi Semburan Lumpur Lapindo Sidoarjo	129
9. Foto Hasil Uji Salinitas Air dan Sedimen Lapindo Sidoarjo.....	129
10. Foto Hasil Isolasi Bakteri Kode Isolat A1 dan S1	130
11. Foto Bentuk Sel Bakteri Pada Isolat A1 dan S1	131
12. Foto Hasil Uji Biokimia Isolat A1 dan S1	132
13. Foto Hasil Uji Biokimia Isolat A1 dan S1 Menggunakan <i>Microbact Identification Kits</i>	133
14. Hasil Analisa Logam Berat.....	134
15. Data Uji <i>Microbact Identification Kits</i>	135
16. Data Hasil Standar Deviasi Kondisi Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo.....	136

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroba termofilik merupakan mikroba yang mampu tumbuh optimal pada lingkungan ekstrim panas, yaitu daerah-daerah *geothermal* di darat maupun di laut dalam. Berdasarkan pada kisaran temperatur tumbuhnya, mikroba dikelompokkan menjadi mikroba psikrofilik yang tumbuh pada -3 hingga 20°C; mesofilik pada 13 hingga 45°C dan termofilik pada 42°C hingga lebih dari 100°C (Edward, 1990).

Indonesia merupakan negara yang memiliki keadaan geografis yang sangat dimungkinkan mengandung bakteri-bakteri termofilik, karena Indonesia memiliki banyak gunung berapi serta sumber air panas (Asnawi, 2006). Selain itu Indonesia sebagai negara tropis mempunyai banyak daerah dengan aktivitas geotermal, seperti daerah gunung berapi, sumber air panas dan cadangan minyak bumi dan batubara. Sehingga beberapa lokasi memungkinkan adanya heterogenitas bakteri termofil yang tinggi (Indrajaya *et al.*, 2003).

Bakteri termofilik dapat dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi karena memiliki efisiensi dalam keadaan suhu tinggi. Semakin tinggi temperatur maka semakin tinggi pula laju difusi. Selain itu, enzim pada bakteri termofilik juga mampu mengkatalisis reaksi biokimia pada suhu tinggi dan umumnya lebih stabil dari bakteri mesofilik. Enzim yang terdapat pada bakteri termofilik juga dapat dimanfaatkan pada industri antara lain enzim amylase, selulase, xilanase, kitinase dan protease (Brock, 1986).

Mikroorganisme termofilik memiliki kemampuan bertahan pada suhu tinggi karena adanya enzim termostabil (Brock, 1978). Kemudian ditambahkan oleh Lasa and Berenguer (1993), Selain itu, protein yang terdapat pada sel mikroorganisme termofilik memiliki ikatan hidrofobik dan ikatan ionik yang sangat

kuat. Komposisi membran sel pada bakteri termofilik tersusun atas lemak jenuh sehingga dapat bersifat stabil pada suhu tinggi.

Mikroorganisme adalah sumber penghasil enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Sebagai sumber penghasil enzim, mikroorganisme lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik, serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim (Akhdiya, 2003).

Pertumbuhan diartikan sebagai penambahan dan dapat dihubungkan dengan penambahan ukuran, jumlah bobot, massa, dan banyak parameter lainnya dari suatu bentuk hidup. Penambahan ukuran atau massa suatu sel individual biasanya terjadi pada proses pendewasaan (maturasi), dan perubahan ini umumnya bersifat sementara (temporer) untuk kemudian dilanjutkan dengan proses multiplikasi dari sel tersebut. Multiplikasi terjadi dengan cara pembelahan sel tersebut. Bakteri bermultiplikasi secara aseksual dengan pembelahan menjadi dua, dua menjadi empat, empat menjadi delapan dan seterusnya. Setiap keturunannya secara individual dapat melanjutkan proses reproduksi secara tidak terbatas dengan cara yang sama dengan induknya atau individu sebelumnya dengan syarat tersedia makanan dan energi yang cukup dan keadaan lingkungan (pH, suhu) bebas polusi oleh sisa buang yang beracun dan sebagainya (Irianto, 2006).

Identifikasi spesies bakteri diawali dengan pemeriksaan koloni, yang diikuti dengan mempelajari morfologinya, penanamannya (karakteristik media yang digunakan untuk tumbuh), uji morfologi dan sifat biokimia spesies tersebut. Hal-hal tersebut yang digunakan untuk mengkarakteristikan suatu spesies yang didapatkan (Rodina, 1972). Uji biokimia didasarkan pada berbagai hasil

metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim masing-masing bakteri (Raihana, 2011).

Luapan lumpur panas Lapindo terletak di Kabupaten Sidoarjo, Provinsi Jawa Timur. Peristiwa geologi ini terjadi di lokasi pengeboran minyak milik Lapindo Brantas Inc. Meluapnya lumpur panas Lapindo hingga saat ini belum dapat dihentikan dan aliran lumpur Lapindo Sidoarjo kini dialirkan langsung ke sungai porong. Meluapnya lumpur Lapindo diduga terdapat bakteri termofil yang mampu hidup di kondisi lingkungan ekstrim lumpur Lapindo, dimana bakteri termofil diketahui mampu menghasilkan enzim termostabil yang dapat dimanfaatkan dalam industri pengolahan produk perikanan yang dalam prosesnya menggunakan suhu tinggi, misalnya pembuatan kitin dan kitosan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka rumusan masalah yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik isolat bakteri A1 dan S1 yang diisolasi dari Lumpur Lapindo Sidoarjo?
2. Apakah jenis spesies bakteri dominan (A1 dan S1) yang diduga mampu hidup pada kondisi air lumpur dan sedimen padat Lapindo Sidoarjo?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui karakteristik isolat bakteri A1 dan S1 yang diisolasi dari air lumpur dan sedimen padat Lapindo Sidoarjo baik secara morfologi maupun sifat biokimianya.

2. Untuk menduga jenis spesies bakteri dominan (A1 dan S1) yang mampu hidup pada kondisi air lumpur dan sedimen padat Lapindo Sidoarjo dengan menggunakan uji biokimia (*microbact identification kits*) dan dibandingkan dengan uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso, M.Sc., Ph.D
3. Sebagai informasi awal untuk mengetahui peranan bakteri termofilik terhadap pengolahan produk perikanan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi kepada pihak yang berkepentingan tentang karakteristik morfologis dan biokimia serta hasil pendugaan jenis spesies bakteri dominan (A1 dan S1) yang mampu hidup pada kondisi air lumpur dan sedimen padat Lapindo Sidoarjo dengan menggunakan berbagai macam uji, yaitu uji morfologi dan uji biokimia yang dibandingkan dengan hasil uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso, M.Sc., Ph.D. serta sebagai informasi awal untuk mengetahui peranan bakteri termofil terhadap produk pengolahan perikanan.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Sampel diambil dari lingkungan lumpur panas Lapindo, Sidoarjo dan Pengujian Laboratorium dilakukan di Universitas Brawijaya, Malang yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), dan Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, kemudian beberapa pengujian dilakukan di Toyohasi University of Technology, Japan serta sebagian isolat bakteri diamati di Laboratorium Universitas Kagoshima, Jepang. Seluruh kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2012 hingga September 2013.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri

Bakteri merupakan mikrobia uniseluler. Pada umumnya bakteri tidak mempunyai khlorofil. Ada beberapa yang fotosintetik dan reproduksi aseksualnya secara pembelahan. Bakteri tersebar luas di alam, di dalam tanah, di atmosfer, di dalam endapan-endapan lumpur, di dalam lumpur laut, di dalam air, di sumber air panas, di daerah antartika. Dalam tubuh hewan, manusia dan tanaman. Jumlah bakteri tergantung keadaan sekitar. Misalnya jumlah bakteri dalam tanah tergantung jenis tingkat kesuburan tanah (Hidayat *et al.*, 2006).

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas; uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran didalam sitoplasmanya. Sel-selnya khas, berbentuk bola, batang, atau spiral. Bakteri rata-rata berdiameter 1,5 sampai 2,5 μm . Cara reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana, yaitu suatu proses reproduksi aseksual (Waluyo, 2005).

Bakteri adalah makhluk haploid. Kromosomnya tidak memanjang seperti potongan-potongan benang, melainkan melingkar tak berujung-pangkal. Selanjutnya bakteri tidak mempunyai *nukleous*, tidak memiliki RE (*retikulum endoplasma*), tidak memiliki *mitokondria*, dan tidak memiliki *badan golgi*. Pada bakteri gram positif terdapat lipatan-lipatan plasmolema yang disebut dengan *mesosom* yang diduga dapat berperan sebagai mitokondria (Dwidjoseputro, 2005).

2.1.1 Susunan Sel Bakteri

Menurut Dwidjoseputro (2005), Pada umumnya orang berpendapat bahwa sel bakteri tersusun atas dinding luar, sitoplasma, dan bahan inti. Ada dinding luar

terdapat 3 lapisan, secara berturut-turut yaitu lapisan lendir, dinding sel dan membran sitoplasma.

a. Dinding sel

Sangat tipis, namun memberikan bentuk tertentu pada bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas bermacam-macam bahan organik seperti selulosa, hemiselulosa, dan khitin (karbohidrat yang mengandung unsur N). Fungsi dinding sel ialah mengatur bentuk tertentu pada sel, untuk memberi perlindungan, untuk mengatur keluar masuknya zat-zat kimia dan berperan penting dalam pembelahan sel.

b. Membran sitoplasma

Merupakan bungkus dari protoplasma biasa disebut dengan *plasmolema*. Membran sel ini terdiri atas protein dan lipida dan mudah menghisap zat warna yang alkalis. Memiliki peran penting dalam pembelahan sel.

c. Lapisan lendir

Kebanyakan bakteri memiliki lapisan lendir yang menyelubungi dinding sel seluruhnya. Jika lapisan lendir ini cukup tebal maka bungkus tersebut disebut *kapsula*. lendir ini tidak mudah menghisap zat warna. Lapisan lendir ini terdiri atas karbohidrat, namun terkadang pada spesies tertentu lendir ini juga mengandung unsur N dan P. Lendir ini memberikan perlindungan terhadap kekeringan. Biasanya yang memiliki kapsula adalah bakteri dalam golongan yang ganas (*virulen*).

d. Isi sel

Berupa protoplasma yang biasa disebut dengan sitoplasma atau plasma sel. Merupakan suatu koloid yang mengandung karbohidrat, protein, enzim-enzim, belerang, kalsium karbonat, *volutin* yaitu suatu zat yang banyak mengandung asam ribonukleat (ARN) yang mudah menghisap zat warna tertentu yang bersifat basa.

e. Inti atau nukleus

Bakteri memiliki inti yang terdiri atas asam deoksiribonukleat (ADN) dan asam ribonukleat (ARN). Namun bakteri tidak mempunyai membran atau dinding inti yang biasa dimiliki oleh makhluk-mahluk tinggi. Inti yang tidak bermembran disebut *prokaryon* dan inti yang bermembran disebut *eukaryon*. ARN merupakan bagian daripada *ribosom* dan ribosom adalah komponen yang terdapat didalam sel yang berfungsi sebagai organel penyusun protein.

f. Flagel (bagi spesies yang bergerak)

Banyak spesies yang dapat bergerak, akan tetapi banyak pula yang tidak dapat bergerak. Kita telah mengetahui adanya bakteri yang dapat bergerak kemana-mana dengan menggunakan *flagel* (berasal dari kata *flagellum* yang berarti *bulu cambuk*). Dari golongan kokus tidak banyak yang dapat bergerak; mereka yang bergerak mempunyai satu sampai lima flagel. Dari golongan spiril banyak yang dapat bergerak karena mempunyai flagel pada salah satu atau kedua ujung sel. Golongan basil yang dapat bergerak mempunyai flagel yang tersebar baik pada ujung-ujung maupun pada sisi sel. Berdasarkan tempat kedudukan flagel terdapat 5 penggolongan, yaitu: *monotrik* (hanya satu *flagel* yang melekat pada ujung sel), *lofotrik* (banyak *flagel*, namun hanya melekat pada salah satu ujung sel), *amfitrik* (banyak *flagel*, dan melekat pada kedua ujung sel), *peritrik* (banyak *flagel*, yang melekat pada ujung maupun sisi sel), *atrik* (tidak memiliki *flagel* sama sekali).

Menurut Radji (2011), Berdasarkan struktur sel nya, bakteri termasuk kedalam golongan prokariot: sel prokariot memiliki struktur sel lebih sederhana dibandingkan sel eukariot. Struktur sel bakteri, terdiri atas tiga bagian penting, yaitu:

(1) Struktur eksternal sel

Pada struktur eksternal sel, bagian-bagian penting dipermukaan sel adalah *glikokaliks*, *flagel*, *fimbria* dan *pili*.

- *Glikokaliks*

Beberapa bakteri biasanya mampu mengeluarkan bahan yang dapat menutupi bagian permukaan selnya, yaitu ***glikokaliks***. Glikokaliks yang berarti selubung gula yang merupakan istilah umum untuk substansi yang dapat menyelimuti permukaan sel. Glikokaliks bakteri umumnya mengandung polisakarida dan polipeptida yang biasanya dibuat dibagian internal sel dan disekresikan ke permukaan sel. Jika terstruktur dan menempel dengan kuat di seluruh dinding sel, glikokaliks ini disebut dengan **kapsul** atau selubung bakteri. Keberadaan kapsul dapat ditunjukkan dengan pewarnaan negatif (bukan gram negatif) terhadap kapsul bakteri.

- *Flagel*

Beberapa jenis bakteri mempunyai flagel sehingga bakteri dapat bergerak dengan bebas dan berenang dalam cairan habitatnya. *Flagel* adalah bagian bakteri yang berbentuk seperti benang dengan diameter 12-30 nanometer dan pada umumnya mengandung protein yang disebut dengan ***flagelin***. Berdasarkan pola keberadaan flagel pada tubuh sel bakteri, flagel dibagi alam empat jenis, yaitu ***monotrik*** flagel tunggal berada pada bagian ujung sel bakteri, ***amfitrik*** satu atau lebih flagel berada dikedua bagian polar sel bakteri, ***lofotrik*** lebih dari satu flagel berada di satu bagian polar sel bakteri, ***peritrik*** flagel tersebar di sekeliling tubuh sel bakteri.

- **Fimbria dan Pili**

Beberapa bakteri mempunyai organ tambahan berbentuk benang yang lebih pendek, lebih lurus, dan lebih kecil dari pada flagel, yang berfungsi sebagai alat untuk menempel dan bukan untuk bergerak, yaitu **pili** dan organ ini mengandung protein yang disebut **pilin**. **Pili** berperan dalam proses konjugasi sel dalam pemindahan materi genetik (DNA) antara satu sel bakteri dan sel bakteri lain sehingga terkadang disebut juga pili seks.

Fimbria terdapat diseluruh permukaan sel bakteri. Organ ini berperan dalam adhesi bakteri dengan sel hospes. Sebagai contoh, fimbria yang terdapat pada sel *Neisseria gonorrhoeae* berperan penting dalam proses kolonisasi bakteri pada membran mukosa sehingga dapat menyebabkan penyakit. Jika bakteri ini tidak memiliki fimbria maka bakteri ini tidak dapat menempel pada mukosa dan kolonisasi bakteri tidak terjadi sehingga tidak dapat menyebabkan penyakit.

(2) **Struktur dinding sel**

Dinding sel bakteri mempunyai struktur yang sangat kompleks yang terdiri atas komponen yang kaku dan kuat serta berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan keutuhan sel. Dinding sel harus mampu mempertahankan sel ketika tekanan osmotik di dalam sel lebih tinggi daripada di luar sel. Hampir semua sel prokariotik mempunyai dinding sel. Dinding sel relatif kuat dan lentur sehingga dapat menahan tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel bakteri (berkisar antara 5-20 atmosfer).

(3) **Struktur internal sel**

Struktur internal sel, terdiri atas membran sitoplasma, sitoplasma, area nukleus, ribosom, mesosom, dan inklusi.

- Membran Sitoplasma

Membran sitoplasma merupakan lapisan tipis yang berada tepat di dalam dinding sel yang melapisi sitoplasma sel. Fungsi penting membran sitoplasma adalah sebagai penyaring selektif keluar masuknya senyawa kimia dari luar dan dari dalam sel. Selain mengandung beberapa enzim yang dapat mencerna nutrisi dan menghasilkan energi ATP, membran plasma juga berfungsi untuk menjamin pemisahan materi genetik (DNA) ke sel anakan pada saat terjadi pembelahan sel.

- Sitoplasma

Sitoplasma merupakan substansi yang berada di dalam plasma dan mengandung 80% air. Selain itu, sitoplasma mengandung protein, enzim, karbohidrat, lipid, ion-ion anorganik, dan berbagai senyawa berbobot molekul rendah. Struktur utama sitoplasma prokariot terdiri atas area nucleus yang mengandung DNA, ribosom, berbagai inklusi, dan granul.

- Area Nukleus

Area nukleus atau nukleous sel bakteri mengandung DNA untai ganda berbentuk melingkar yang disebut dengan kromosom bakteri. Berbeda dari kromosom sel eukariot, kromosom bakteri tidak dikelilingi oleh membrane inti sel dan tidak mengandung protein histon. Selain kromosom, bakteri sering kali mengandung molekul DNA untai ganda berbentuk melingkar dan berukuran kecil yang disebut dengan plasmid. Plasmid merupakan elemen materi genetik ekstrakromosomal yang tidak berhubungan dengan kromosom bakteri.

Plasmid dapat bereplikasi secara otonom dan tidak bergantung pada kromosom bakteri. Plasmid biasanya mengandung sekitar 5-100 gen yang tidak begitu berperan pada ketahanan hidup sel dalam lingkungan tertentu. Namun, plasmid terkadang juga bermanfaat untuk kehidupan sel bakteri. Plasmid dapat

membawa gen yang menyebabkan resistensi terhadap antibiotik, gen yang memberikan ketahanan terhadap sifat toksik logam berat tertentu, gen yang menghasilkan toksin, atau gen yang menyintesis berbagai jenis enzim. Plasmid dapat berpindah dari sel bakteri yang satu ke sel bakteri yang lain.

- Ribosom

Semua sel, baik prokariot maupun eukariot, memiliki ribosom yang berfungsi penting untuk sintesis protein. Pengamatan dengan mikroskop electron menunjukkan bahwa sitoplasma dipenuhi oleh ribosom sehingga sitoplasma tampak bergranul. Ribosom pada prokariot berbeda dengan ribosom pada eukariot. Ribosom prokariot lebih kecil dibandingkan dengan ribosom eukariot.

- Mesosom

Pada beberapa tempat di membran plasma, terdapat lekukan ke dalam yang relatif besar dan biasa disebut dengan mesosom. Lekukan membrane plasma ini dapat memperluas permukaan membran dan berfungsi sebagai tempat kerja enzim yang terlibat dalam respirasi dan transpor electron. Mesosom, yang merupakan tempat menempelnya kromosom bakteri, juga berfungsi dalam proses pembelahan sel.

- Inklusi

Saat di dalam sitoplasma sel prokariot, terdapat granul-granul yang mengandung berbagai substansi, seperti glikogen, metafosfat anorganik, asam polihidroksibutirat, belerang atau senyawa yang mengandung nitrogen, yang biasanya digunakan sebagai cadangan nutrisi bagi sel. Substansi cadangan tersebut dikenal dengan inklusi. Tidak semua spesies bakteri memiliki inklusi tertentu, oleh karena itu, jenis inklusi sering kali digunakan untuk mengidentifikasi spesies bakteri.

2.1.2 Bentuk Bakteri

Menurut Hidayat *et al.*, (2006), Bakteri umumnya berukuran kecil dengan karakteristik dimensi sekitar 1 μ m. Bentuknya dapat bulat atau *cocci*, batang atau *bacilli*. Sel dapat tunggal maupun rantai. Beberapa kelompok memiliki *flagella* dan dapat bergerak aktif. Bakteri memiliki berat jenis 1,05-1,1 g cm⁻³ dan berat sekitar 10⁻¹² g sebagai partikel kering. Ukurannya aktual tergantung dari laju pertumbuhan, media tumbuh, dan sebagainya. Ada tiga bentuk dasar bakteri, yaitu bentuk bulat atau *kokus*, bentuk batang atau silindris, bentuk lengkung atau *vibri*.

1. Bentuk Bulat

Sebenarnya tidak ada bakteri yang betul-betul bulat, tetapi *spheroid*. Bentuk bulat atau kokus dapat dibedakan lagi dalam:

- a. *Mikrokokus*, bulat satu-satu.
- b. *Diplokokus*, bulat bergandengan dua-dua.
- c. *Streptokokus*, bulat bergandengan seperti rantai sehingga hasil pembelahan sel ke satu atau dua arah dalam satu garis.
- d. *Tetrakokus*, bulat terdiri dari 4 sel yang tersusun dalam bentuk bujur sangkar sebagai hasil pembelahan sel ke dua arah.
- e. *Sarsina*, bulat terdiri dari 8 sel yang tersusun dalam bentuk kubus sebagai hasil pembelahan sel ke tiga arah.
- f. *Stafilokokus*, bulat tersusun sebagai kelompok buah anggur sebagai hasil pembelahan sel ke segala arah.

2. Bentuk Batang

- a. *Diplobasilus*, bentuk batang dapat terdiri dari sel tunggal yang bergandengan dua-dua.
- b. *Streptobasilus*, bentuk batang seperti rantai.

3. Bentuk Lengkung

- a. *Vibrio*, apabila lengkungannya kurang dari setengah lingkaran.
- b. *Spirochaeta*, apabila spiralnya halus dan lentur.
- c. *Spirillum*, apabila spiralnya tebal dan kaku.

Menurut Irianto (2006), bentuk bakteri bermacam-macam, yaitu sebagai berikut:

1. Bakteri Berbentuk Bulat (Bola)

Bakteri berbentuk bulat atau bola dinamakan *kokus (coccus)*, dapat dibedakan atas:

- a. *Monokokus*, yaitu bakteri berbentuk bola tunggal
- b. *Diplokokus*, yaitu bakteri berbentuk bola yang bergandengan dua-dua
- c. *Sarkina*, yaitu bakteri berbentuk bola yang berkelompok empat-empat sehingga bentuknya mirip kubus.
- d. *Streptococcus*, yaitu bakteri bentuk bola yang berkelompok memanjang membentuk rantai.
- e. *Stafilokokus*, yaitu bakteri berbentuk bola yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur, sehingga bentuknya mirip dompolan buah anggur.

2. Bakteri Berbentuk Batang

- a. *Basil* tunggal, yaitu bakteri yang hanya berbentuk satu batang tunggal.
- b. *Diplobasil*, yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua-dua.
- c. *Streptobasil*, yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan memanjang membentuk rantai.

3. Bakteri Berbentuk Melilit

- a. *Spiral*, yaitu golongan bakteri yang bentuknya seperti spiral, dan umumnya sel tubuhnya umumnya kaku.
- b. *Vibrio*, atau bentuk koma, yaitu bakteri yang dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna.
- c. *Spirochaeta*, yaitu golongan bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur, pada saat bergerak, tubuhnya dapat memanjang dan mengkerut.

2.1.3 Struktur Utama dan Morfologi Sel Bakteri

Berdasarkan Radji (2011), Komponen utama struktur bakteri terdiri atas makromolekul, yaitu DNA, RNA protein, polisakarida, dan fosfolipida. Makromolekul terdiri atas sub-unit primer, yaitu nukleotida, asam amino, dan karbohidrat. Struktur dan urutan makromolekul menentukan fungsi makromolekul tersebut. Sebagai contoh, urutan nukleotida menentukan sifat genetik dari sel yang terdapat dalam kromosom DNA; urutan asam amino menentukan sifat dan fungsi protein; urutan gula dalam lipopolisakarida menentukan sifat dan fungsi spesifik pada golongan bakteri patogen. Secara keseluruhan, struktur utama makromolekul sangat mempengaruhi sifat-sifat suatu sel dan menentukan perbedaan fungsi sel itu dalam setiap sistem biologi.

Spesies bakteri dikarakteristikkan menjadi beberapa tipe yaitu bentuk sel, dimensi, morfologi dalam kondisi standart pada lingkungan pertumbuhan. Biasanya terdiri atas: 1. Bentuk sel (kokus, batang panjang dan pendek, spiral); 2. Tipe susunan sel (single cell, berpasangan, rantai, filamen, kelompok kecil); 3. Dimensi sel; 4. Bentuk potongan akhir sel (melingkar, persegi, meruncing, melengkung); 5. Bentuk spora (bulat, elips, bujur); 6. Tatanan sel (terpusat, polar); 7. Motil dan tipe flagel; 8. Kapsul; 9. Komposisi sel (Rodina,1972).

2.1.4 Pertumbuhan Bakteri

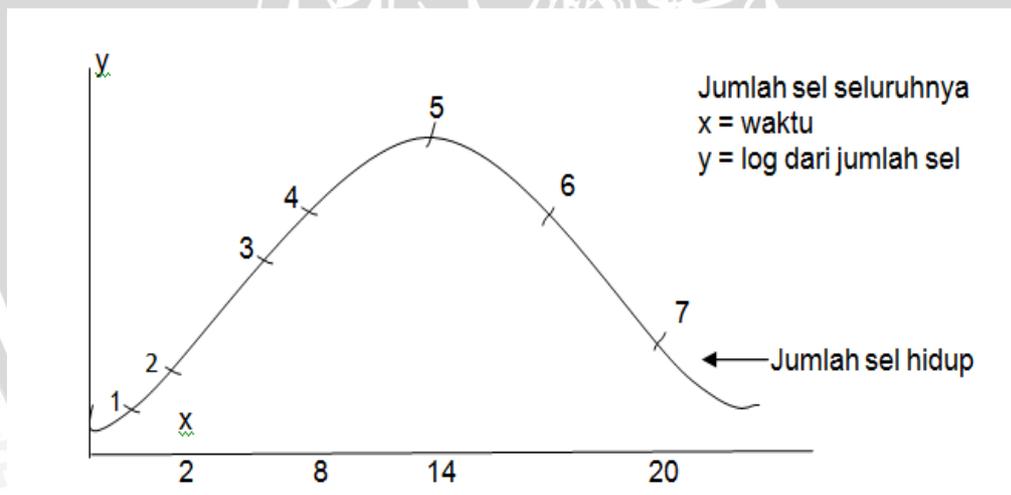
Menurut Waluyo (2005), Pada organisme uniseluler (bersel satu atau tunggal) pertumbuhan adalah penambahan jumlah sel, yang juga berarti penambahan jumlah organisme yang membentuk populasi atau suatu biakan. Umur sel jasad renik ditentukan segera setelah proses pembelahan sel selesai, sedangkan umur kultur ditentukan dari waktu atau lamanya inkubasi. Ukuran sel tergantung dari kecepatan pertumbuhannya. Semakin baik zat nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar.

Pertumbuhan tidak selalu berhubungan dengan pembelahan. Banyak spesies bakteri bentuk batang, disebabkan oleh banyak faktor-faktor ekstrogen, gagal mengadakan pembelahan, walaupun pembelahan bahan inti, pertumbuhan dinding, membran, dan isi sel terus berlangsung. Hasilnya ialah bukan penambahan jumlah sel, tetapi terbentuk filamen yang panjang dan tidak bersekat. Beberapa zat penghalang pembelahan sel ialah, sabun dan garam-garam empedu, radiasi ultraviolet, beberapa antibiotik, efek nutrisi, dan mutasi. Faktor-faktor ini menghambat pembentukan septum, tetapi tidak menghambat pertumbuhan. Mekanismenya yang tepat masih belum diketahui (Irianto,2006).

Menurut Radji (2011), Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri antara lain: suhu, pH, tekanan osmotik, dan faktor kimia (karbon, nitrogen, sulfur, fosfor dan unsur kelumit seperti Cu, Zn dan Fe), Oksigen, sedangkan fase pertumbuhan mikroorganisme menurut Dwidjoseputro, (2005) antara lain :

- **Fase Adaptasi**, yaitu 1 sampai 2 jam setelah pemindahan, bakteri belum mengadakan pembiakan.

- **Fase Permulaan Pemiakan**, dimana jumlah bakteri mulai bertambah sedikit demi sedikit sel – sel dalam fase ini tampak gemuk.
- **Fase Pemiakan cepat (fase logaritma)**, pada fase ini pemiakan bakteri berlangsungnya paling cepat.
- **Fase Pemiakan diperlambat**, menyusutnya jumlah sel-sel yang segar, kecepatan biakan menjadi kurang sekali.
- **Fase Konstan**, dimana jumlah bakteri yang berbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati.
- **Fase Kematian**, dimana jumlah bakteri yang mati makin banyak, dan makin melebihi jumlah bakteri yang membelah diri.
- **Fase Kematian dipercepat**, cepat meranannya koloni, jumlah bakteri yang mati senantiasa bertambah.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Bakteri

2.1.5 Metabolisme Bakteri

Metabolisme adalah semua proses kimia yang terjadi di dalam sel hidup. Karena semua reaksi kimia yang terjadi membutuhkan atau melepaskan energi. Metabolisme terdiri atas dua jenis reaksi kimia, yaitu proses kimia yang

menghasilkan energi dan proses kimia yang membutuhkan energi. Selama bakteri hidup dan melangsungkan proses hidup (seperti tumbuh, bergerak, dan berkembang biak), bakteri selalu membutuhkan energi. Oleh karena itu, bagian yang penting dalam mempelajari metabolisme bakteri adalah bagaimana bakteri memperoleh energi (Radji, 2011).

Pada sel hidup, proses reaksi kimia yang menghasilkan energi disebut dengan *katabolisme*, dan proses reaksi kimia yang membutuhkan energi disebut dengan *anabolisme*. Reaksi katabolik umumnya merupakan reaksi hidrolisis yang memecah senyawa organik kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, misalnya reaksi pemecahan senyawa gula menjadi karbon dioksida dan air. Reaksi ini disebut juga dengan reaksi katabolisme karbohidrat. Sebaliknya, reaksi anabolik atau reaksi biosintesis merupakan proses yang membangun molekul organik kompleks dari senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Contoh reaksi anabolik adalah pembentukan molekul protein dari asam amino, pembentukan nukleotida dari asam nukleat, dan pembentukan polisakarida dari monosakarida. Proses biosintesis ini sangat dibutuhkan dalam pertumbuhan sel (Radji, 2011).

2.2 Bakteri Termofil

Bakteri termofil mampu hidup secara optimal di atas suhu 45°C, dengan struktur protein penyusun enzim yang tetap stabil atau tidak terdenaturasi oleh panas. Mikroorganisma ini sendiri tidak hanya bersifat toleran terhadap suhu lingkungannya yang bersifat ekstrim, tetapi juga mampu untuk bertahan hidup dan berkembangbiak pada kondisi suhu yang ekstrim tersebut (Brock, 1986). Menurut Rahayu *et al.*, (1999), Kemampuan bakteri termofilik untuk bertahan hidup di

lingkungan panas disebabkan bakteri termofil mempunyai membran sel yang kaya akan asam lemak jenuh dan membran ribosom yang juga tahan panas.

Spesies termofil paling banyak ditemukan pada kelompok bakteri dan dapat tetap hidup pada keadaan aerob, anaerob fakultatif dan anaerob. Kemampuan hidup mikroorganisme termofil ini berhubungan dengan struktur selnya yang memiliki beberapa kelebihan yaitu:

1. Struktur membran sel

Membran sel setiap makhluk hidup tersusun atas senyawa lipid dan protein yang disebut lipoprotein. Pada umumnya bagian lipid dari membran sel makhluk hidup dihubungkan oleh ikatan ester, sedangkan pada organisme termofil senyawa lipid membran selnya mengandung ikatan eter yang terbentuk lewat proses kondensasi dari gliserol atau senyawa poliol kompleks lainnya dengan alkohol isoprenoid yang mengandung 20, 25 atau 40 atom karbon. Lebih jauh lagi senyawa eter gliserol pada Archaeobacteria ini mengandung 2,3 *O-sn-gliserol* yang menyebabkan struktur lipoprotein dari membran sel termofil tersebut lebih stabil (Sianturi, 2008).

2. Chaperonin

Chaperonin merupakan jenis protein yang sangat jarang dijumpai pada protein-protein fungsional lainnya di dalam sel. Protein ini berperan dalam mempertahankan kembali struktur tiga dimensi dari protein fungsional sel dari denaturasi suhu lingkungan yang bersifat ekstrim. Protein ini memiliki struktur yang tetap stabil, tahan terhadap denaturasi dan proteolisis sehingga dapat membantu organism termofil mengembalikan fungsi aktifitas enzimnya bila terdenaturasi oleh suhu yang tinggi. *Chaperonin* tersusun oleh molekul yang disebut *chaperone*, yang membentuk struktur chaperonin seperti tumpukan kue

donat pada sebuah drum. Tiap cincin donat terdiri atas 7, 8 atau 9 subunit *chaperone* tergantung jenis organismenya. Dalam aktivitasnya mempertahankan struktur protein fungsional agar tetap stabil, *chaperonin* membutuhkan molekul ATP (Sianturi, 2008).

3. Struktur DNA girase

DNA girase merupakan salah satu anggota kelompok enzim topoisomerase yang berperan dalam mengontrol topologi DNA suatu sel dan memegang peran penting dalam proses replikasi dalam transkripsi DNA. Semua jenis topoisomerase dapat merelaksasikan DNA tetapi hanya DNA girase yang dapat mempertahankan struktur DNA tetapi berbentuk supercoil. DNA girase disusun oleh 90-150 pasangan basa-N DNA. DNA girase ini juga selalu dijumpai pada organisme yang hidup dilingkungan di atas suhu 70°C dan juga dapat dijumpai pada organisme yang hidup pada kisaran suhu sekitar 60°C. DNA ini merupakan salah satu kelengkapan sel dari organisme termofil (Sianturi, 2008).

2.3 Enzim Termostabil

Enzim adalah molekul protein kompleks yang dihasilkan oleh sel hidup dan bekerja sebagai katalisator dalam berbagai proses kimia di dalam tubuh. Reaksi yang tidak dikatalisis kerap kali memberikan hasil produk yang tidak spesifik, tetapi reaksi yang dikatalisis enzim akan menghasilkan produk spesifik tergantung dari spesifik substrat yang diberikan (Soeka *et al.*, 2011).

Enzim merupakan protein yang disintesis oleh sel makhluk hidup untuk mengkatalisis reaksi yang berlangsung didalamnya. Enzim memiliki sifat-sifat umum protein dan merupakan biokatalisator dengan spesifitas dan efisiensi tinggi. Enzim akan terdenaturasi pada suhu tinggi dan kondisi ekstrim lainnya seperti tinggi

rendahnya pH atau tekanan, (Suhartono, 1989). Dan Lehninger (1997) menambahkan bahwa enzim adalah katalisator sejati. Molekul ini meningkatkan dengan nyata kecepatan reaksi kimia spesifik yang tanpa enzim akan berlangsung amat lambat. Enzim tak dapat mengubah kesetimbangan reaksi yang dikatalisisnya; enzim juga tak akan habis dipakai atau diubah secara permanen oleh reaksi-reaksi ini.

Istilah termostabil dapat didefinisikan dalam sejumlah arti dan bersifat relatif. Definisi termostabil umumnya dihubungkan dengan sifat alami dari enzim dan sumber penghasil enzim. Enzim termostabil sering dikenal dengan sebutan termozim merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme termofilik. Enzim ini tidak mengalami denaturasi akibat naiknya suhu lingkungan dan menunjukkan aktivitas optimum pada suhu tinggi (6-120°C). Enzim termostabil biasanya digunakan untuk meneliti beberapa hal, seperti evolusi enzim, mekanisme molekuler, termostabil protein dan batas suhu maksimum. Enzim termostabil secara struktur maupun fungsi memiliki keunikan tersendiri, berbeda dengan enzim yang berasal dari bakteri mesofilik. Hal ini diakibatkan karena enzim ini menunjukkan ketahanan terhadap suhu tinggi yang sangat baik (Wiryawan, 2011).

Selain suhu aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH lingkungan tempat enzim tersebut bekerja. Banyak enzim yang sensitif terhadap perubahan pH dan setiap enzim memiliki pH optimum untuk aktivitasnya. Perubahan pH dapat menyebabkan berhentinya aktivitas enzim akibat proses denaturasi pada struktur tiga dimensi enzim (Palmer, 1985). Umumnya enzim bekerja optimum pada rentang pH 6-8, tetapi beberapa jenis organisme dapat hidup pada pH yang lebih rendah yang dikenal dengan istilah asidofil ataupun pada pH yang lebih tinggi yang dikenal dengan istilah alkalifil. Bakteri termofil memiliki enzim termostabil. Beberapa enzim

yang telah diteliti antara lain selulase, amylase, protease, kreatinase, xylanase, kitinase, dan lain-lain (Dewi, 2008).

2.4 Peranan Enzim Termotabil Pada Produk Perikanan

Bakteri termofil menghasilkan enzim termotabil yang sangat penting dalam proses industri dan bioteknologi, seperti dalam teknik-teknik biologi molekuler untuk kegunaan penelitian dan diagnostik (enzim yang memproses DNA dan RNA) dan kemampuan enzim untuk mengubah tepung, makanan, pengelolaan sampah, pembuatan kertas dan sintesis zat-zat organik (Sutiamiharja, 2008). Sehingga dalam industri, enzim termotabil memiliki peranan yang baik dalam pengolahan bahan pangan dibidang perikanan khususnya yang menggunakan suhu tinggi dalam pengolahannya, misalnya dalam pembuatan kitin dan kitosan.

Kitin dan khitosan merupakan polimer karbohidrat yang biasanya ditemukan pada hewan golongan krustasea seperti udang, lobster dan kepiting dan mempunyai banyak kegunaan, antara lain sebagai bahan tambahan makanan yang berfungsi untuk mempertahankan tekstur makanan dan pengemulsi makanan yang baik. Di bidang kedokteran digunakan sebagai bahan untuk mempercepat penyembuhan luka, krim penghalus kulit dan sebagai bahan benang bedah. Karotenoid yang diekstrak nantinya dapat digunakan sebagai bahan aditif untuk produk perikanan, baik perikanan budidaya maupun ikan-ikan hias sehingga intensitas warnanya akan lebih baik (Ebookpangan, 2006).

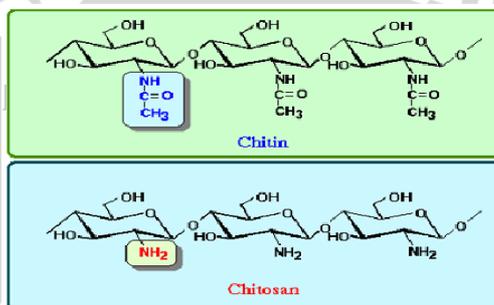
Untuk mendapatkan kitin dapat diperoleh dengan cara menggiling kulit udang lalu dilakukan penambahan NaOH untuk menghilangkan protein (deproteinasi) dan HCl untuk menghilangkan mineral (demineralisasi), setelah itu dilakukan proses pengeringan (Hendarsyah, 2006). Sampai saat ini pengolahan limbah untuk

mendapatkan kitin ada dua cara, yaitu pengolahan 1) secara kimiawi dengan cara demineralisasi dan deproteinasi melalui penambahan asam atau basa kuat, 2) secara biokimia dengan penambahan enzim proteolitik untuk deproteinasi dan melibatkan kitinase untuk mendegradasi limbah kitin (Haliza dan Maggy, 2012).

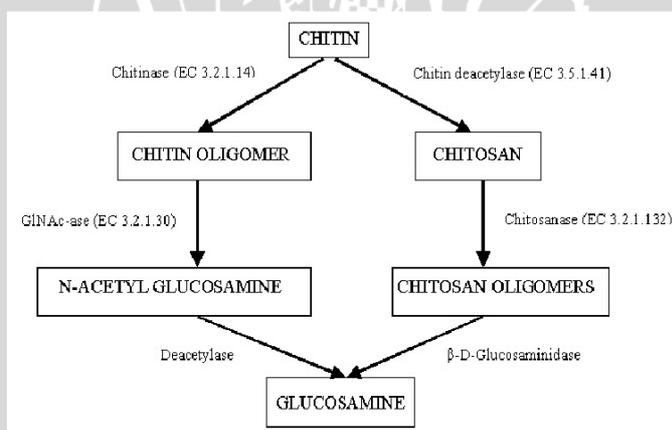
Pada proses demineralisasi dapat pula dilakukan secara kimia dan biologi. Demineralisasi secara kimia menggunakan senyawa kimia seperti asam klorida. Demineralisasi secara biologi yaitu melarutkan mineral yang terdapat dalam kulit udang melalui proses fermentasi asam laktat yang bereaksi dengan kalsium karbonat dalam kulit udang dan membentuk kalsium laktat yang larut dalam air (Jung *et al.*, 2007). Kemudian ditambahkan oleh Arif *et al.*, (2013) pada tahap deproteinase sampel hasil demineralisasi dan dekolorisasi dilanjutkan dengan melarutkannya ke dalam enzim protease dengan perbandingan 1:10 (sampel:pelarut), kemudian dimasukkan ke dalam *shaker incubator* dan diinkubasi selama 1, 2, 3, dan 24 jam pada suhu 50°C. selanjutnya disaring dengan penyaring büchner, dan residunya dicuci dengan akuades hingga pH netral, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam.

Selain itu peranan enzim termostabil juga dapat diaplikasikan dalam pembuatan kitosan dari kitin pada cangkang udang atau kepiting (*crustacea*). Dalam proses pembuatan kitosan, enzim kitin deasetilase berperan dalam proses perubahan kitin menjadi kitosan. Ketika pengolahan kitin menjadi kitosan harus dilakukan proses deasetilasi kitin, saat melakukan proses deasetilasi, gugus asetil harus dihilangkan namun tetap mempertahankan gugus amin nya. Proses tersebut dapat dilakukan secara kimia maupun secara enzimatik. Secara kimiawi proses deasetilasi dilakukan dengan merendam kitin dalam NaOH 50% dengan berat NaOH 50% 10 kali dari berat sampel lalu dipanaskan dengan suhu 116-120°C selama 2

jam (Ebookpangan, 2006). Sedangkan proses deasetilasi secara enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan enzim kitin deasetilasi (EC 3.5.1.41) yang diperoleh dari mikroorganisme seperti *Mucor rouxii* (Kafetzopoulos *et al.*, 1993), *E.Coli* (Tokoyasu *et al.*, 1999) dan *Colletotrichum lindemuthianum* (Tokoyasu *et al.*, 1999). Kemudian ditambahkan oleh Yamasaki *et al.*, (1993), beberapa mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim dengan aktivitas kitinolitik (kitin deasetilase), telah berhasil diisolasi diantaranya dari *Enterobacter* sp.



Gambar 2. Senyawa Kimia Khitin dan Khitosan



Gambar 3. Jalur degradasi kitin secara enzimatik (Gooday, 1994)

2.5 Kultur Bakteri

Media perbenihan adalah media nutrisi yang disiapkan untuk menumbuhkan bakteri di dalam skala laboratorium. Beberapa bakteri dapat tumbuh dengan baik pada setiap perbenihan, sedangkan yang lain membutuhkan media khusus. Media perbenihan harus dapat menyediakan energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Media harus mengandung sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, dan pertumbuhan organik. Sejumlah bakteri yang diinokulasikan pada sebuah media perbenihan disebut **inokulum**. Bakteri yang tumbuh dan berkembang biak dalam media perbenihan itu disebut **biakan bakteri** (Radji,2011).

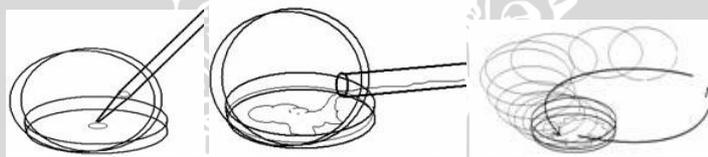
Medium biakan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam bentuk padat, semi padat, dan cair. Medium padat diperoleh dengan menambahkan agar. Agar berasal dari ganggang merah. Agar digunakan sebagai pematat karena tidak dapat diuraikan oleh mikroba dan membeku pada suhu 45°C. Kandungan sebagai bahan pematat dalam medium adalah 1,5-2,0%. Setelah medium biakan disiapkan, harus disterilkan lebih dahulu sebelum digunakan membiakkan mikroba. Saat di laboratorium, sterilisasi medium menggunakan otoklaf dengan tekanan uap air, sehingga suhu dapat mencapai 121°C dan tekanan lbs atau 1 atm selama 15 menit (Waluyo,2005).

Menurut Surya (2013), Alasan diteteskannya bakteri sebanyak 0,1 ml untuk spread plate dan 1 ml untuk *pour plate* karena *spread plate* ditujukan untuk menumbuhkan dipermukaanya saja, sedangkan *pour plate* membutuhkan ruang yang lebih luas untuk penyebarannya sehingga diberikan lebih banyak dari pada *spread plate*.

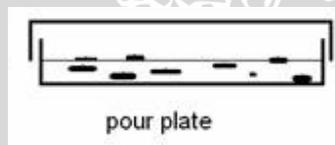
2.5.1 Metode Tuang (*Pour Plate*)

Menurut Surya (2013), Teknik ini memerlukan agar yang belum padat ($>45^{\circ}\text{C}$) untuk dituang bersama suspensi bakteri ke dalam cawan petri, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Hal ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan agar saja, melainkan sel terendam agar (di dalam agar) sehingga terdapat sel yang tumbuh dipermukaan agar yang kaya O_2 dan ada yang tumbuh di dalam agar yang tidak banyak atau tidak begitu banyak mengandung oksigen. Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Siapkan cawan steril, tabung pengenceran yang akan ditanam dan media pada yang masih cair ($> 45^{\circ}\text{C}$)
2. Teteskan 1 ml secara aseptis suspensi sel kedalam cawan kosong
3. Tuangkan media yang masih cair ke cawan kemudian putar cawan untuk menghomogenkan suspensi bakteri dan media. Kemudian diinkubasi.



Gambar 4. Teknik penanaman dengan metode tuang

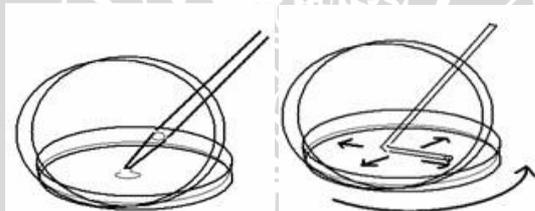


Gambar 5. Hasil penanaman dengan metode tuang

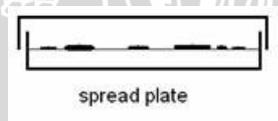
2.5.2 Metode Tebar (*Spread Plate*)

Menurut Surya (2013), *Spread plate* adalah teknik menanam dengan menyebarkan suspensi bakteri di permukaan agar diperoleh kultur murni. Adapun prosedur kerja yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Ambil suspensi cairan sebanyak 0,1 ml dengan pipet ukur kemudian teteskan diatas permukaan agar yang telah memadat.
2. Batang L atau batang drugal diambil kemudian disemprot alkohol dan dibakar diatas bunsen beberapa saat, kemudian didinginkan dan ditunggu beberapa detik.
3. Kemudian disebar dengan menggosokkannya pada permukaan agar supaya tetesan suspensi merata, penyebaran akan lebih efektif bila cawan ikut diputar.
4. Hal yang perlu diingat bahwa batang L yang terlalu panas dapat menyebabkan sel-sel mikroorganisme dapat mati karena panas.



Gambar 6. Teknik penanaman dengan metode tebar



Gambar 7. Hasil penanaman dengan metode tebar

2.6 Isolasi Bakteri

Penelitian yang layak mengenai mikroorganisme dalam berbagai habitat ini memerlukan teknik untuk memisahkan populasi campuran yang rumit ini atau

disebut dengan *biakan campuran*. Biakan murni terdiri dari suatu populasi sel yang semuanya berasal dari satu sel induk. Mikroorganisme dibiakkan di laboratorium pada bahan nutrien yang disebut medium. Banyak medium yang tersedia tergantung dari macam mikroorganisme yang akan ditumbuhkan. Bahan yang akan diinokulasi pada medium disebut dengan *inokulum* dengan menginokulasi medium agar nutrien, dengan menggunakan *metode cawan gores* atau *metode cawan tuang*. sel-sel akan terpisah sendiri-sendiri. Setelah inkubasi sel-sel mikroba individu itu memperbanyak diri dengan cepat dalam waktu 18-24 jam akan terbentuk massa sel yang dapat dilihat dengan mata telanjang yang disebut dengan *koloni*. Setiap koloni yang berlainan dapat mewakili macam mikroorganisme yang berbeda-beda. Setiap koloni merupakan biakan murni satu macam mikroorganisme (Pelczar dan Chan,1986).

Menurut Purnomo (2008), di alam bebas tidak ada mikroorganisme yang hidup tersendiri terlepas dari mikroorganisme lain. Sering berbagai jenis maupun kelompok mikroorganisme kedapatan secara bersama-sama di suatu titik, tempat, maupun bahan tertentu. Oleh karena itu, di dalam mempelajari suatu mikroorganisme diperlukan teknik untuk menyendirikan (isolasi) mikroorganisme yang bersangkutan dari mikroorganisme- mikroorganisme lainnya, kita sebut dengan teknik biakan murni. Di dalam pelaksanaan teknik biakan murni tidak hanya bagaimana memisahkannya tetapi juga bagaimana memelihara dan mencegah terjadinya kontaminasi (pencemaran) dari mikroorganisme yang tidak kita kehendaki.

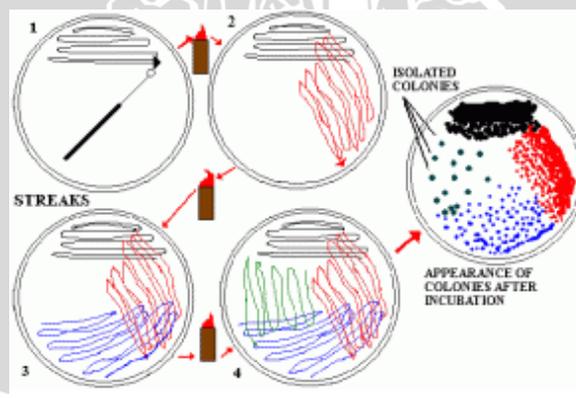
Mikroorganisme yang akan diisolasi dapat berupa biakan mumi atau populasi campuran. Bila biakan yang akan diidentifikasi ini tercemar, perlu dilakukan pemurnian terlebih dahulu. Pemurnian dilakukan dengan cara menggores suspensi mikroba yang akan diisolasi pada agar lempengan. Setelah diperoleh koloni

terpisah, dibuat pewamaan Gram dari berbagai koloni untuk melihat kemumian biakan (Lay, 1994).

2.6.1 Cawan Gores

Inokulum digoreskan dipermukaan medium agar nutrisi dalam cawan petri dengan menggunakan jarum pindah (lup inokulasi). Kemudian diantara garis-garis goresan akan terdapat sel-sel yang cukup terpisah-pisah sehingga dapat tumbuh menjadi koloni-koloni terpisah seperti yang terdapat pada (Pelczar dan Chan, 1986).

Cara penggarisan dilakukan pada medium pembiakan padat bentuk lempang. Bila dilakukan dengan baik cara ini adalah yang paling praktis. Setiap laboratorium memiliki cara atau metode pengerjaan yang berbeda-beda, tetapi tujuannya adalah sama, yaitu untuk membuat garis sebanyak mungkin pada permukaan lempeng medium pembiakan dengan ose atau jarum bahan pemeriksaan yang terlepas pada garis-garis tersebut semakin lama semakin sedikit, sehingga pada garis-garis terakhir koloni-koloni bakteri bakteri yang terbentuk akan terpisah agak jauh (Irianto, 2006).

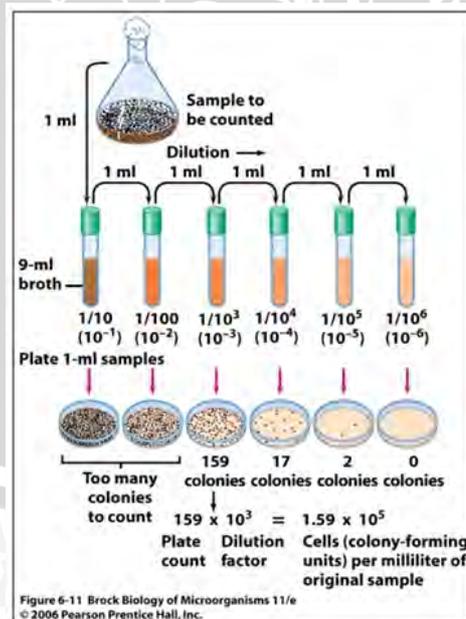


Gambar 8. Isolasi dengan metode cawan gores

2.6.2 Cawan Tuang

Menurut Pelczar dan Chan (1986), dalam isolasi mikroorganismenya dengan menggunakan metode cawan tuang terdapat langkah-langkah yang harus diperhatikan yaitu:

1. Dengan menggunakan lup inokulasi, pindahkan satu lup penuh suspensi asal ke dalam tabung A (medium agar cair yang agak dingin). Tabung A digelindingkan diantara kedua tangan agar inokulumnya bercampur secara merata. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat atau pemindahan serupa dari tabung A ke B dan dari B ke C.
2. Isi setiap tabung dituangkan ke dalam cawan petri terpisah
3. Setelah inkubasi, cawan-cawan diperiksa kalau-kalau ada koloni yang terisolasi. Kemudian dari cawan-cawan yang berisikan koloni-koloni terisolasi dapat diisolasi biakan murni mikroorganismenya dengan memindahkan sebagian dari satu koloni ke dalam tabung berisi medium steril.



Gambar 9. Tahapan isolasi dengan metode cawan tuang

Berdasarkan Irianto (2006), isolasi bakteri dengan cara tuang ini umumnya dilakukan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan, misalnya air, susu, kemih atau biakan bulyon. Hasilnya dinyatakan dalam jumlah koloni, yang berarti jumlah bakteri hidup dal tiap milimeter cairan yang diperiksa.

Cara pengerjaannya adalah sebagai berikut.

- a. Dari suspensi bahan pemeriksaan dibuat pengenceran
- b. Dari tiap pengenceran diambil satu milimeter dan diletakkan ke dalam pinggan petri steril.
- c. Ke dalam tiap pinggan petri tersebut dituang medium pembiakan yang telah dicairkan dan didinginkan sampai suhu kira-kira 40°C-45°C. Dengan perlahan-lahan pinggan petri itu digoyang dengan gerakan memutar tanpa diangkat dari permukaan meja, sehingga bahan pemeriksaan tercampur rata dalam medium pembiakan, kemudian diamkan sampai beku.
- d. Pengeraman dilakukan pada suhu yang sesuai selama 18-20 jam, kemudian koloni-koloni dihitung. Dalam hal ini bahan pemeriksaan tidak murni untuk penelitian koloni bakteri yang dicari, ciri-ciri koloni dan reaksi terhadap medium pembiakan membantu memisahkan tipe bakteri.

2.7 Karakteristik Bakteri

Ada beberapa metode untuk mencirikan suatu mikroorganisme, yaitu: secara morfologis, nutrisi, kultural, metabolik, susunan kimiawi, susunan antigen, dan patogenik. Pada **uji morfologis** pengamatan dilakukan pada spesimen dengan bantuan mikroskop cahaya atau elektron baik diwarnai atau tidak. Teknik mikroskop elektron memungkinkan pengamatan irisan ultra tipis sel-sel mikroba. **Uji nutrisi** dengan cara penentuan substansi kimiawi dan keadaan fisik yang

khusus (suhu, cahaya, gas) yang diperlukan untuk menunjang pertumbuhan mikroorganismenya. **Uji kultural**, penentuan tampak pertumbuhan mikroba pada berbagai macam medium laboratorium, baik yang cair maupun yang padat. **Uji metabolik**, identifikasi dan pengukuran perubahan kimiawi yang dilakukan oleh mikroorganismenya, misalnya apakah suatu mikroba mampu mengubah karbohidrat menjadi asam. **Uji susunan kimiawi**, penentuan susunan kimiawi berbagai komponen sel, misalnya untuk memperoleh fragmen dinding sel, bahan nukleus, dan membran. **Uji susunan antigen**, pencirian mikroorganismenya terutama bakteri dan virus dengan penelaahan antigen, dimana antigen dan antibodi merupakan bagian dari sistem imunologis yang kompleks. **Uji patogenik**, penentuan populasi suatu biakan mikroba mampu menimbulkan penyakit atau tidak (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut Prabaningtyas (2003), Karakterisasi dapat dilakukan berdasarkan sifat sitologi (bentuk sel, gerak, sifat Gram, dan endospora), sifat morfologi koloni, dan sifat fisiologi. Berdasarkan Fardiaz (1988), Karakterisasi merupakan dasar dalam identifikasi mikroba secara sistematis yang terdiri dari tiga tahap penting yaitu (a) klasifikasi: mengelompokkan mikroorganismenya ke dalam grup; (b) nomenklatur: menetapkan nama ilmiah internasional yang tepat terhadap organismenya; dan (c) identifikasi penetapan organismenya ke dalam klasifikasi yang diberi nama sesuai nomenklatur.

Uji sifat morfologi koloni sangat penting untuk identifikasi bakteri karena karakterisasi koloni bakteri pada medium lempeng dapat mempunyai nilai identitas. Sifat-sifat koloni, seperti ukuran, bentuk, warna, dan lain-lain memberi nilai diagnostik (Prabaningtyas, 2003).

2.7.1 Uji Morfologi Bakteri

Menurut Pelczar dan Chan (1986), Sel bakteri amat beragam panjangnya. Beberapa spesies, sel dapat berukuran 100 kali lebih panjang daripada sel spesies yang lain. Berdasarkan morfologinya uji morfologi sel bakteri terbagi atas tiga kelompok yaitu:

1. Ukuran

Satuan ukuran bakteri adalah mikrometer (μm) yang setara dengan $1/1000$ mm atau 10^{-3} mm. Walaupun bakteri amat kecil ukurannya namun dapat diukur dengan mikroskop yang memiliki *mikrometer okular*. Misalnya dari segi kuantitatif suatu volume sebanyak 1 cm^3 mengandung sekitar setengah triliyun bakteri berbentuk batang berukuran rata-rata padahal berat bakteri hanya 1 gram.

2. Bentuk

Sel-sel bakteri dapat berbentuk seperti elips, bola, batang atau spiral. Masing-masing ciri ini penting dalam mencirikan morfologi suatu spesies. Bentuk sel bakteri yang berbeda-beda dapat disebabkan oleh sifat dari dinding sel nya.

3. Penataan

Spesies-spesies bakteri tertentu menunjukkan adanya pola penataan sel, seperti berpasangan, gerombol, rantai, atau filamen. **Kokus** memperlihatkan beberapa penataan yang berbeda-beda. Masing-masing penataan ini merupakan pola khusus bagi spesies kokus tertentu. Penataan sel tersebut jarang sekali terlihat disemua sel suatu spesies. Penataan yang terlihat paling banyak terjadi merupakan ciri yang penting. **Basilus** tidak menata dirinya dalam berbagai pola seperti yang khas dijumpai pada kokus. Basilus yang menyebabkan difteri cenderung untuk membentuk kelompok-kelompok sel yang berdampingan seperti batang korek api. Basilus tuberkulosis dapat dijumpai dalam suatu penataan tiga basilus yang

terkesan membentuk huruf Y. Sel-sel beberapa spesies akuatik menata dirinya dalam bentuk roset. **Spiral** sering dijumpai sebagai sel tunggal.

Identifikasi isolat bakteri berdasarkan karakteristik fenotip, yaitu morfologi, biokimia, dan fisiologi. Pengamatan morfologi (merujuk pada Cappucino & Sherman, 2001) meliputi bentuk, tepi, elevasi, warna dan ukuran koloni yang tumbuh terpisah pada medium. Pengamatan morfologi sel mencakup bentuk, sifat gram, dan motilitas dibawah mikroskop binokuler pada perbesaran 10 dan 40x. Pengamatan fisiologi uji pertumbuhan pada suhu 15 dan 45⁰C pada pH 4 dan 9, konsentrasi NaCl 6,5; 10; dan 18% dalam medium MRS broth (Nursyirwani *et al.*, 2011).

2.7.2 Uji Pewarnaan Gram

Menurut Pelczar dan Chan (1986), Pewarnaan gram merupakan salah satu teknik pewarnaan diferensial yang paling penting dan paling luas digunakan untuk bakteri. Dalam proses pewarnaan gram bakteri yang terfiksasi dikenai larutan-larutan secara berurutan yaitu ungu kristal, larutan yodium, alkohol (bahan pemucat), dan safranin. Dalam uji pewarnaan gram bakteri dibagi atas dua kelompok yaitu *bakteri gram positif* yang mampu mempertahankan zat warna ungu kristal sehingga tampak ungu tua dan *bakteri gram negatif* yang tampak berwarna merah karena kehilangan zat warna ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol dan menyerap zat warna merah safranin.

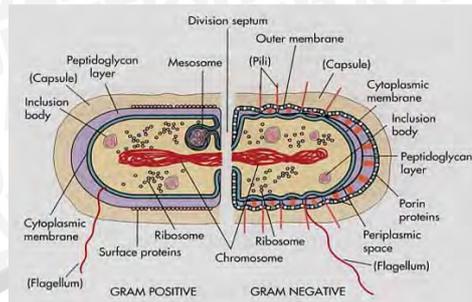
Menurut Hadioetomo (1985), Bakteri Gram positif terlihat berwarna ungu karena asam-asam ribonukleat pada sitoplasma sel-sel Gram positif membentuk ikatan lebih kuat dengan kristal violet. Namun, sel-sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang lebih tinggi dan umumnya mudah larut oleh alkohol yang memperbesar pori-pori dinding sel. Dengan demikian pemucatan pada sel-sel gram negatif lebih cepat.

Tabel 1. Pewarnaan Gram

NO.	LARUTAN DAN URUTAN PENGGUNAANNYA	REAKSI DAN TAMPANG BAKTERI	
		Gram Positif	Gram Negatif
1.	Ungu Kristal (UK)	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
2.	Larutan Yodium (Y)	Kompleks UK-Y terbentuk didalam sel; sel tetap berwarna ungu.	Kompleks UK-Y terbentuk didalam sel; sel tetap berwarna ungu.
3.	Alkohol	Dinding sel mengalami dehidrasi, pori-pori menciut; daya rembes dinding sel dan membran menurun, UK-Y tak dapat keluar dari sel; sel tetap ungu	Lipid terekstraksi dari dinding sel, pori-pori mengembang, kompleks UK-Y keluar dari sel. Sel menjadi tak berwarna.
4.	Safranin	Sel tak terpengaruh, tetap ungu	Sel menyerap zat pewarna ini, menjadi merah

Sumber: Pelczar (1986)

Berdasarkan Brown (2001), Isolat yang tumbuh dari media tersebut, diidentifikasi lanjut yaitu pewarnaan Gram dan uji biokimia. Pewarnaan Gram digunakan untuk menentukan kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pada pewarnaan Gram, bakteri Gram positif akan memberikan warna ungu, hal ini disebabkan karena bakteri Gram positif mengalami denaturasi protein pada dinding selnya akibat pencucian dengan alkohol. Protein menjadi keras dan beku, pori-pori mengecil dan permeabilitas dinding sel berkurang sehingga kompleks kristal violet yang berwarna ungu dipertahankan dan bakteri akan tetap berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif akan memberikan warna merah karena lipid yang terdapat di dalam dinding selnya akan larut pada waktu pencucian dengan alkohol sehingga pori-pori dan dinding sel akan membesar dan menyebabkan terlepasnya kompleks kristal violet yang diserap sebelumnya dan bakteri akan berwarna merah setelah diberikan safranin.



Gambar 10. Susunan Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

2.7.3 Uji Biokimia

Sifat biokimia sering dijadikan dasar untuk mengidentifikasi jenis bakteri, karena setiap spesies bakteri dapat memproduksi jenis enzim yang berbeda. Keberadaan jenis enzim tertentu dalam suatu bakteri dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi jenis bakteri tersebut dengan menggunakan uji fermentasi. Bakteri dimasukkan dalam larutan media yang mengandung protein, karbohidrat tertentu (misalnya glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, atau inositol), dan indikator pH serta tabung Durham untuk mengetahui terbentuknya gas selama proses fermentasi. Bakteri yang diinokulasi ke dalam media tersebut akan menggunakan protein atau karbohidrat sebagai sumber karbon atau energi (Radji, 2011).

2.7.3.1 TSIA

Menurut Irianto (2007), *Triple Sugar Iron Agar* mengandung glukosa, laktosa, sakarosa dan ferosulfat. Medium pembiakan ini disediakan dalam bentuk agar miring. TSIA ini biasa digunakan untuk diferensiasi pendahuluan jenis-jenis *Enterobacteriaceae*. Cara penggunaannya adalah sebagai berikut:

- Dasar medium, yang disebut "*butt*", ditanam dengan cara menusuk
- Bagian miring medium, yang disebut "*slant*" ditanam secara zig-zag pada permukaannya.
- Tabung harus ditutup sedikit longgar supaya terdapat pertukaran udara bebas.

Konsentrasi dalam medium pembiakan TSI agar adalah 1/10 dari konsentrasi laktosa dan sakarosa. Konsentrasi yang kecil ini dimaksudkan untuk mengetahui bila hanya glukosa saja yang difermentasi, maka hasil fermentasi di bagian "slant" karena sedikit, segera teroksidasi sehingga warna indikator tidak berubah. Di bagian "butt" tegangan oksigen lebih rendah, sehingga reaksi asam tetap dipertahankan. Itulah sebabnya tutup tabung tidak boleh terlalu rapat untuk memungkinkan pertukaran udara secara bebas, sehingga keadaan alkalis di bagian "slant" dapat dipertahankan. Ferrosulfat dalam medium ini dimaksudkan untuk melihat pembentukan hidrogensulfida. Bila H₂S dibentuk maka bagian dasar akan terbentuk warna hitam.

Tabel 2. Reaksi Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Reaksi Medium	Fermentasi Karbohidrat	Kemungkinan Organisme
"butt" Kuning "slant" Kuning Gas dalam "butt" Tidak ada H ₂ S	Glukosa dengan asam gas Laktosa dan / atau sakarosa dengan asam + gas - -	<i>E. Coli</i> <i>Klebsiella</i> atau <i>Enterobacter</i> <i>Proteus</i> atau <i>Providencia</i> Koliform intermedius
"butt" Kuning "slant" Merah "butt" tanpa gas Tidak ada H ₂ S	Glukosa dengan asam gas Laktosa dan / atau sakarosa dengan asam + gas tidak terfermentasi - -	<i>Salmonella</i> **) <i>Proteus</i> <i>Arizona</i> (beberapa tipe) <i>Providencia, Serratia</i>
"butt" Kuning "slant" Merah Gas dalam "butt" Ada H ₂ S	Glukosa dengan asam gas Laktosa dan / atau sakarosa dengan asam + gas tidak terfermentasi - -	<i>Arizona</i> <i>Citrobacter</i> - -
"butt" Merah "slant" Merah Tidak ada H ₂ S	- - -	<i>Alkaligenes</i> ***) <i>Pseudomonas</i> ***) <i>Herella</i> **)

Keterangan:

*) : Kuning = medium asam, Medium = medium alkalis

***) : *Salmonella typhi* membentuk sedikit H₂S, tetapi jarang gas

***):Dicantumkan disini karena dapat dikelirukan dengan anggota *Enterobacteriaceae* yang laktosa negatif

Media *triple sugar agar* (TSA) merupakan medium yang digunakan untuk mengetahui pembentukan asam dan mengandung tiga macam gula, yaitu galaktosa, laktosa, sukrosa, indikator merah fenol, dan FeSO_4 . Konsentrasi glukosa adalah 1/10 dari konsentrasi laktosa atau sukrosa agar fermentasi glukosa saja yang dapat terlihat. Jika glukosa dapat difermentasi maka kemungkinan ada fermentasi glukosa lain, seperti monosakarida selain glukosa disakarida (maltosa, laktosa, sukrosa dan lainnya) serta polisakarida (Sale,1961).

Uji H_2S juga digunakan media yang mengandung sulfur dan ion pada saat bakteri ditumbuhkan dalam media yang kaya akan asam amino mengandung sulfur seperti TSA maka terjadi desulfurase membentuk H_2S [Fe^{2+}] kemudian H_2S Fe^{2+} bereaksi dengan asam sulfide menghasilkan senyawa FeS yang berwarna hitam dan tidak larut dalam air (Lay, 1994).

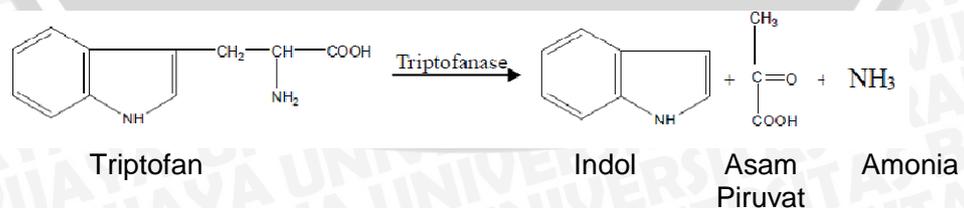
2.7.3.2 SIM

Uji indol bertujuan untuk mendeteksi kemampuan mikroba mendegradasi asam amino tryptopan. Pembentukan indol dari mikroorganisme dapat diketahui dengan menumbuhkannya dalam media biakan yang kaya akan tryptophan. Untuk melihat adanya indol digunakan reagen kovac yang memberikan reaksi warna merah apabila tes positif. Adapun prosedur pengujian indol adalah sebagai berikut: koloni bakteri pada media diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan pada media MIO (motiliti indol ornitin), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . setelah 24 jam biakan tadi ditambahkan dengan larutan reagen kovac's sebanak 0,2 ml, dimana larutan ini digunakan untuk melihat kehadiran indol yang ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada lapisan atas media (Suyati, 2010).

Uji sulfit, indol dan motilitas dilakukan pada satu media yaitu media SIM. Uji sulfit digunakan untuk melihat kemampuan bakteri untuk mereduksi sulfur. Bakteri yang mereduksi metabolit sulfur dari natrium tiosulfat pada media akan menghasilkan hidrogen sulfida (H_2S) sehingga terbentuk warna hitam pada media sebagai hasil reaksi antara H_2S dan ferro sulfat pada media. Sulfat merupakan sumber energi anorganik bagi bakteri. Bakteri yang tidak mampu mereduksi sulfur tidak akan menghasilkan H_2S sehingga tidak terbentuk warna hitam pada media (Duncan, 2005).

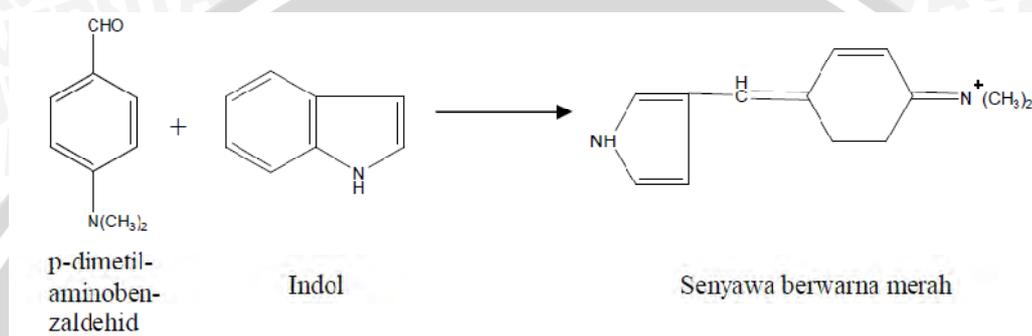
Pengujian produksi sulfur dan uji motilitas dilakukan dengan menginokulasikan satu ose koloni bakteri dengan metode tusukan pada media SIM (*Sulfur Indol Motility*). Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, selanjutnya diamati ada tidaknya pembentukan sulfur dan motilitas koloni bakteri. Hasil sulfur positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media SIM. Kekeruhan yang menyebar sepanjang bekas tusukan menunjukkan reaksi positif terhadap motilitas bakteri (Jayanti *et al.*, 2012).

Uji indol digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi asam amino triptofan. Medium uji indol mengandung substrat triptofan, yaitu adalah asam amino esensial yang dapat teroksidasi oleh aktivitas enzimatik bakteri. Triptofan diubah menjadi produk metabolik indol, asam piruvat, dan amonia oleh enzim triptofanase (Cappucino, 1987).



Gambar 11. Reaksi Oksidasi Triptofan Oleh Enzim Triptofanase

Keberadaan indol dideteksi dengan penambahan pereaksi Kovac yang mengandung p-dimetilaminobenzaldehid, butanol, dan asam hidroklorat. Indol yang diekstraksi ke lapisan pereaksi tersebut akan mengasamkan komponen butanol dan membentuk kompleks dengan p-dimetilaminobenzaldehid yang menghasilkan warna merah (Cappucino, 1987).



Gambar 12. Reaksi Indol dengan Komponen Dalam Pereaksi Kovac

2.7.3.3 Urease

Menurut Suyati (2010), uji urea bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memiliki enzim urease. Bakteri tertentu dapat menghidrolisis urea dan membentuk ammonia dengan menimbulkan warna merah karena indikator phenol red. Terbentuknya ammonia menyebabkan nilai pH menjadi alkalis sehingga jika uji urea terjadi warna merah muda pada media berarti tes positif. Adapun cara kerjanya sebagai berikut: koloni bakteri pada media diambil dengan menggunakan ose lancip dan diinokulasikan pada media urea, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Terjadinya warna merah muda pada media berarti tes positif dari warna dasar yaitu kuning.

Uji urease bertujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi urea atau menghasilkan enzim urease. Enzim urease merupakan enzim hidrolisis yang memecah ikatan nitrogen dan karbon pada komponen amida

seperti urea dan membentuk amonia yang menciptakan suasana basa (Cappuccino dan Sherman, 1983).

Pada pengujian urease, bila dalam biakan terdapat urease, urea dihidrolisis sehingga terbentuk amonia yang mengubah warna indikator dari kuning menjadi merah. Untuk mendapatkan hasil yang lebih cepat, sebaiknya medium pembiakan diinkubasi diatas pengangas air (Irianto,2007).



Gambar 13. Reaksi Dalam Biakan Urease

2.7.3.4 Nitrat

Uji reduksi nitrat untuk menentukan kemampuan beberapa organisme dalam mereduksi nitrat menjadi nitrit atau diluar bentuk nitrit (Cahyadi,2007). Uji reduksi nitrat ditujukan untuk mengetahui keberadaan nitrit dalam media diuji dengan penambahan asam sulfanilat dan α -naftilamin yang akan bereaksi dengan nitrit yang ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi merah atau merah muda. Pada tabung yang tidak menunjukkan perubahan warna, ditambahkan bubuk Zn untuk melihat reduksi nitrat menjadi nitrit. Bila didapatkan nitrat dalam medium, maka kaldu berubah warna menjadi merah muda atau merah karena Zn mereduksi nitrat menjadi nitrit dan nitrit ini bereaksi dengan reagen uji dan terbentuk warna merah (Lay, 2004).

Reduksi nitrat terjadi pada kebanyakan bakteri anaerob fakultatif dengan menggunakan nitrit. Reaksinya:



O₂ dapat menghambat reduksi nitrat sehingga dalam reaksi, O₂ dihabiskan kemudian menggunakan nitrat pada bakteri anaerob (Suriawiria, 1985).

2.7.3.5 Sitrat

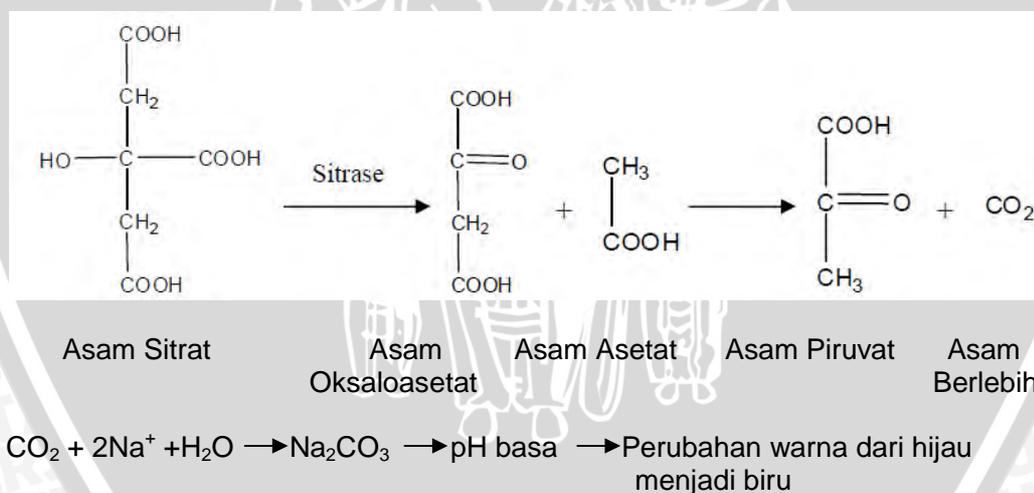
Penanaman dalam medium pembiakan sitrat (*Simmons Citrate Medium*) dimaksudkan untuk mengetahui apakah senyawa sitrat dapat dipakai sebagai satu-satunya sumber karbon bagi organisme. Dalam medium ini digunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Bila natriumsitrat ini dapat diuraikan maka amonium hidrogenfosfat turut teruraikan dan akan melepaskan NH₃ sehingga menyebabkan medium menjadi alkalis, dan indikator bromtimol biru berubah dari hijau menjadi biru. Penanaman dilakukan dengan jarum, karena penanaman berlebih dapat menghasilkan positif palsu (Irianto,2007).

Uji sitrat bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri yang mengutilisasi sitrat. Bakteri yang memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon akan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, sehingga dengan adanya indikator brom thymol blue menyebabkan warna biru pada media. Adapun cara kerjanya sebagai berikut: koloni bakteri pada media diambil dengan menggunakan ose dan diinokulasikan pada media sitrat, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Terjadinya warna biru pada media berarti tes positif dari warna dasar media yaitu hijau (Suyati,2010).

Uji sitrat dapat menggunakan sitrat-Koser berupa medium cair atau medium sitrat-Simon berupa medium padat. *Simon citrate Agar* merupakan medium sintetik dengan Na-sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon, NH₄⁺ sebagai sumber N dan brom thymol blue sebagai indikator pH, sedangkan medium sitrat- Koser tidak mengandung indikator. Bila mikroorganisme mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan

pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa mikroorganisme mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon (Cappuccino dan Sherman, 1983).

Uji sitrat digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi sitrat. Media *Simmons - Citrate* mengandung sitrat sebagai sumber karbon, garam amonium sebagai sumber nitrogen, dan indikator biru bromtimol yang berubah warna dari hijau menjadi biru dalam keadaan basa. Sitrat diubah menjadi asam oksaloasetat dan asam asetat oleh enzim sitrase, lalu produk antara tersebut diubah menjadi asam piruvat dan karbondioksida secara enzimatik. Selama reaksi ini berlangsung, keadaan media *Simmons-Citrate* berubah menjadi basa, karena karbondioksida berikatan dengan natrium dan air membentuk natrium karbonat yang bersifat basa (Cappucino dan Sherman, 1987).



Gambar 14. Reaksi Dalam Biakan Simmon's Sitrat

2.7.3.6 MR

Pengujian dengan metil merah dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri dapat membantuk asam sedemikian banyaknya sehingga dapat mengubah indikator

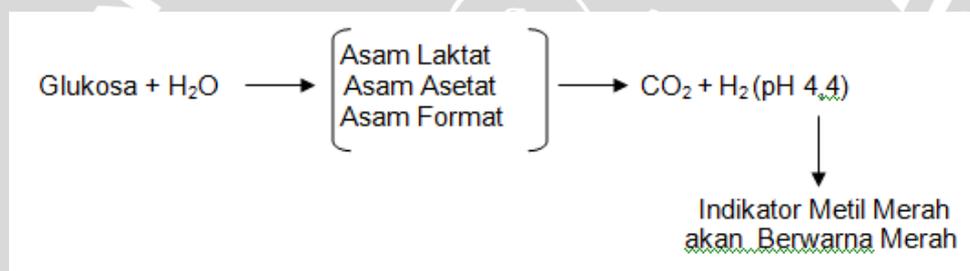
metil merah menjadi merah. Beberapa jenis bakteri yang dapat membentuk asam tapi tidak cukup banyak untuk dapat mengubah indikator dan penurunan pH sampai 5,0, pada umumnya sudah menghambat kelanjutan hidup mikroorganismenya. Perubahan warna menjadi merah dikarenakan adanya penurunan pH dan apabila warna menjadi kuning hal tersebut dikarenakan adanya kenaikan pH. Pengujian seharusnya jangan dilakukan sebelum biakan berumur 2 hari pada suhu 37°C atau tiga hari pada suhu 30°C. Reaksi ini tidak dapat dipercepat dengan meningkatkan kadar glukosa dalam medium (Irianto,2007).

Menurut Suyati (2010), Uji MR ini bertujuan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Beberapa bakteri memfermentasi glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga akan menurunkan pH media pertumbuhan menjadi 5,0 atau lebih rendah. Penambah indikator pH "*methyl red*" dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam. Cara kerja: Biakan bakteri dari media diinokulasi pada media MR dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri pada biakan MR selanjutnya ditetesi dengan 2-3 tetes reagen *Methyl Red*. Terjadinya warna merah berarti tes positif dari warna dasar media yaitu putih bening.

Uji merah metil (*methyl red test*) bertujuan untuk mengetahui kemampuan dari mikroorganismenya untuk mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya. Heksosa monosakarida glukosa merupakan substrat utama yang dioksidasi oleh semua organisme enterik sebagai sumber energinya (Cappuccino dan Sherman, 1983).

Uji merah metil (*methyl red test*) bertujuan untuk mengetahui kemampuan dari mikroorganismenya untuk mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya. Heksosa monosakarida glukosa

merupakan substrat utama yang dioksidasi oleh semua organisme enteric sebagai sumber energinya. Uji *metil red* dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa dan menghasilkan campuran asam. Adanya campuran asam dapat menurunkan derajat keasaman media sampai pH 5,0, yang terdeteksi dengan perubahan warna indikator metil merah dari kuning menjadi merah. Pada umumnya, bakteri yang memberikan hasil uji MR positif adalah bakteri penghasil gas, karena bakteri ini menghasilkan enzim format hidrogenliase yang memecahkan asam format menjadi karbondioksida dan air (Cappuccino dan Sherman, 1983).



Gambar 15. Reaksi Fermentasi Glukosa dalam Media MR Menjadi Asam Campuran

2.7.3.7 VP

Menurut Irianto (2007), pengujian VP (*Voges Proskauer*) adalah untuk mengetahui apakah dalam proses pertumbuhan organisme terbentuk asetilmetilkarbinol sebagai produk antara dari proses metabolisme karbohidrat. Asetilmetilkarbinol dalam lingkungan yang mengandung potasium hidroksida dan udara, teroksidasi menjadi senyawa diasetil. Senyawa ini dengan alfa-naftol dan inti guanidin dari asam-aminoorgania (dari pepton) menghasilkan warna merah. Reaksi ini harus dilihat dalam waktu lebih dari empat jam setelah ditambah reagens. Adapun cara melakukan pengujian ini adalah sebagai berikut:

1. *Reagens* yang diperlukan terdiri dari:

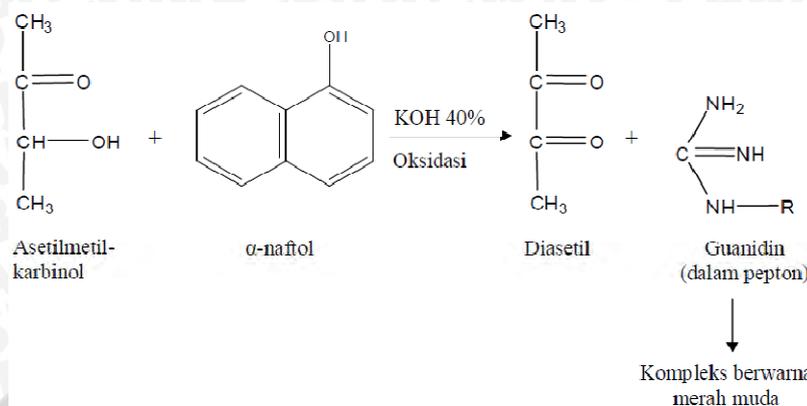
- a. Larutan alfa-naftol 5% dalam alkohol absolut
 - b. Larutan KOH 40% yang mengandung 3% kreatin
2. Dengan pipet 1 ml biakan umur 24 jam dimasukkan kedalam tabung wasserman
 3. Ke dalam tabung ini ditambahkan 0,6 ml larutan alfa-naftol
 4. Selanjutnya ditambahkan 0,2 ml larutan KOH kreatin
 5. Setelah dikocok campuran itu didiamkan selama 10-30 menit. Bila di dalam biakan terbentuk asetilmetilkarbinol, akan timbul warna merah pada permukaan medium, dan warna ini akan meluas sampai keseluruhan campuran

Uji VP ini bertujuan untuk mendeteksi adanya *acethyl methyl carbinol* yang diproduksi oleh bakteri tertentu dalam pembedahan VP. Adanya bakteri tertentu yang dapat memproduksi *acethyl methyl carbinol* dapat diketahui dengan penambahan reagen voges proskauer (reagen VP). Adapun prosedur kerjanya sebagai berikut: Biakan bakteri dari media diinokulasi pada media VP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya ditambahkan reagen yang kemudian dikocok pelan hingga tercampur dan dibiarkan selama 15 menit, terjadinya warna orange berarti tes positif dari warna dasar media yaitu putih bening (Suyati,2010).



Gambar 16. Reaksi Fermentasi Glukosa Dalam Medium VP menjadi Senyawa Non-Asam

Senyawa 2,3-butandiol dapat dideteksi menggunakan pereaksi Barrit yang mengandung α -naftol dan kalium hidroksida 40%. Penambahan pereaksi ini mengakibatkan perubahan warna media VP menjadi merah muda atau merah, jika terdapat asetilmetilkarbinol (asetoin).



Gambar 17. Deteksi Senyawa Asetilmetilkarbinol Menggunakan Perekasi Alpha-naftol

Deteksi dilakukan terhadap asetilmetilkarbinol, karena senyawa ini hampir selalu terdapat bersama-sama 2,3-butandiol. Metode deteksi ini sering disebut metode tak langsung *Voges Proskauer* (Cappucino, 1987).

2.7.3.8 *Microbact Identification Kits*

Sistem *Microbact Identification Kit* Gram negatif digunakan untuk mengidentifikasi bakteri aerob dan fakultatif anaerob (*Enterobacteriaceae* dan bermacam-macam bakteri gram negatif). Prinsipnya setiap set terdiri dari 12 (12A, 12B, dan 12E) atau 24 (24E) uji biokimia. Secara klinis hanya menggunakan *Microbact*TM 12A Gram-negatif (jalur format) dan 12E (lempeng format) yang dapat digunakan sendiri untuk identifikasi apabila oksidase negatif dan nitrat positif. *Microbact* TM 12B Gram-negatif dapat digunakan bersama dengan 12A untuk identifikasi oksidase positif, nitrat negatif, non fermentor glukosa (aneka bakteri gram negatif) dan *Enterobacteriaceae*. *Microbact* TM 24E Gram negatif adalah kombinasi dari tes 12A (or 12E) dan 12B dalam format lempeng. Adapun prosedurnya adalah dilakukan kultur murni pada isolat yang tumbuh selama 18-24 jam, melakukan tes oksidase untuk menentukan kits yang akan digunakan, tambahkan 4 tetes suspensi

bakteri untuk setiap sumur, tambahkan 2 tetes *mineral oil* (MB1093A) ke sumur hitam, lalu inkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam, setelah itu tambahkan reagen sesuai dengan jenis uji biokimianya. (Oxoid, 2003).

2.7.4 Uji 16S rDNA

Urutan 16S rDNA adalah pengkodean gen dari subunit kecil RNA ribosomal. Gen ini mengandung urutan DNA yang umum untuk semua bakteri yang memiliki urutan yang berbeda dan unik untuk masing-masing spesies bakteri. Ketika sepotong kecil urutan ini digunakan sebagai primer dalam PCR assay, ia bertindak sebagai primer universal untuk nonselektif yang dilakukan untuk memperkuat setiap DNA bakteri dalam sampel. Setelah DNA telah diperkuat, PCR produk kemudian diwarnai dengan *ethidium bromida* dan divisualisasikan oleh elektroforesis pada gel agarose. Jika bakteri DNA diidentifikasi, maka dapat langsung diurutkan ke spesies bakteri. Urutan gen untuk semua bakteri yang dikenal, termasuk yang ditemukan dalam infeksi sistem saraf pusat dan sepsis, tersedia untuk perbandingan DNA *sequencing*. Setelah identifikasi bakteri, kemudian ditentukan berdasarkan sensitivitas data (*Universal Bacterial PCR Fact Sheet*, 2004).

Prosedur 16S rDNA PCR assay adalah DNA diekstrak dari sampel klinis menggunakan kit tersedia secara komersial dengan prosedur standar proteinase K. Sampel kemudian disimpan di suhu -70°C sampai assay dapat dilakukan. Masing-masing assay terdiri dari empat reaksi. Reaksi pertama adalah kontrol [positif terdiri dari DNA pasien dari sampel klinis, primers untuk gen GP3DH, dan reagen PCR. GP3DH adalah gen untuk housekeeping % untuk memverifikasi bahwa DNA dari pasien sampel dapat diperkuat. Reaksi kedua adalah sampel pasien, universal 16S rDNA primer dan reagen PCR. Reaksi ketiga adalah

kontrol negatif yang terdiri dari reagen PCR dan 16S rDNA primer dengan tidak mentarget DNA. Reaksi akhir adalah kontrol positif yang terdiri dari DNA spesies bakteri yang diketahui (*E.coli* atau *salmonella typhimurium*), 16S rDNA primer dan reagen PCR. Produk PCR dilihat dengan menggunakan *ethidium bromida* pada 1% gel agarosa. Seluruh produk PCR gel dimurnikan dan diajukan untuk *sequencing*. *Sequencing* Nukleotida dilakukan menggunakan *sequencing* langsung (*Universal Bacterial PCR Fact Sheet*, 2004).

Berdasarkan Widayati *et al* (2007), Akhir-akhir ini banyak metode biomolekular yang memungkinkan untuk memonitor komunitas bakteri di alam tanpa diperlukan tahap isolasi dan kultivasi, yaitu dengan membuat sidik jari komunitas DNA (Ranjard *et al.* 2000). Sekuen DNA yang saat ini sering digunakan untuk memantau komunitas bakteri di alam adalah gen yang berhubungan dengan operon ribosomal (Ranjard *et al.* 2000). Sekuen gen 16S rRNA saat ini banyak digunakan untuk mempelajari keanekaragaman mikroba di alam (Griffiths *et al.* 2000). Jumlah spesies di dalam suatu komunitas (*species richness*) dan ukuran populasi spesies di dalam suatu komunitas (*species evenness*) merupakan dua parameter penting dalam menentukan struktur dan keanekaragaman dalam suatu komunitas (Liu *et al.* 1997). Penggunaan teknik *Amplified rDNA Restriction Analysis* (ARDRA) mempunyai keterbatasan yaitu tidak dapat menunjukkan kekerabatan dan juga tidak dapat untuk memperkirakan jumlah spesies di dalam suatu komunitas dan ukuran populasi spesies di dalam suatu komunitas (Liu *et al.*, 1997).

Penggunaan sekuen 16S rRNA memiliki kelemahan karena kadang-kadang kurang dapat membedakan dengan jelas suatu spesies dalam level genus. Beberapa bakteri memiliki sifat fisiologis yang berbeda tetapi memiliki sekuen 16S rRNA yang sama. Berbeda dengan sekuen 16S rRNA, sekuen di antara 16S-23S

rDNA yang dikenal dengan *ribosomal intergenic spacer* (RIS) memiliki panjang sekuen yang berbeda untuk masing-masing spesies, sehingga sekuen RIS dapat digunakan sebagai penanda untuk membedakan spesies dan strain dalam suatu spesies (Yu & Mohn, 2001). Sekuen RIS juga dapat digunakan untuk mengungkap struktur komunitas bakteri di alam dengan cara membandingkan secara kualitatif pola pita yang dihasilkan dari pemisahan amplikon RIS pada agarose atau poliakrilamid. Pada akhirnya, analisis sekuen 16S rDNA yang merupakan bagian sekuen RIS dapat digunakan untuk mengetahui identitas bakteri dalam komunitas tersebut (Yu & Mohn, 2001).

2.8 Parameter Fisik dan Kimia Lingkungan

Mikroba termasuk kelompok jasad hidup yang sangat peka terhadap perubahan lingkungannya. Adanya perubahan kecil di lingkungan, misalnya suhu atau cahaya, maka dengan cepat akan mempengaruhi dalam aktivitasnya. Tetapi mikroorganisme itu juga dengan cepat dapat menyesuaikan diri dengan perubahan lingkungan (Waluyo, 2009). Cara penyesuaian diri yang cepat ini didukung oleh adanya enzim adaptif yang lebih aktif didalamnya. Sehingga tidak mengherankan kalau dalam waktu yang relatif singkat, mikroba dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru, walau pada mulanya lingkungan tersebut bersifat meracun terhadapnya. Namun sebaliknya, kehadiran mikroba dalam suatu tempat dapat langsung mempengaruhi lingkungannya. Baik lingkungan fisik, lingkungan kimia, ataupun lingkungan biologisnya (Suriawiria, 2003).

2.8.1 Suhu

Suhu atau temperatur merupakan salah satu besaran pokok yang sering kita jumpai dalam kehidupan sehari-hari. Pada siang hari kita merasa panas, sebaliknya

pada malam hari terasa dingin. Api terasa panas, sedangkan es terasa dingin. Suatu benda dikatakan panas berarti benda dengan kaitan tersebut bersuhu tinggi, demikian juga sebaliknya, benda dikatakan dingin berarti benda tersebut bersuhu rendah. Jadi suhu menyatakan ukuran tingkat atau derajat panas atau dinginnya suatu benda. Alat ukur suhu yang sering digunakan dikenal dengan termometer. Sebuah termometer biasanya terdiri dari sebuah pipa kaca berongga sempit dan panjang, disebut pipa kapiler, yang di dalamnya berisi zat cair, biasanya alkohol atau raksa (merkuri), sedangkan bagian atas cairan adalah ruang yang hampa udara. Agar pengukuran suhu dengan menggunakan termometer dapat diketahui nilainya, maka pada dinding kaca termometer diberi skala (Begawan, 2012).

Menurut Radji (2011), sebagian besar bakteri tumbuh optimal pada suhu tubuh manusia. Akan tetapi, beberapa bakteri dapat tumbuh dalam lingkungan ekstrim yang berada diluar batas pertahanan organisme eukariot. Bakteri digolongkan menjadi tiga bagian besar berdasarkan perbedaan suhu tumbuh, yaitu:

1. *Psikrofil* (hidup diudara dingin)

Bakteri yang tumbuh pada suhu 0°C dengan suhu optimum 15 °C dan tidak tumbuh pada suhu kamar (25 °C) bakteri ini sering ditemukan di laut dalam dan di daerah kutub, serta sering menimbulkan masalah pada pengawetan makanan

2. *Psikrotrof* (*psikrofil fakultatif*)

Bakteri yang tumbuh pada suhu 0°C dengan suhu optimum 20-30 °C dan tidak tumbuh pada suhu lebih dari 40 °C bakteri ini sering terdapat pada makanan yang disimpan pada suhu rendah karena dapat tumbuh pada suhu lemari es.

3. *Mesofil* (hidup diudara bersuhu sedang)

Bakteri yang tumbuh optimal pada suhu 25-40 °C dan merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan. Suhu optimum bakteri patogen yaitu 37 °C. Bakteri mesofil

termasuk sebagian besar bakteri yang mampu menyebabkan kerusakan dan penyakit.

4. *Termofil* (hidup diudara panas).

Bakteri yang tumbuh pada suhu tinggi. Sebagian besar bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 50-60 °C. Suhu seperti ini dapat terjadi di dalam tanah yang disinari matahari dan dalam sumber air panas. Bakteri termofil tidak dapat tumbuh dibawah suhu 45 °C. Hal ini terjadi karena suhu yang lebih tinggi akan menginaktifkan sistem enzimatik di dalam sel bakteri, maka dari itu tiap bakteri tumbuh pada kelompok suhu berikut ini:

- Minimum : suhu terendah bakteri masih dapat tumbuh
- Optimum : suhu bakteri dapat tumbuh subur
- Maksimum: suhu tertinggi bakteri masih dapat tumbuh

Menurut Waluyo (2009), semua mikroorganismenya dalam proses kehidupannya dipengaruhi oleh temperatur. Bakteri, Cyanophyta, dan Fungi dapat tumbuh hanya pada suatu batas rentang temperatur -10 sampai dengan + 90°C. Pada rentang tersebut temperatur mempengaruhi laju pertumbuhan, kebutuhan nutrisi, enzimatik, dan komposisi kimiawi dalam sel. Ada tiga kelompok bakteri yang dibedakan berdasarkan temperatur, yakni:

Tabel 3. Kelompok Bakteri Berdasarkan Temperatur

	Minimum (°C)	Optimum (°C)	Maksimum (°C)
Psikrofil	-10 s.d +5	+ 10 s.d + 20	+ 20 s.d +30
Mesofil	+10 s.d +15	+ 30 s.d + 40	+ 40 s.d +50
Termofil	+ 25 s.d + 45	+ 50 s.d +75	+ 75 s.d +93

Sumber: Waluyo (2009)

Pembagian temperatur berdasarkan menjadi tiga, yakni temperatur minimum, temperatur optimum, dan temperatur maksimum terlalu kaku. Karena beberapa

mikroorganisme dapat mengadaptasikan temperatur, baik adaptasi terhadap temperatur yang lebih tinggi atau temperatur yang lebih rendah.

2.8.2 pH

pH adalah derajat keasaman suatu larutan. Kebanyakan bakteri tumbuh subur pada pH 6,5 sampai 7,5. Sangat sedikit bakteri yang mampu tumbuh pada pH asam (di bawah pH 4). Ketika dibiakkan di laboratorium, bakteri sering memproduksi asam yang biasanya berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri itu sendiri. Untuk menetralkan dan mempertahankan pH, dengan penambahan pepton dan asam amino atau garam fosfat (Radji, 2011).

Berdasarkan Suriawiria (2003), Batas pH untuk pertumbuhan jasad merupakan suatu gambaran dari batas pH bagi kegiatan enzim. Untuk tiap jasad dikenal nilai pH minimum, optimum, dan maksimum. Bakteri memerlukan pH antara 6,5 sampai 7,5, ragi antara 4,0 sampai 4,5, sedang jamur dan aktinomiset tertentu mempunyai daerah pH yang luas. Atas dasar daerah-daerah pH bagi kehidupan mikroorganisma, dibedakan adanya 3 golongan besar, yaitu:

1. Mikroorganisma asidofilik, yaitu jasad yang dapat tumbuh pada pH antara 2,0-5,0
2. Mikroorganisma mesofilik (neutrofilik), yaitu jasad yang dapat tumbuh pada pH antara 5,5 sampai 8,0
3. Mikroorganisma alkalifilik, yaitu jasad yang dapat tumbuh pada pH 8,4 sampai 9,5

2.8.3 Salinitas

Perbandingan salinitas menentukan sebagian besar komunitas kehidupan di air. Konsentrasi relatif tinggi NaCl pada air laut. Hanya sedikit kehidupan yang dapat hidup baik di air tawar dan air laut. Sebagai contoh bakteri dan jamur lebih

memenuhi persyaratan tersebut di atas dibandingkan dengan tumbuhan hijau dan binatang. Salinitas dapat memperpanjang waktu generasi bakteri dan jamur. Seringkali salinitas juga menyebabkan perubahan morfologis dan fisiologis. Beberapa bakteri laut yang semula mempunyai bentuk batang atau bentuk koma pada keadaan salinitas optimal menjadi lebih panjang pada konsentrasi garam lebih dari 5% dan akhirnya menjadi bentukan filamen. Misalnya bakteri *luminous* yang diisolasi dari laut arab tumbuh optimal pada kadar garam lebih kurang 3% berbentuk batang, panjang 1-2 mm, pada kadar garam 1% berbentuk kokus, pada kadar garam 7,5% berbentuk filamen dengan panjang lebih dari 100 mm. Perubahan salinitas, misalnya karena tekanan menyebabkan perubahan mekanisme reproduktif. Sel-selnya masih dapat tumbuh walaupun tidak dapat membelah (Waluyo,2009).

Salinitas merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh pada vitalitas organisme karena merupakan *masking factor* bagi organisme akuatik yang dapat memodifikasi perubah fisika dan kimia air menjadi satu kesatuan pengaruh yang berdampak osmotik terhadap osmoregulasi dan bioenergetik organisme akuatik (Gilles dan Pequeux, 1983; Ferraris *et al.*, 1986).

Salinitas adalah tingkat keasinan atau kadar garam terlarut dalam air. Garam yang dimaksud adalah berbagai ion yang terlarut dalam air termasuk garam dapur (NaCl). Pada umumnya salinitas disebabkan oleh 7 ion utama yaitu: natrium (Na⁺), kalium (K⁺), kalsium (Ca⁺⁺), magnesium (Mg⁺⁺), klorida (Cl⁻), sulfat (SO₄⁻) dan bikarbonat (HCO₃⁻) (Apriani dan Putu, 2013).

2.8.4 Logam Berat

Unsur logam berat adalah unsur logam yang mempunyai massa jenis lebih besar dari 5 g/cm³, antara lain Cd, Hg, Pb, Zn, dan Ni. Logam berat Cd, Hg, dan Pb dinamakan logam berat non esensial dan pada tingkat tertentu menjadi logam

beracun bagi makhluk hidup (Subowo *et al.*, 1999). Logam berat ialah unsur logam dengan berat molekul tinggi. Dalam kadar rendah logam berat pada umumnya sudah beracun bagi tumbuhan dan hewan, termasuk manusia. Termasuk logam berat yang sering mencemari habitat adalah Hg, Cr, Cd, As, dan Pb (Am.geol.Inst.,1976).

Logam berat merupakan komponen alami tanah. Elemen ini tidak dapat didegradasi maupun dihancurkan. Logam berat dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui makanan, air minum, atau udara. Logam berat seperti tembaga, selenium, atau seng dibutuhkan tubuh manusia untuk membantu kinerja metabolisme tubuh. Akan tetapi, dapat berpotensi menjadi racun jika konsentrasi dalam tubuh berlebih. Logam berat menjadi berbahaya disebabkan sistem bioakumulasi, yaitu peningkatan konsentrasi unsur kimia didalam tubuh makhluk hidup (Rumajar,2001).

Logam berat masuk ke dalam tubuh organisme laut sebagian besar melalui rantai makanan fitoplankton yang merupakan awal dari rantai makanan yang di mangsa oleh zooplankton, zooplankton dimakan oleh ikan-ikan kecil, ikan kecil dimangsa oleh ikan-ikan besar dan akhirnya ikan dikonsumsi oleh manusia. Proses ini berlangsung terus-menerus maka jumlah dari logam yang dikonsumsi juga semakin banyak dan termasuk terakumulasi dalam tubuh manusia (Darmono,2001).

Logam berat memiliki tingkat atau daya racun yang berbeda bergantung pada jenis, sifat kimia dan fisik logam berat. Kementerian Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup 1990 *in* Marganof (2003) membagi kelompok logam berat berdasarkan sifat toksisitas dalam 3 kelompok, yaitu bersifat toksik tinggi yang terdiri atas unsur - unsur Hg, Cd, Pb, Cu, dan Zn; bersifat toksik sedang terdiri dari Unsur-

unsur Cr, Ni, dan Co; dan bersifat toksik rendah yang terdiri atas unsur Mn dan Fe (Sanusi, 2006).

Menurut Sutamihardja *et al.* (1982) mengurutkan berdasarkan sifat kimia dan fisiknya, maka tingkat atau daya racun logam berat terhadap hewan air dapat diurutkan (dari tinggi ke rendah) sebagai berikut : merkuri (Hg), cadmium (Cd), seng (Zn), timah hitam (Pb), krom (Cr), nikel (Ni), dan kobalt (Co). Sedangkan menurut Darmono (1995) daftar urutan toksisitas logam paling tinggi ke paling rendah terhadap manusia yang mengkomsumsi ikan adalah sebagai berikut : $Hg^{2+} > Cd^{2+} > Ag^{2+} > Ni^{2+} > Pb^{2+} > As^{2+} > Cr^{2+}$ dan $Sn^{2+} > Zn^{2+}$

2.9 Lumpur Lapindo

Lumpur panas Lapindo dengan gejala alam yang disebut gunung lumpur / *mud volcano* yang banyak tersebar di Indonesia (khususnya di Indonesia Timur dikenal dengan istilah poton), bahkan di Jawa Timur Utara pun banyak diketemukan, seperti Bleduk Kuwu dekat Purwodadi, Gunung Anyar dekat Surabaya bahkan di selatan Kali Porong, yang di masa lalu menyemburkan lumpur tetapi sekarang sudah mati. Dan definisi dari *Mud Volcano* adalah suatu gunung api lumpur yang berbentuk suatu kerucut tanah liat dan lumpur berukuran kecil, yang pada umumnya kurang dari 1-2 m tingginya. Gunung api lumpur kecil ini terbentuk dari campuran air panas dan sedimen halus (tanah liat dan lumpur) dimana terdapat (1) aliran perlahan dari suatu lubang seperti suatu arus lahar cair; atau (2) menyembur ke udara seperti suatu air mancur lahar yang melepaskan air mendidih dan gas vulkanis. Tanah liat dan lumpur yang secara khas berasal dari gas batuan vulkanik padat dan panas yang terlepas dari magma yang dalam di bawah memutar air bawah tanah menjadi suatu campuran panas dan asam yang secara kimiawi

merubah batuan vulkanik menjadi fraksi lumpur dan tanah liat (Koesoemadinata, 2006).

2.9.1 Air

Air merupakan materi yang sangat menentukan di dalam kehidupan dan lingkungan, tetapi di dalam air terkandung suatu kehidupan yang mempunyai bentuk dan sifat berbeda dengan kehidupan ditempat lain. Khususnya untuk kehidupan dari sekelompok jasad-hidup yang termasuk mikroba (jasad-renik, mikroorganisme) seperti bakteri, fungi, mikroalga. Kehadiran jasad tersebut di dalam air banyak mendatangkan kerugian, tetapi juga banyak mendatangkan keuntungan dan manfaat (Suriawiria, 2003).

Air merupakan unsur yang mempunyai peran utama dalam kehidupan di bumi ini. Air dikenal sebagai sumber daya yang terbarukan, namun dari segi kualitas maupun kuantitas membutuhkan upaya dan waktu untuk dapat berlangsung baik. Kriteria dan standar kualitas air didasarkan atas beberapa hal antara lain keberadaan logam dan logam berat, anorganik, tingkat toksisitas, dan teremisinya pencemar ke lingkungan. Air adalah pelarut yang baik, oleh sebab itu di dalamnya paling tidak terlarut sejumlah kecil zat-zat anorganik dan organik. Dengan kata lain, tidak ada air yang benar-benar murni dan hal ini menyebabkan dalam setiap analisis air ditemukan zat-zat terlarut (Setiadi, 1993).

2.9.1.1 Bakteri Air

Bakteri ditemukan di air sebagaimana mikroorganisme lainnya. Kebanyakan bakteri akuatik adalah **heterotrofik**, yakni hidup dengan menggunakan zat organik. Secara morfologis, bakteri akuatik mempunyai bentuk yang hampir sama dengan tipe bentuk dasar bakteri yang terdapat di darat; seperti yang telah digambarkan oleh **van leeuwenhoek**, yakni bentuk batang, kokus, dan spiral. Organisme yang

berbentuk filamen dan bentuk pita dengan tangkai dapat juga ditemukan dalam lingkungan akuatik. Kebanyakan bakteri akuatik adalah motil dengan flagela. Bakteri akuatik secara sistematik tidak digolongkan dalam satu grup yang homogen. Tetapi yang jelas semuanya telah tercantum di *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* tahun 1994, namun kendalanya pada sistematikanya bakteri yang terakhir belum disebutkan secara khusus tentang bakteri-bakteri akuatik (Waluyo,2009).

Menurut Waluyo (2009), berdasarkan karekteristik lingkungan hidupnya, bakteri perairan terbagi atas beberapa kelompok yaitu:

a. Bakteri pada Perairan Dalam

Bakteri flora pada perairan dalam berhubungan dengan bakteri dalam tanah. Sebagian bakteri terikut aliran air yang berasal dari dalam tanah. Telah diteliti bahwa pada sumber air di beberapa tempat didapatkan bakteri batang gram negatif tak berspora. Sejumlah mikroorganisme yang terdiri dari genus *Achromobacter* dan *Flavobacterium* dan untuk bakteri gram positif misalnya *Micrococcus*, *Nocardia*, dan *Cytophaga*. Sedangkan *Vibrios*, *Spirilla*, *Corynebacteria*, dan *Mycobacteria* tidak didapatkan. Pada sumber air yang berasal dari lapisan geologis yang berbeda secara umum memiliki karakter kelompok bakteri yang sama, tetapi berbeda secara kualitatif dan kuantitatif distribusi spesiesnya. Pada mata air yang terlindung minyak terdiri sejumlah besar bakteri yang menguraikan hidrokarbon.

b. Bakteri pada Danau-Danau Bergaram

Mayoritas bakteri yang hidup di danau bergaram yang memiliki kadar garam tinggi dinamakan dengan halofilik. Kebanyakan organisme halofilik ekstrem dapat berkembang secara optimal dengan kadar garam 20-30 persen. Mereka memiliki pigmen merah dan contohnya adalah *Halobacterium* dan *Halococcus*

c. Bakteri Laut

Hampir semua bakteri laut adalah halofilik, yakni memerlukan NaCl untuk perkembangannya yang optimal. Pertumbuhan terbaik pada konsentrasi garam 2,5 - 4,0 persen, dan mikroba laut tidak dapat tumbuh atau dapat tumbuh tetapi sangat jelek bila ditempatkan di media air tawar. Laut memiliki kandungan garam rata-rata 3,5 persen. Bakteri-bakteri tersebut membutuhkan ion Na^+ untuk membantu transpor zat ke dalam sel, sedangkan ion Cl^- berfungsi membantu pertumbuhan.

Kebanyakan bakteri laut dapat diwarnai dengan pewarnaan gram negatif. Pada penelitian di California diisolasi terdapat 80% bakteri gram negatif di laut dan 36% bakteri gram negatif di tanah. Pertumbuhan bakteri laut umumnya lebih lambat dibandingkan dengan tanah.

Proporsi bakteri proteolitik (pengurai protein) pada bakteri laut lebih besar dari pada kebanyakan bakteri air tawar dan bakteri tanah. Hampir semua bakteri heterotrofik laut dapat melepaskan amonia dari pepton. Organisme sakarolitik (pengurai gula) memainkan sedikit peran didalam laut dibandingkan pada habitat lain. Sebagian besar bakteri laut berupa gram negatif, berflagela, batang tak berspora.

Pada air laut dan beberapa sedimen di laut perbandingan bakteri berpigmen besar. Telah dilaporkan bahwa separuh lebih banyak bakteri yang hidup dilaut adalah berpigmen. Pada media ekstrak yeast-pepton agar proporsi bakteri berpigmen antara 10-95%. Warna yang nampak adalah kuning, jingga, coklat, dan merah, lebih banyak daripada warna violet, biru, hitam, atau kehijauan. Bakteri dengan warna fluoresen hijau, biru, atau kuning juga sering didapat namun hanya beberapa persen saja. Bakteri berpigmen, adalah bakteri yang mengandung karotenoid yang mempunyai sifat toleran terhadap cahaya, dan terhambat oleh

cahaya pada intensitas normal. Suatu efek pengambatan pada kehidupan bakteri pada zona permukaan air; diasumsikan daerah itu terpapar sinar matahari yang kuat, maka dari itu hanya sejumlah kecil bakteri yang ditemukan di area permukaan laut.

2.9.2 Sedimen Padat

Sedimen adalah bahan padat yang sedang atau telah terangkut dari tempat asalnya melalui udara, air, gravitasi atau es ke lapangan atau posisi rendah (USDA,1996). Sedimen adalah partikel organik dan anorganik yang terakumulasi secara bebas (Duxubury *et al.*, 1991). Sedimen didefinisikan secara luas sebagai material yang diendapkan di dasar suatu cairan (air dan udara), atau secara sempit sebagai material yang diendapkan oleh air, angin, atau gletser / es (Wahyuancol,2008).

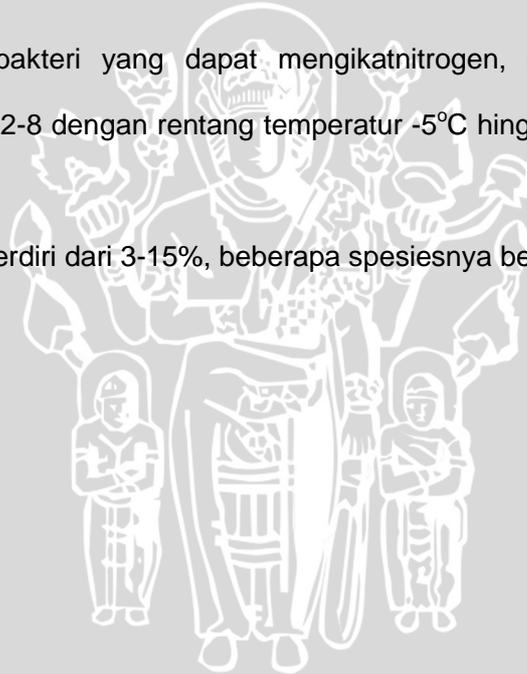
Sedimen adalah partikel organik dan anorganik yang terakumulasi secara bebas. Sedimen didefinisikan secara luas sebagai material yang diendapkan di dasar suatu cairan (air dan udara), atau secara sempit sebagai material yang diendapkan oleh air, angin, atau gletser / es. Sedangkan endapan sedimen adalah akumulasi mineral dan fragmen batuan dari daratan yang bercampur dengan tulang-tulang organisme laut dan beberapa partikel yang terbentuk melalui proses kimiawi yang terjadi di dalam laut (Gross, 1993).

2.9.2.1 Bakteri Sedimen

Berdasarkan Waluyo (2005), Bakteri yang hidup dalam tanah memegang peranan penting dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman. Hal ini berkaitan dengan kemampuannya mengikat nitrogen dari udara dan mengubah amonium menjadi nitrat. Termasuk dalam golongan ini bakteri berbentuk basil yang

mampu membentuk spora. Selain bakteri yang berbentuk batang, terdapat pula bakteri berbentuk kokus, dan vibrio. Beberapa contoh bakteri tersebut adalah:

1. *Clostridium pasteurianum* adalah bakteri yang menfiksasi nitrogen dalam keadaan anaerob.
2. *Azotobacter chroococcum* adalah bakteri yang dapat mengikat nitrogen dalam keadaan aerob.
3. *Nitrobacter* yaitu bakteri yang dapat mengubah amonium menjadi nitrat.
4. *Radicicolas* yaitu bakteri yang mampu hidup bersimbiosis dengan Leguminosae
5. *Bacillus* yaitu bakteri yang dapat mengikat nitrogen, membentuk spora, rentang pH nya 2-8 dengan rentang temperatur -5°C hingga 75°C meliputi 7-67%
6. *Pseudomonas* terdiri dari 3-15%, beberapa spesiesnya bersifat patogen.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2012-September 2013. Sampel air dan sedimen diperoleh dari kawasan lumpur Lapindo di desa Renokenongo, Kecamatan Porong, Kabupaten Sidoarjo. Proses kultur sampai uji identifikasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu dan Hayati serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Proses pengujian logam berat dan salinitas dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang; Toyohasi University of Technology, Japan serta sebagian isolat bakteri diamati di Laboratorium Universitas Kagoshima, Jepang.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan utama yang digunakan adalah air lumpur dan sedimen padat Lapindo yang didapatkan dari wilayah lumpur panas Lapindo, Sidoarjo. Media penumbuh bakteri dalam identifikasi bakteri dominan lumpur Lapindo, Sidoarjo ini terdiri dari *NA merck (Nutrient Agar)*, *NB merck (Nutrient Broth)*. Bahan-bahan dalam pengujian biokimia bakteri antara lain: *TSIA Agar (Triple Sugar Iron Agar)*, *MRVP Agar (Methyl Red and Voges Proskauer)*, *Nitrat Agar*, *Urea Broth*, *Simmon Sitrat*, *SIM Agar (Sulfide Indol Motility)*, *KOH 40%*, *α -naftol*, *Methyl Red*, *Kovac*, didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang. Bahan-bahan dalam pewarnaan gram antara lain: *aquadest*, Kristal ungu, Aseton, Iodin, Safranin, *yellow tip*, *blue tip* yang didapatkan dari Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang. Bahan-bahan dalam pengujian logam berat pada sampel

antara lain: HCl+HNO₃ (Aquaregian), HNO₃ (Asam Nitrat), ((NH₄)₂S₂O₈) Amonium persulfat, H₃PO₄ (Asam Fosfor), NaIO₄ (*Natrium Periodate*), [(C₆H₆)NHNH]₂CO (*Diphenylcarbazine*), (CH₃CNOH)₂ (*Dimethylglyoxime*), Iodium, Ammonium Sitrat yang didapatkan dari Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang. Bahan-bahan pelengkap adalah *Aluminium foil*, plastik *wrap*, kapas, tisu, lalu kertas saring, kertas whattman no. 42, alkohol 70%, spirtus, masker serta sarung tangan didapatkan dari CV. Makmur Sejati, Perumahan Griya Santha Blok I no. 238 Malang.

3.2.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam identifikasi bakteri dominan lumpur panas Lapindo, Sidoarjo ini terdiri dari *Laminer Air Flow* (LAF) merk Naire, botol scott merk *Pyrex*, tabung reaksi merk *Pyrex*, rak tabung reaksi, cawan petri merk *Pyrex*, pipet volume 10 ml merk *Pyrex*, bola hisap, erlenmeyer 250 ml merk *Pyrex*, 500 ml dan 1000 ml merk *Pyrex*, gelas ukur 100 ml merk *Pyrex*, corong merk *Pyrex*, *beaker glass* 500 ml dan 1000 ml merk *Pyrex*, spatula, autoklaf merk *Sanyo*, timbangan digital merk *Mettler Toledo*, nampan, *shaker incubator* merk *SI-600R*, jarum loop, jarum ose, kompor, *sprayer*, mikropipet merk *Avi-Teck*, pH meter Luton YK-2001PH, termometer merk *oxoid*, panci, bunsen, coolbox, *microbact identification kit* merk *oxoid*, AAS (*Atomic Absorbion Spectrophotometer*) merk *Shimadzu*, spektrofotometri merk *Thermo Spectronic*, inkubator merk *Memmert*, *cruisable tunk*, *washing bottle*, mikroskop merk *Olympus*, kulkas merk *Toshiba*, *object glass*, *cover glass*, bunsen, kamera merk *Olympus*, refraktometer merk *Atago*.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksploratif, dimana metode ini digunakan untuk mempelajari gejala-gejala serta studi kasus yang masih perlu

diteliti dan masih sangat kurang diketahui oleh masyarakat umum. Penelitian jenis ini bertujuan untuk memperdalam pengetahuan mengenai suatu gejala tertentu, atau mendapatkan ide-ide baru dengan maksud untuk merumuskan masalahnya secara lebih terperinci atau untuk mengembangkan hipotesa. Metode ini bertujuan untuk memformulasikan pertanyaan penelitian yang lebih tepat, sehingga hasil penelitian nanti dapat menjawab pertanyaan-pertanyaan selanjutnya di masa mendatang (Yumei dan Yulia, 2008).

Metode eksploratif dimasukkan ke dalam jenis penelitian terapan yang sifatnya sangat longgar, fleksibel, dan tidak terstruktur. Jumlah sampel tidak perlu terlalu banyak dan jika analisis dari data primer lebih bersifat kualitatif. Jadi penelitian ini berguna apabila peneliti tidak banyak mengetahui atau sedikit sekali mengetahui informasi mengenai masalah (Masyhuri dan Zainuddin, 2008).

Peneliti mencoba untuk menggambarkan dan menjelaskan tentang isolasi bakteri dominan lumpur Lapindo untuk diketahui jenis bakteri dan karakterisasi nya secara morfologis maupun sifat biokimianya yang diambil dari sampel air lumpur dan sedimen padat Lapindo, Sidoarjo dengan menggunakan beberapa uji, yaitu uji morfologis koloni dan sel bakteri, uji biokimia yang dibandingkan dengan uji 16S rDNA, berdasarkan kondisi lingkungan lumpur Lapindo Sidoarjo serta untuk mengetahui peranan bakteri termofil dalam proses pengolahan produk perikanan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel diambil disekitar semburan lumpur Lapindo Porong Sidoarjo, terdapat dua macam sampel yang diambil yaitu berupa sedimen padat dan lumpur bercampur air. Masing-masing sampel diambil dari 5 titik yang berbeda dan disetiap titik dilakukan 3 kali pengambilan sampel, kemudian dimasukkan

menjadi satu kedalam botol *scott* steril kemudian ditutup dan dibawa kembali ke laboratorium dan disimpan dalam kulkas suhu 4°C hingga digunakan untuk mempertahankan kualitas sampel yang diambil. Pengambilan sampel dilakukan di 5 titik dengan tujuan bahwa sampel tersebut telah mewakili kondisi lingkungan secara keseluruhan sehingga didapatkan hasil yang *representative* atau layak. Pengambilan sampel terbagi atas 2 macam, yaitu botol *scott* steril dipersiapkan khusus untuk sampel dalam kultur (air lumpur dan sedimen padat), sedangkan botol *scoot* non steril untuk mengambil air Lapindo yang akan dipergunakan sebagai bahan dalam pembuatan larutan isotonis pengganti Nafis 0.9 % saat pengenceran bertingkat. Deskripsi lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada gambar 9. Langkah-langkah pengambilan sampel dapat dilihat pada Lampiran 2.



Gambar 18. Lokasi pengambilan sampel air lumpur dan sedimen padat Lapindo

3.4.2 Pengukuran Parameter Fisika dan Kimia Lingkungan

3.4.2.1 Pengukuran Suhu

Pengukuran suhu dilakukan pada masing-masing sampel, yaitu pengukuran suhu pada sampel air dan pengukuran suhu pada sampel sedimen. Pengukuran suhu dilakukan di 5 titik yang berbeda dan disetiap titik dilakukan sebanyak 3 kali sebagai faktor koreksi agar didapatkan data yang *representative* atau layak. Pengukuran suhu secara langsung dilakukan ditempat pengambilan

sampel. Termometer di tancapkan langsung pada sampel air maupun sedimen kemudian dibaca suhunya. Pengukuran suhu dapat dilihat pada gambar 10. Langkah-langkah pengukuran suhu sampel dapat dilihat pada Lampiran 3.1



Gambar 19. Pengukuran suhu air lumpur dan sedimen padat Lapindo

3.4.2.2 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan pada masing-masing sampel, yaitu pengukuran pH pada sampel air dan pengukuran pH pada sampel sedimen. Pengukuran pH dilakukan di 5 titik yang berbeda dan disetiap titik dilakukan sebanyak 3 kali sebagai faktor koreksi agar didapatkan data yang *representative* atau layak. Sampel air Lapindo dimasukkan kedalam *beaker glass* 500 ml kemudian pH meter dimasukkan kedalam *beaker glass* dan dicatat pH nya. Sedangkan untuk sampel sedimen, sedimen padat dimasukkan kedalam *beaker glass* 500 ml lalu ditambahkan sedikit aquades yang memiliki pH netral setelah itu pH meter dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dicatat pH nya. Pengukuran pH dilakukan di laboratorium mikrobiologi LSIH, Universitas Brawijaya, Malang menggunakan pH meter. Pengukuran pH dapat dilihat pada gambar 11. Langkah-langkah pengukuran pH dapat dilihat pada Lampiran 3.2



Gambar 20. Pengukuran pH sampel air lumpur dan sedimen padat Lapindo

3.4.2.3 Pengukuran Salinitas

Pengukuran salinitas air Lapindo dilakukan dengan menggunakan refraktrometer. Pengukuran salinitas dilakukan di 5 titik yang berbeda dan disetiap titik dilakukan sebanyak 3 kali sebagai faktor koreksi agar didapatkan data yang *representative* atau layak. Pada sampel air Lapindo masing-masing diambil satu tetes kemudian diteteskan pada prisma refraktometer, kemudian ditutup dan dilihat ke arah sumber cahaya melalui lensa belakang refraktometer untuk mendapatkan kadar salinitasnya. Kemudian dilakukan hal yang sama pada sampel sedimen lumpur Lapindo. Pengukuran salinitas air dan sedimen Lapindo dapat dilihat pada gambar 12. Langkah-langkah pengukuran salinitas dapat dilihat pada Lampiran 3.3



Gambar 21. Pengukuran Salinitas dengan Refraktometer

3.4.2.4 Pengukuran Kadar Logam Berat (AAS dan Spektrofotometer)

Pengukuran kadar logam berat dilakukan pada masing-masing sampel dengan menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)* dan spektrofotometer. Pada metode AAS sampel sedimen ditimbang sebanyak 2 gram dan untuk sampel air diukur 100 ml. kemudian dimasukan ke cawan porselen dan ditambahkan aquaregia yang terdiri dari (HCl dan HNO₃) sebanyak 5 ml yang ditujukan untuk melarutkan logam dalam sampel. Berdasarkan Kristianingrum (2013), Aqua regia yaitu campuran asam klorida pekat dan asam nitrat pekat dengan perbandingan volume 3:1 mampu melarutkan logam-logam mulia seperti emas dan platina yang tidak larut dalam HCl pekat dan HNO₃ pekat.

Reaksi yang terjadi jika 3 volume HCl pekat dicampur dengan 1 volume HNO₃ pekat:



Gas klor (Cl₂) dan gas nitrosil klorida (NOCl) inilah yang mengubah logam menjadi senyawa logam klorida dan selanjutnya diubah menjadi kompleks anion yang stabil yang selanjutnya bereaksi lebih lanjut dengan Cl⁻. Setelah itu dipanaskan diatas kompor listrik sampai kadar air pada sampel sedimen hilang sedangkan pada sampel air dipanaskan selama 10 menit. kemudian didinginkan dan ditambahkan sebanyak 10 ml larutan HNO₃ 2,5 N encer dan dipanaskan kembali selama 5 menit kemudian disaring ke labu 25 ml untuk ditambahkan aquades sampai tanda batas labu. Lalu dikocok sampai homogen kemudian sampel dibaca dengan AAS dengan menggunakan lampu katoda sesuai dengan logam berat yang akan diuji dan dicatat absorbansinya. Pengukuran logam berat dengan menggunakan AAS dapat dilihat pada gambar 13. Langkah-langkah pengujian logam berat dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) dapat dilihat pada Lampiran 3.4



Gambar 22. Pengukuran Kadar Logam Berat dengan AAS

Untuk pengujian logam Ni dengan metode spektrofotometer dilakukan pada sampel air dan sedimen lumpur Lapindo. Pada sampel sedimen ditimbang 2 gram. Kemudian ditambah aquaregia (HNO₃ + HCl) sebanyak 5 ml yang berfungsi untuk melarutkan logam Ni yang berada dalam sampel. Berdasarkan

Kristianingrum (2013), Aqua regia yaitu campuran asam klorida pekat dan asam nitrat pekat dengan perbandingan volume 3:1 mampu melarutkan logam-logam mulia seperti emas dan platina yang tidak larut dalam HCl pekat dan HNO₃ pekat. Reaksi yang terjadi jika 3 volume HCl pekat dicampur dengan 1 volume HNO₃ pekat:



Gas klor (Cl₂) dan gas nitrosil klorida (NOCl) inilah yang mengubah logam menjadi senyawa logam klorida dan selanjutnya diubah menjadi kompleks anion yang stabil yang selanjutnya bereaksi lebih lanjut dengan Cl⁻. Kemudian ditambahkan HNO₃ encer (2,5 N) sebanyak 10 ml agar logam larut lebih sempurna. Setelah itu sampel dididihkan hingga asat atau kadar air hilang untuk mempercepat reaksi pelarutan logam dalam sampel dan didinginkan. Lalu disaring pada labu 100 ml dan ditambahkan aquades hingga 100 ml jika hasil saringan kurang dari 50 ml dan didapatkan filtrat. Setelah itu filtrat diambil 50 ml dan ditambahkan 10 ml Amonium Sitrat (C₆H₁₄N₂O₇) yang berfungsi sebagai pengikat logam Ni. Lalu ditambahkan 5 ml larutan Iodium yang berfungsi sebagai larutan buffer, kemudian ditambahkan 20 ml larutan (CH₃(NOH)₂) (*Dimethylglyoxime*) yang berfungsi sebagai pengkompleks logam Ni. Berdasarkan Zajac *et al.*, (2010), Nikel mempunyai sifat umum yang *hypersensitif*. Sebuah gangguan utama dalam estimasi nikel adalah kobalt, besi atau tembaga. Sehingga reaksi *complexometric* antara nikel dengan *dimethylglyoxime* merupakan salah satu metode yang telah dikembangkan untuk mengatasi masalah ini. Setelah itu ditambahkan kembali aquades hingga 100 ml dan didamkan selama 10 menit. Lalu dibaca di spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm untuk dicatat absorbansinya. Langkah-langkah pengujian logam berat Ni dengan Spektrofotometer dapat dilihat pada Lampiran 3.5

Untuk pengujian logam Ni dengan metode spektrofotometer dilakukan pada sampel air dan sedimen lumpur Lapindo. Pada sampel air diukur 100 ml. Kemudian ditambah aquaregia ($\text{HNO}_3 + \text{HCl}$) sebanyak 5 ml yang berfungsi untuk melarutkan logam Ni yang terdapat di dalam sampel. Berdasarkan Kristianingrum (2013), Aqua regia yaitu campuran asam klorida pekat dan asam nitrat pekat dengan perbandingan volume 3:1 mampu melarutkan logam-logam mulia seperti emas dan platina yang tidak larut dalam HCl pekat dan HNO_3 pekat. Reaksi yang terjadi jika 3 volume HCl pekat dicampur dengan 1 volume HNO_3 pekat:



Gas klor (Cl_2) dan gas nitrosil klorida (NOCl) inilah yang mengubah logam menjadi senyawa logam klorida dan selanjutnya diubah menjadi kompleks anion yang stabil yang selanjutnya bereaksi lebih lanjut dengan Cl^- . Setelah itu ditambahkan HNO_3 encer (2,5 N) sebanyak 10 ml agar logam larut lebih sempurna. Setelah itu sampel dididihkan hingga asat atau kadar air hilang untuk mempercepat reaksi pelarutan logam dalam sampel dan didinginkan. Lalu disaring pada labu 100 ml dan ditambahkan aquades hingga 100 ml jika hasil saringan kurang dari 50 ml dan didapatkan filtrat. Setelah itu filtrat diambil 50 ml dan ditambahkan 10 ml Amonium Sitrat ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$) yang berfungsi sebagai pengikat logam Ni. Lalu ditambahkan 5 ml larutan Iodium yang berfungsi sebagai larutan buffer. kemudian ditambahkan 20 ml larutan $(\text{CH}_3(\text{NOH})_2)$ (*Dimethylglyoxime*) yang berfungsi sebagai pengkompleks logam Ni. Berdasarkan Zajac *et al.*, (2010), Nikel mempunyai sifat umum yang *hypersensitif*. Sebuah gangguan utama dalam estimasi nikel adalah kobalt, besi atau tembaga. Sehingga reaksi *complexometric* antara nikel dengan *dimethylglyoxime* merupakan salah satu metode yang telah dikembangkan untuk mengatasi masalah ini. Setelah itu ditambahkan kembali aquades hingga 100 ml

dan didamkan selama 10 menit. Lalu dibaca di spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm untuk dicatat absorbansinya. Langkah-langkah pengujian logam berat Ni dengan Spektrofotometer dapat dilihat pada Lampiran 3.5

Untuk pengujian logam Cr dengan metode spektrofotometer dilakukan pada sampel air dan sedimen lumpur Lapindo. Pada sampel sedimen ditimbang 2 gram. Kemudian ditambah asam nitrat (HNO_3) pekat sebanyak 10 ml yang berfungsi untuk melarutkan logam Cr dalam sampel. Setelah itu dididihkan sampai asat atau kadar air hilang, kemudian didinginkan. Berdasarkan Ward *et al.*, (1969), asam nitrat yang mendidih digunakan untuk menghancurkan sampel, sehingga logam tersebut mudah dilarutkan dengan rebusan asam nitrat, penggunaan asam nitrat ini dikarenakan lebih aman jika dibandingkan asam peklorat panas. Kemudian ditambahkan HNO_3 encer (2,5 N) sebanyak 10 ml lalu dipanaskan kembali selama ± 10 menit agar logam dalam sampel terekstraksi (larut) lebih sempurna dan disaring kedalam labu ukur 100 ml agar didapatkan filtrat. Setelah itu filtrat diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml $[(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NHNH}]_2\text{CO}$ (*Diphenylcarbazide*) sebagai pengkompleks logam Cr pada pH asam sehingga akan membentuk warna ungu violet. Menurut (Clesceri *et al.*, 1998). Penentuan Cr dalam air dengan APHA 3500-Cr, digunakan *Diphenylcarbazide* sebagai pengkompleks. Prinsip dari metode ini dapat dijelaskan sebagai berikut: penentuan Cr dapat dilakukan dengan menambahkan pengkompleks *Diphenylcarbazide* pada pH asam sehingga nanti akan memberikan warna ungu violet. Kemudian dikocok dan dibaca di spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm untuk dicatat absorbansinya. Langkah-langkah pengujian logam berat Cr dengan Spektrofotometer dapat dilihat pada Lampiran 3.5

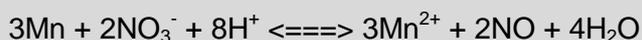
Untuk sampel air pada pengujian logam Cr dengan metode spektrofotometer. Air sampel diukur sebanyak 100 ml. Kemudian ditambah

asam nitrat (HNO_3) pekat sebanyak 10 ml yang berfungsi untuk melarutkan logam Cr dalam sampel. Setelah itu dipanaskan sampai ± 10 menit, kemudian didinginkan. Berdasarkan Ward *et al.*, (1969), asam nitrat yang mendidih digunakan untuk menghancurkan sampel, sehingga logam tersebut mudah dilarutkan dengan rebusan asam nitrat, penggunaan asam nitrat ini dikarenakan lebih aman jika dibandingkan asam peklorat panas. Kemudian disaring kedalam labu ukur 100 ml agar didapatkan filtrat dan ditambahkan aquades hingga volume menjadi 100 ml. Setelah itu filtrat diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 ml $[(\text{C}_6\text{H}_5)\text{NHNH}]_2\text{CO}$ (*Diphenylcarbazide*) sebagai pengkompleks logam Cr pada pH asam sehingga akan membentuk warna ungu violet. Menurut (Clesceri *et al.*, 1998). Penentuan Cr dalam air dengan APHA 3500-Cr, digunakan *Diphenylcarbazide* sebagai pengkompleks. Prinsip dari metode ini dapat dijelaskan sebagai berikut: penentuan Cr dapat dilakukan dengan menambahkan pengkompleks *Diphenylcarbazide* pada pH asam sehingga nanti akan memberikan warna ungu violet. Setelah itu dikocok dan dibaca di spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm untuk dicatat absorbansinya. Langkah-langkah pengujian logam berat Cr dengan Spektrofotometer dapat dilihat pada Lampiran 3.5

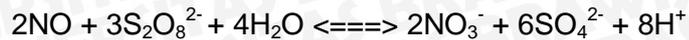
Untuk pengujian logam Mn dengan metode spektrofotometer dilakukan pada sampel air dan sedimen lumpur Lapindo. Pada sampel sedimen ditimbang 2 gram dan pada sampel air diukur 100 ml. Kemudian ditambah asam nitrat (HNO_3) sebanyak 10 ml yang berfungsi untuk melarutkan logam Mn dalam sampel dengan cara mengoksidasi dari ion Mn ke Mn^{2+} . Setelah itu dididihkan sampai asat atau kadar air hilang, kemudian didinginkan. Berdasarkan Ward *et al.*, (1969), asam nitrat yang mendidih digunakan untuk menghancurkan sampel, sehingga logam tersebut mudah dilarutkan dengan rebusan asam nitrat, penggunaan asam nitrat ini dikarenakan lebih aman jika dibandingkan asam

peklorat panas. Setelah itu ditambahkan $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$ (*Amonium Persulfat*) yang berfungsi sebagai pengikat ion logam Mn^{2+} dengan cara menghilangkan senyawa oksida nitrat (NO), dan larutan H_3PO_4 (*Asam Fosfor/Phosphoric Acid*) sebanyak 10 ml yang berfungsi sebagai larutan buffer, sehingga pada pH tersebut terjadi proses pengkompleksasian yang lebih sempurna tanpa gangguan dari ion-ion yang lain. Lalu dididihkan untuk mempercepat reaksi kemudian didinginkan. Setelah itu ditambahkan NaIO_4 (*Natrium Periodate*) sebanyak 0,1 gram yang berfungsi sebagai pengkompleks logam Mn yang nantinya akan membentuk warna ungu violet. Berdasarkan DR 2800 Spectrophotometer (2007), mangan (Mn) dalam sampel dioksidasi menjadi warna ungu dengan *Natrium Periodate*, warna ungu berbanding lurus dengan konsentrasi mangan, yang hasilnya telah diukur pada panjang gelombang 525 nm. Lalu dipanaskan $\pm 70^\circ\text{C}$ hingga terbentuk warna merah lembayung (merah keunguan). Setelah itu dibaca di spektrofotometer dengan panjang gelombang 525 nm untuk dicatat absorbansinya. Langkah-langkah pengujian logam berat Mn dengan Spektrofotometer dapat dilihat pada Lampiran 3.5

Menurut Ulrich dan Oliver (2013), sebagian besar mangan mengandung sedikit baja. Sebuah metode kolorimetrik berdasarkan warna ungu yang digunakan untuk karakteristik dari ion MnO_4^- . Metode ini didasarkan pada pembubaran baja dalam asam nitrat yang juga mengoksidasi Mn ke Mn^{2+} . Reaksi yang terjadi adalah:



Oksida nitrat yang dihasilkan harus dihilangkan karena akan bereaksi dengan periodat dan dengan demikian akan menghambat oksidasi ion Mn^{2+} . Penghapusan NO dicapai melalui pemanasan hingga mendidih dan penambahan *Amonium Peroxydisulfate* $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. Senyawa yang juga dikenal sebagai *Amonium Persulfat*. Reaksi yang terjadi adalah:



Peroxydisulfate juga mengoksidasi dan menghilangkan karbon atau bahan organik lainnya. $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ adalah agen pengoksidasi kuat. Ini mungkin akan mengoksidasi beberapa ion manganous ke MnO_2 yang akan membentuk endapan coklat. Penambahan sejumlah kecil *Natrium Bisulfit* NaHSO_3 , akan mengurangi MnO_2 kembali ke Mn^{2+} . Asam fosfat ditambahkan ke larutan untuk mencegah gangguan apapun dari ion besi yang dapat membentuk kompleks warna, sehingga akan menimbulkan masalah karena mengalami oksidasi antara cerium (III) dan kromium (III) dengan adanya periodat dan dapat menunjukkan penyerapan yang signifikan dari cahaya pada panjang gelombang yang sama untuk mengukur absorbansinya.



Gambar 23. Pengukuran Kadar Logam Berat dengan Spektrofotometer

3.4.3 Kultur Bakteri *Massal*

Kultur bakteri *massal* pada sampel air dan sedimen lumpur Lapindo menggunakan metode tuang yang dilakukan sebagai langkah awal untuk mengetahui macam-macam jenis bakteri yang mampu tumbuh di air dan sedimen lumpur panas Lapindo. Sehingga peneliti dapat memilih dan menentukan bakteri dominan yang tumbuh pada sampel untuk diuji lebih lanjut. Kultur bakteri secara *massal* ini menggunakan metode tuang yang termodifikasi milik Surtiningsih *et al.*, (2009) dan Pelczar and Chan, (1986).

3.4.3.1 Air

Kultur bakteri secara acak (*massa*) dilakukan pertama kali terhadap sampel air Lapindo. Pertama-tama dilakukan sterilisasi terhadap semua alat dan bahan yang akan digunakan. Kemudian sampel air Lapindo diambil dari kulkas lalu disaring dengan menggunakan kertas whattman no. 42 sebanyak 10 ml. Penyaringan dilakukan didalam LAF untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari bakteri lain. Kemudian disiapkan larutan pengencer, larutan pengencer ini digunakan air Lapindo yang disaring menggunakan kertas saring lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing berisi 9 ml sebanyak 9 tabung untuk pengenceran dari 10^{-2} hingga 10^{-10} dan 90 ml sebanyak 1 erlenmeyer 250 ml untuk pengenceran 10^{-1} kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Kultur bakteri dilakukan dengan menggunakan media NA *Merck* sebanyak 8,4 gram yang dilarutkan dengan air Lapindo sebanyak 420 ml, karena kultur dilakukan dari 10^{-1} hingga 10^{-10} secara duplo dengan metode tuang dan 1 cawan petri berisi blanko atau kontrol (-) sebagai standar apakah terjadi kontaminasi selama penanaman. Kemudian diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 47°C dimana setiap 24 jam sekali pertumbuhan bakteri diamati. Lalu hasil didapatkan. Langkah-langkah kultur bakteri *massa* sampel air dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.3.2 Sedimen

Kultur bakteri secara acak (*massa*) dilakukan terhadap sampel sedimen lumpur Lapindo. Pertama-tama dilakukan sterilisasi terhadap semua alat dan bahan yang akan digunakan. Kemudian sampel Lapindo diambil dari kulkas dan diambil sampel sedimen sebanyak 10 gram, pengambilan sampel sedimen dilakukan didalam LAF untuk mencegah terjadinya kontaminasi dari bakteri lain. Kemudian disiapkan larutan pengencer, larutan pengencer ini digunakan air

Lapindo yang disaring menggunakan kertas saring lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing berisi 9 ml sebanyak 9 tabung untuk pengenceran dari 10^{-2} hingga 10^{-10} dan 90 ml sebanyak 1 erlenmeyer 250 ml untuk pengenceran 10^{-1} kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Kultur bakteri dilakukan dengan menggunakan media NA *Merck* sebanyak 8,4 gram dengan air Lapindo sebanyak 420 ml, karena kultur dilakukan dari 10^{-1} hingga 10^{-10} secara duplo dengan metode tuang dan 1 cawan petri berisi blanko atau kontrol (-) sebagai standar apakah terjadi kontaminasi selama penanaman. Kemudian diinkubasi selama 72 jam suhu 47°C dimana setiap 24 jam sekali pertumbuhan bakteri diamati. Lalu hasil didapatkan. Langkah-langkah kultur bakteri *massal* sampel sedimen dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.4 Isolasi Bakteri Target

Isolasi atau pemurnian bakteri target dilakukan agar didapatkan biakan bakteri target yang benar-benar murni. Isolasi bakteri target ini dilakukan dengan menggunakan metode tuang, dengan menggunakan 2 macam media, yaitu media NB (*Nutrient Broth*) dan media NA (*Nutrient Agar*). Isolasi bakteri target ini menggunakan metode tuang yang termodifikasi milik Nanda *et al.*, (2010) dan Pelczar and Chan, (1986)

Pertama-tama isolat bakteri target pada masing-masing sampel air dan sedimen dikultur dengan mengambil 1 loop isolat bakteri kemudian dimasukkan kedalam media NB (*Nutrient Broth*) steril secara duplo dan 1 tabung reaksi berisi blanko atau kontrol (-) yang digunakan sebagai standar apakah terjadi kontaminasi selama penanaman. Kemudian diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 80 rpm suhu 47°C selama 3 hari, hingga terjadi perubahan kepekatan atau kekeruhan pada media NB yang menandakan adanya pertumbuhan pada bakteri. Setelah itu diinokulasikan dengan cara dikultur pada

media NA (*Nutrient Agar*) untuk mengoptimalkan pertumbuhan bakteri yang diinginkan dari 10^{-5} hingga 10^{-7} secara duplo dan ditambah 1 cawan petri berisi blanko atau kontrol (-) sebagai standar apakah terjadi kontaminasi selama penanaman. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 5 hari. Lalu hasil didapatkan. Langkah-langkah isolasi bakteri target sampel air dan sedimen dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.4.5 Uji Karakteristik Bakteri

Karakteristik bakteri dominan lumpur Lapindo berdasarkan metode Samanta *et al.*, (2012) yang termodifikasi, meliputi morfologi koloni bakteri yang meliputi bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni dan elevasi koloni. Kemudian morfologi sel bakteri yang meliputi pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri, serta pengujian biokimia, yang meliputi uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), uji MR (*Methyl Red*), uji VP (*Voges Proskauer*), uji SIM (*Sulfide Indol Motility*), uji Urease, uji Nitrat, dan uji Sitrat kemudian ditunjang dengan pengujian biokimia menggunakan *microbact identification kits*. Secara keseluruhan langkah-langkah dalam uji karakteristik bakteri dominan lumpur Lapindo dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.4.5.1 Morfologi Koloni Bakteri

a. Bentuk Koloni

Bentuk koloni bakteri dilakukan secara visual menggunakan mata telanjang. Pengamatan bentuk koloni dilakukan setelah didapatkan isolat bakteri target yang telah murni, setelah diisolasi dengan metode tuang yang diinokulasi dari media NB ke media NA pada cawan petri. Kemudian diidentifikasi bentuk koloni bakteri tersebut.

b. Warna Koloni

Warna koloni bakteri dilakukan secara visual menggunakan mata telanjang. Pengamatan warna koloni dilakukan setelah didapatkan isolat bakteri

target yang telah murni, setelah diisolasi dengan metode tuang yang diinokulasi dari media NB ke media NA pada cawan petri. Kemudian diidentifikasi warna koloni bakteri tersebut.

c. Tepi Koloni

Tepi koloni bakteri dilakukan secara visual menggunakan mata telanjang. Pengamatan tepi koloni dilakukan setelah didapatkan isolat bakteri target yang telah murni, setelah diisolasi dengan metode tuang yang diinokulasi dari media NB ke media NA pada cawan petri. Kemudian diidentifikasi tepi koloni bakteri tersebut.

d. Elevasi Koloni

Jenis Elevasi koloni bakteri dilakukan secara visual menggunakan mata telanjang. Pengamatan elevasi koloni dilakukan setelah didapatkan isolat bakteri target yang telah murni, setelah diisolasi dengan metode tuang yang diinokulasi dari media NB ke media NA pada cawan petri. Kemudian diidentifikasi elevasi koloni bakteri tersebut.

3.4.5.2 Morfologi Sel Bakteri

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram sel bakteri dilakukan menggunakan teknik pengecatan gram modifikasi milik Sogaard *et al.*, (2007). Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui jenis gram dari bakteri yang akan diidentifikasi apakah termasuk dalam gram positif atau gram negatif. Pewarnaan gram dilakukan setelah mengetahui morfologi koloni bakteri, kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Adapun prosedur pewarnaan gram adalah sebagai berikut diambil sedikit isolat bakteri kemudian ambil 1 ose Nafis steril 0,9% dan dihomogenkan diatas objek glass dan difiksasi sampai kering. Kemudian ditetesi kristal violet dan didiamkan selama 30 detik kemudian dibilas dengan akuades, Setelah itu ditetesi dengan iodine didiamkan selama 30 detik dan dibilas dengan

akuades, selanjutnya ditetesi dengan aseton alkohol dan didiamkan tidak boleh lebih dari 7 detik kemudian dibilas dengan akuades dan terakhir ditetesi safranin dan didiamkan 30 detik kemudian dibilas dengan akuades kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Langkah-langkah pengecatan gram bakteri dapat dilihat pada Lampiran 6.1

b. Bentuk Sel Bakteri

Bentuk sel bakteri dilakukan setelah pewarnaan gram. Identifikasi bentuk sel bakteri dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x untuk mengetahui bentuk sel dari bakteri tersebut, apakah berbentuk *basil*, *coccus*, atau *spiral*.

3.4.5.3 Uji Biokimia

Uji biokimia ditujukan untuk mengetahui sifat biokimia dari bakteri tersebut, proses pengujian biokimia pada penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali, yaitu pengujian biokimia secara manual modifikasi milik Cappucino and Sherman (1983), dan pengujian biokimia dengan menggunakan *Microbact Identification Kits* (Oxoid, 2003), sebagai pembanding dan pelengkap uji biokimia agar didapatkan hasil yang representatif.

a. TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Pengujian TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target yang telah murni dengan menggunakan jarum ose, kemudian ditusukkan hingga mencapai setengah dasar medium "*butt*" untuk mengetahui adanya gelembung dan terbentuknya H₂S pada media TSIA miring. Kemudian dengan isolat yang sama, jarum ose langsung digoreskan pada bagian lereng media TSIA miring "*slant*". Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam. Apabila pada bagian "*butt*" berwarna kuning maka menandakan bahwa media berubah menjadi asam yang berarti bahwa bakteri mampu memfermentasi glukosa, sedangkan apabila "*butt*"

berwarna merah atau pink maka hal tersebut menandakan bahwa media berubah menjadi alkaline (basa) yang berarti bahwa bakteri tidak mampu memfermentasi glukosa. Kemudian apabila pada bagian “*slant*” berwarna kuning hal tersebut menandakan bahwa bakteri mampu memfermentasi laktosa dan atau sakarosa dengan asam. Sedangkan apabila “*slant*” berwarna merah atau pink hal tersebut menandakan bahwa bakteri tidak mampu memfermentasi laktosa dan atau sakarosa. Lalu apabila pada bekas tusukan jarum ose terdapat rongga udara maka hal tersebut menandakan bahwa bakteri menghasilkan gas dan apabila terdapat warna hitam maka hal tersebut menandakan terbentuknya H₂S pada media TSIA Langkah-langkah uji biokimia TSIA dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1

b. SIM (*Sulfide Indol Motility*)

Pengujian SIM (*Sulfide Indol Motility*) dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target ditusukkan pada media SIM (*Sulfide Indol Motility*) dengan cara ditusuk secara tegak lurus di tengah-tengah media, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama ± 18-24 jam. Setelah itu media SIM ditetesi 10 tetes pereaksi indol (kovac). Bila pada bekas tusukan media timbul kekeruhan seperti kabut berarti menandakan bakteri tersebut bergerak atau motil, sedangkan apabila dipermukaan media terbentuk cincin merah hal tersebut menandakan bahwa terbentuk indol pada media, serta apabila pada media terdapat warna hitam, hal tersebut menandakan bahwa terbentuk sulfur pada media Langkah-langkah uji biokimia SIM dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1.

c. Urease

Pengujian urease dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target yang telah murni dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium urea agar

miring, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam. Apabila medium berubah warna menjadi merah atau pink, hal tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim urease sehingga terbentuk senyawa amoniak. Sedangkan apabila medium tidak berubah warna atau tetap berwarna kuning, hal tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut tidak mampu menghasilkan enzim urease sehingga tidak terbentuk senyawa amoniak. Langkah-langkah uji biokimia urease dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1

d. Sitrat

Pengujian sitrat dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target yang telah murni dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium *simmons citrat* miring. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48-96 jam. Apabila media *simmons citrat* berubah menjadi warna biru, maka hal tersebut menandakan bahwa bakteri menunjukkan reaksi positif yang berarti bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon, dan apabila media *simmons citrat* tidak berubah warna atau tetap berwarna hijau, maka hal tersebut menandakan bahwa bakteri menunjukkan reaksi negatif yang berarti bahwa bakteri tidak mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Langkah-langkah uji biokimia sitrat dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1

e. Nitrat

Pengujian nitrat dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target yang telah murni dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan kedalam media *nitrat broth*, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Apabila setelah diinkubasi larutan nitrat berubah menjadi keruh hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri menunjukkan reaksi positif yang berarti bahwa bakteri mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit dan apabila larutan nitrat tidak berubah kekeruhan maka hal tersebut menunjukkan

bahwa bakteri tidak dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. Langkah-langkah uji biokimia nitrat dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1

f. MR (*Methyl Red*)

Pengujian MR (*Methyl Red*) dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target yang telah murni dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan pada media MRVP, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah itu media MRVP ditetesi larutan metil merah sebanyak 5 tetes dan dikocok hingga homogen. Apabila media MRVP berubah menjadi merah, maka hal tersebut menandakan bahwa bakteri menunjukkan reaksi positif yang menunjukkan bahwa bakteri mampu mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam berkonsentrasi tinggi, dan apabila media MRVP tidak berubah warna atau tetap berwarna kuning, maka hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri menunjukkan reaksi negatif yang menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam berkonsentrasi tinggi. Langkah-langkah uji biokimia MR dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1

g. VP (*Voges Proskauer*)

Pengujian VP (*Voges Proskauer*) dilakukan dengan cara mengambil masing-masing satu ose isolat bakteri target yang telah murni dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasikan pada media MRVP, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah itu media MRVP ditambahkan larutan α -naftol lalu dihomogenkan sebentar. Lalu ditambahkan larutan KOH 40%. Dimana perbandingan larutan α -naftol dengan KOH 40% adalah 3:1 dengan beturut-turut sebanyak 0,6:0,2 ml pada setiap ml larutan MRVP. Setelah itu diamkan selama 2-4 jam untuk mereaksikannya. Apabila media MRVP berubah warna menjadi merah muda hingga merah tua, maka hal tersebut menandakan bahwa bakteri menunjukkan reaksi yang positif yang

berarti bahwa dalam pertumbuhan bakteri telah terbentuk asetilkarbinol sebagai produk antara dari proses metabolisme karbohidrat. Sedangkan apabila media MRVP tidak berubah warna atau tetap berwarna kuning, maka hal tersebut menandakan bahwa bakteri menunjukkan reaksi yang negatif yang berarti bahwa dalam pertumbuhan bakteri tidak terbentuk asetilkarbinol sebagai produk antara dari proses metabolisme karbohidrat. Langkah-langkah uji biokimia VP dapat dilihat pada Lampiran 6.2.1

3.4.5.4 Uji *Microbact Identification Kits*

Identifikasi bakteri dengan pengujian biokimia juga dilakukan dengan menggunakan *Microbact Identification Kits*. Untuk pengujian bakteri gram positif bias digunakan GNB 12B saja, sedangkan GNB 12A diabaikan. Uji bakteri gram negatif menggunakan 1 set yaitu GNB 12A/B/E 24E. Cara penggunaannya yang pertama dilakukan adalah melakukan uji oksidasi untuk menentukan jenis *Microbact Identification Kits* yang digunakan. Kultur isolate bakteri yang akan diidentifikasi diambil sedikit dengan jarum ose, kemudian ditempatkan pada kertas oksidase (*Bactident Oxidase Kit*), diamati perubahan warnanya selama 60 detik, apabila timbul warna ungu menunjukkan oksidase positif, maka harus memakai microbact MB-12A + MB-12B atau microbact 24E. namun apabila tidak berwarna menunjukkan oksidasi negatif, maka bias memakai microbact MB-12A saja atau bisa juga MB 12A + MB 12B atau MB 24E

- **Pengujian Sifat Biokimia Dengan Microbact**

Uji biokimia dengan MB-12A/E meliputi uji lysine, uji omithin, uji H₂S, uji glukosa, uji manitol, uji xylose, uji ONPG, uji indol, uji urease, uji VP, uji Citrate dan uji TDA. Uji biokimia dengan MB-12B meliputi uji gelatin, uji malonat, uji inositol, uji sorbitol, uji ramnosha, uji sucrose, uji lactose, uji arabinosa, uji adanitol, uji rafinosa, uji salisin, dan uji arginin.

- Pengisian Microbact

Microbact yang telah disiapkan kemudian ditarik seal penutupnya dan larutan bakteri sebanyak 4 tetes diteteskan pada setiap sumur microbact. Pada sumur lysine, omithin, H₂S pada MB 12A dan sumur arginin pada MB-12B ditetesi dengan mineral oil sebanyak 1-2 tetes, setelah itu seal ditutup kembali dan microbact diinkubasi selama 12-18 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator.

- Pembacaan Microbact

Microbact diambil dari incubator kemudian ditarik seal penutupnya dan ditambahkan dengan reagent pada:

- Sumur nomor 8 dengan indol kovact, 2 tetes
- Sumur nomor 10 dengan VP 1 (larutan 40% KOH) dan VP II (larutan 40% Alpha;Napthol) masing-masing 1 tetes.
- Sumur nomor 12 dengan TDA 1 tetes.

- Evaluasi Hasil

Dari sumur-sumur microbact dilihat apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan table warna kunci. Angka-angka oktal didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktal). Spesies bakteri dapat dilihat pada program computer berdasarkan angka-angka oktal. Sebagai perbandingan dicocokkan sifat-sifatnya berdasarkan *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. Langkah-langkah uji biokimia dengan *Microbact Identification Kits* dapat dilihat pada Lampiran 6.2.2

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kondisi Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo

Lingkungan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Adapun kondisi lingkungan dari lumpur Lapindo Sidoarjo adalah sebagai berikut:

Tabel 4. Kondisi Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo

JENIS SAMPEL	PARAMETER UJI LINGKUNGGAN		
	Suhu	Salinitas	pH
Air Lapindo	45°C ± 0,288675135	30 ppt	7,8± 0,125830574
Sedimen Lapindo	48°C± 0,204124145	-	7,5± 0,090061707

Berdasarkan hasil penelitian dalam pengukuran dengan parameter yang meliputi pengukuran suhu, pH, dan salinitas diperoleh rata-rata data pada tiap sampel. Pada sampel air Lapindo memiliki suhu 45°C ± 0,288675135 yang didapatkan dari data suhu 45°C, 45°C, 45,2°C, 45,7°C, 45°C; dan pH 7,8 ± 0,125830574 yang didapatkan dari data pH 7,8; 7,6; 7,8; 7,9; 7,9, serta salinitas sebesar 30 ppt. Sedangkan pada sampel sedimen Lapindo memiliki suhu 48°C ± 0,204124145 yang didapatkan dari data suhu 48°C, 48°C, 47,8°C, 48°C, 47,8°C; dan pH 7,5 ± 0,090061707 yang didapatkan dari data pH 7,6; 7,4; 7,5; 7,6; 7,6.

Pada suhu sampel air Lapindo sebesar 45°C dan suhu pada sampel sedimen lumpur Lapindo sebesar 48°C, hal tersebut dapat dikarenakan semburan lumpur Lapindo yang keluar dari perut bumi. Berdasarkan Koesoemadinata (2006), Banyak para ahli geologi yang menganalogikan semburan lumpur panas Lapindo dengan gejala alam yang disebut gunung lumpur / *mud volcano* yang banyak tersebar di Indonesia (khususnya di Indonesia Timur dikenal dengan istilah *poton*), bahkan di Jawa Timur Utara pun banyak diketemukan, seperti Bleduk Kuwu dekat Purwodadi, Gunung Anyar dekat Surabaya bahkan di selatan Kali Porong, yang di masa lalu menyemburkan lumpur tetapi sekarang sudah mati. Dan definisi dari *Mud*

Volcano adalah suatu gunung api lumpur yang berbentuk suatu kerucut tanah liat dan lumpur berukuran kecil, yang pada umumnya kurang dari 1-2 m tingginya. Gunung api lumpur kecil ini terbentuk dari campuran air panas dan sedimen halus (tanah liat dan lumpur) dimana terdapat (1) aliran perlahan dari suatu lubang seperti suatu arus lahar cair; atau (2) menyembur ke udara seperti suatu air mancur lahar yang melepaskan air mendidih dan gas vulkanis. Tanah liat dan lumpur yang secara khas berasal dari gas batuan vulkanik padat dan panas yang terlepas dari magma yang dalam di bawah memutar air bawah tanah menjadi suatu campuran panas dan asam yang secara kimiawi merubah batuan vulkanik menjadi fraksi lumpur dan tanah liat.

Pada salinitas air Lapindo sebesar 30 ppt atau 30.000 ppm, sehingga air Lapindo dikategorikan dalam air payau dengan keasinan yang tinggi yang didapatkan dari perhitungan dengan ppt (*part per thousand*) = $1/1000 = 10^{-3}$, sedangkan untuk ppm (*part per million*) = $1/1.000.000 = 10^{-6}$, sehingga 1 ppm = 0,001 ppt. Kandungan salinitas yang tinggi diduga dari sumber material yang keluar dari luapan lumpur Lapindo berasal dari campuran air yang memiliki kadar salinitas tinggi (air laut). Menurut Satrio *et al.*, (2012), yang menyatakan bahwa adanya kontribusi dari air tanah atau air laut terhadap air yang keluar dari pusat semburan lumpur Lapindo. Sedangkan pada sampel sedimen padat Lapindo tidak terdeteksi adanya salinitas dikarenakan sampel yang berbentuk padatan. Berdasarkan SIEJ (2013), Keasinan atau salinitas sumber air berdasarkan kandungan garam yang dihitung dengan ppm atau part per million. Berdasarkan parameter tersebut maka air tawar memiliki kurang dari 1.000 ppm, air tawar sedikit payau antara 1.000 ppm hingga 3.000 ppm. Air payau biasa 3.000 ppm hingga 10.000 ppm. Air payau dengan keasinan tinggi mempunyai kadar garam 10.000 ppm hingga 35.000 ppm. Sedangkan salinitas air laut diatas 35.000 ppm. Berdasarkan SNI tahun 2002, tentang penyusunan neraca sumberdaya, Bagian

1: Sumber daya air spasial menjelaskan bahwa salinitas air laut berkisar antara 35 ppt.

Pada pH baik sampel air lumpur maupun sedimen padat Lapindo dapat dikategorikan basa, karena memiliki pH lebih dari 7. Menurut Dennifa (2008), Skala pH (*power of hydrogen*) berkisar dari 0 sampai 14. Nilai 7 menunjukkan suatu zat bersifat netral (tidak asam-tidak basa). Suatu asam memiliki nilai pH yang lebih kecil dari 7. Semakin nilai pH mendekati angka 0, maka tingkat keasamannya semakin kuat, sedangkan jika nilai pH suatu zat mendekati 7, maka tingkat keasamannya semakin lemah (berkurang). Senyawa basa memiliki nilai pH yang lebih besar dari 7. Semakin nilai pH mendekati nilai 14, tingkat kebasaannya semakin kuat. Kemudian dapat disimpulkan bahwa sampel air maupun sedimen termasuk kedalam kategori pH yang tinggi ini hal tersebut dikarenakan berhubungan dengan kadar salinitas yang tinggi. Berdasarkan Brotowidjoyo *et al.*, (1995), pH air laut umumnya berkisar antara 7.6 – 8.3, dan ditambahkan oleh Rindayani (2013), pH ini sudah disesuaikan dengan pH air payau yang berkisar antara 6,5 hingga 8.

Tabel 5. Kadar Logam Berat di Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo

Jenis Logam Berat	Jenis Sampel (ppm)		SK Gubernur Jawa Timur NO.45 Tahun 2002	INDONESIA* (ppm)	W.H.O* (ppm)	TUT**
	Air Lapindo	Sedimen Lapindo	ppm (mg/L)	Maks. Diperbolehkan	Maks. diperbolehkan	Air (ppm)
Pb	0,69	2,69	3	0,01	0,1	0,04
Hg	0,23	0,59	0,01	0,001	-	-
Cu	0,07	0,27	5	1,0	1,5	0,0
Fe	0,76	6,48	20	1,0	1,0	0,52
Zn	0,03	0,49	20	15	15	0,36
Cr	0,02	0,06	2	0,05	0,05	0,03
Cd	-	0,03	1	0,01	-	0,01
Ni	1,02	3,39	1	Tidak ada	Tidak ada	0,02
Mn	39,16	528	10	0,5	0,5	0,56
Au	0,42	2,12	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada

(*) Sumber: Suriawiria (2003) dengan judul “Kandungan Kimia di Dalam Air yang Diperkenankan”.

(**) Toyohasi University of Technology (2012), Inoue M. and Matsumoto Y.

Berdasarkan data hasil penelitian kadar logam berat yang terkandung di air maupun sedimen lumpur Lapindo tidaklah sama. Hal tersebut dibuktikan dengan pengujian kadar logam berat dengan menggunakan AAS dan spektrofotometri dengan menggunakan 10 uji logam berat dikarenakan logam-logam tersebut umum terdapat di lingkungan. Adapun logam-logam berat yang diujikan adalah logam Pb, Hg, Cu, Fe, Zn, Cr, Cd, Ni, Mn, dan Au. Pengujian logam berat tersebut ditujukan sebagai informasi dasar yang dapat digunakan untuk mengetahui konsentrasi logam berat yang kemungkinan akan diabsorbir oleh biota air, khususnya ikan sehingga dapat mengurangi kualitas dari ikan tersebut.

Pada sampel air Lapindo logam Pb yang terkandung sebesar 0,69 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 2,69 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Hg yang terkandung sebesar 0,23 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 0,59 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Cu yang terkandung sebesar 0,07 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 0,27 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Fe yang terkandung sebesar 0,76 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 6,48 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Zn yang terkandung sebesar 0,03 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 0,49 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Cr yang terkandung sebesar 0,02 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 0,06 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Cd tidak terdapat kadar logam Cd, sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 0,03 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Ni yang terkandung sebesar 1,02 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 3,39 ppm. Pada sampel air

Lapindo logam Mn yang terkandung sebesar 39,16 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 528 ppm. Pada sampel air Lapindo logam Au yang terkandung sebesar 0,42 ppm sedangkan pada sampel sedimen Lapindo sebesar 2,12 ppm.

Sehingga diperoleh hasil bahwa kandungan logam berat yang terkandung di sampel air dan sedimen rata-rata paling banyak dikandung oleh sampel sedimen Lapindo. Hal tersebut dikarenakan logam berat terakumulasi di sedimen lumpur Lapindo yang memadat, sedangkan pada sampel air lumpur Lapindo logam berat tersuspensi atau terlarut diseluruh aliran air lumpur Lapindo sehingga logam berat tersebut menyebar ke seluruh wilayah aliran lumpur. Selain itu kandungan logam berat yang tinggi pada sampel sedimen dikarenakan tingginya pH yang dapat menyebabkan logam berat tersebut mengendap. Berdasarkan Verloo (1993), pH larutan tanah akan berpengaruh langsung terhadap kelarutan unsur logam berat. Walaupun peningkatan pH tanah akan menyebabkan logam berat mengendap, tetapi yang lebih penting yaitu pengaruh secara tidak langsung melalui pengaruhnya dalam kapasitas pertukaran kation, dan ditambahkan oleh Sutamihardja *et al.*, (1982), Hal tersebut berkaitan dengan sifat – sifat logam berat yaitu :

1. Sulit didegradasi, sehingga mudah terakumulasi dalam lingkungan perairan dan keberadaannya secara alami sulit terurai (dihilangkan);
2. Dapat terakumulasi dalam organisme termasuk kerang dan ikan, dan akan membahayakan kesehatan manusia yang mengkonsumsi organisme tersebut;
3. Mudah terakumulasi di sedimen, sehingga konsentrasinya selalu lebih tinggi dari konsentrasi logam dalam air. Di samping itu sedimen mudah tersuspensi karena pergerakan masa air yang akan melarutkan kembali logam yang dikandungnya ke dalam air, sehingga sedimen menjadi sumber pencemar potensial dalam skala waktu tertentu.

Sedangkan secara keseluruhan kadar logam berat tertinggi adalah logam Mn dengan hasil 39,16 ppm pada sampel air Lapindo dan 528 ppm pada sampel sedimen Lapindo. Kemudian kadar logam berat terendah adalah logam Cd dengan hasil “—” pada sampel air Lapindo dan 0,03 ppm pada sampel sedimen Lapindo. Rendahnya kadar logam Cd dikarenakan sifat dari logam Cd (Cadmium) yang tidak larut dalam basa sehingga logam Cd tidak dapat larut pada sampel air maupun sedimen lumpur Lapindo. Berdasarkan Awaludin *et al.*, (2010), sifat logam Cadmium (Cd) terdiri atas sifat fisik dan sifat kimia. Adapun sifat-sifat fisiknya adalah logam berwarna putih keperakan, mengkilat, lunak/mudah ditempa dan ditarik, dan titik lebur rendah, sedangkan sifat kimianya adalah Cd tidak larut dalam basa, larut dalam H₂SO₄ encer dan HCl encer $Cd + H_2SO_4 \rightarrow CdSO_4 + H_2$, Cd tidak menunjukkan sifat amfoter, Bereaksi dengan halogen dan non logam seperti S, Se, P, Cd adalah logam yang cukup aktif, Dalam udara terbuka, jika dipanaskan akan membentuk asap coklat CdO, memiliki ketahanan korosi yang tinggi, CdI₂ larut dalam alkohol.

Sedangkan Tingginya kandungan Mangan (Mn) dikarenakan logam Mangan merupakan kandungan yang paling banyak terdapat di laut, selain itu logam Mangan mampu stabil di suhu yang tinggi. Berdasarkan (Redaksi *chemistry.org* tahun 2008), Penemuan sejumlah besar senyawa mangan di dasar lautan merupakan sumber mangan dengan kandungan 24%, bersamaan dengan unsur lainnya dengan kandungan yang lebih sedikit. Logam mangan bersifat ferromagnetik setelah diberi perlakuan. Logam murninya terdapat sebagai bentuk alotropik dengan empat jenis. Salah satunya, jenis alfa, stabil pada suhu luar biasa tinggi; sedangkan mangan jenis gamma, yang berubah menjadi alfa pada suhu tinggi, dikatakan fleksibel, mudah dipotong dan ditempa.

Apabila dibandingkan dengan SK Gubernur Jawa Timur NO. 45 Tahun 2002 Tentang Baku Mutu Limbah Cair Bagi Industri atau Kegiatan Usaha

Lainnya di Jawa Timur, maka kandungan logam berat yang terkandung di dalam air dan sedimen lumpur Lapindo yang memenuhi standar aman logam berat di lingkungan adalah logam Fe, Cu, Zn, Cr, dan Cd. Namun, pada logam berat Mn, Hg, Pb, dan Ni melebihi standar batas aman logam berat di lingkungan.

Sedangkan apabila dibandingkan dengan standar kandungan kimia di air secara Nasional (Indonesia) dan W.H.O diperoleh hasil bahwa logam berat yang terkandung di air lumpur Lapindo yang memenuhi standar aman logam berat di lingkungan air yaitu logam Fe, Cu, Zn, Cr, dan Cd. Namun, pada logam berat Pb, Hg, dan Mn melebihi standar aman kandungan logam berat yang diperbolehkan di air.

4.2 Morfologi Koloni dan Sel Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo

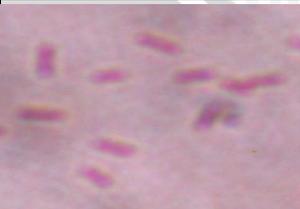
Tabel 6. Morfologi Koloni Bakteri

KODE ISOLAT	MORFOLOGI KOLONI				FOTO
	BENTUK	WARNA	TEPI	ELEVASI	
A1	Bulat	Putih tipis	Rata	Datar	
S1	Bulat	Kuning keputihan	Rata berlapis	Timbul	

Berdasarkan data hasil penelitian didapatkan bahwa morfologi koloni isolat bakteri A1 memiliki bentuk bulat, berwarna putih tipis dan tepiannya rata dengan elevasi sel datar. Sedangkan morfologi koloni isolat bakteri S1 memiliki bentuk bulat, elevasi sel timbul, berwarna kuning keputihan, dimana warna kuning terdapat pada bagian dalam dan warna putih terdapat pada lapisan luar

bakteri, sehingga tepian sel bakteri terlihat rata berlapis karena terdapat dua lapisan warna.

Tabel 7. Morfologi Sel Bakteri

KODE ISOLAT	MORFOLOGI SEL		FOTO
	GRAM	BENTUK SEL	
A1	NEGATIF	BASIL	
S1	NEGATIF	BASIL	

Berdasarkan data hasil penelitian morfologi sel yang diamati dibawah mikroskop perbesaran 1000x diperoleh hasil bahwa isolat bakteri A1 memiliki ciri sel bakteri berwarna merah setelah dilakukan pengecatan gram sehingga isolat bakteri dikelompokkan kedalam bakteri gram negatif dan saat diamati dibawah mikroskop bakteri A1 memiliki bentuk sel basil atau batang. Sedangkan morfologi sel isolat bakteri S1 memiliki ciri sel bakteri berwarna merah setelah dilakukan pengecatan gram sehingga isolat bakteri juga dikelompokkan kedalam bakteri gram negatif dan saat diamati dibawah mikroskop bakteri S1 memiliki bentuk sel basil atau batang.

4.3 Karakteristik Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo Berdasarkan Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan salah satu uji yang digunakan untuk mengkarakteristikan suatu spesies bakteri yang didasarkan pada produksi enzim yang dimiliki oleh setiap spesies bakteri. Tabel dibawah ini merupakan hasil dari uji biokimia pada isolat A1 dan S1.

Tabel 8. Karakteristik bakteri dominan yang diisolasi dari sampel air dan sedimen lumpur Lapindo Sidoarjo berdasarkan uji biokimia

KODE ISOLAT	KARAKTERISTIK UJI BIOKIMIA						
	TSIA	SIM	UREASE	SITRAT	NITRAT	MR	VP
A1	A/A	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS
	G (+)	NEG					
	H ₂ S (-)	POS					
S1	A/A	NEG	POS	POS	POS	NEG	POS
	G (+)	NEG					
	H ₂ S (-)	POS					

Keterangan:
 NEG = Negatif
 POS = Positif
 G = Gas
 A/A = Asam/Asam

a. Isolat dengan kode A1

Berdasarkan hasil pengujian biokimia pada isolat dengan kode A1 mempunyai sifat biokimia sebagai berikut: pada uji TSIA didapatkan hasil bahwa isolat A1 mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan atau sakarosa dengan asam dan disertai dengan terbentuknya gas yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning didasar "*butt*" dan dilereng "*slant*" pada media TSIA, namun bakteri tidak mampu membentuk gas sulfur atau H₂S yang dihidrolisis dari asam amino karena tidak terbentuk warna hitam pada media. Pada uji SIM didapatkan hasil bahwa isolat A1 tidak mampu memecah asam amino triptofan karena tidak terbentuk cincin merah dipermukaan media SIM, dan isolat A1 tidak mampu membentuk senyawa sulfur karena tidak terbentuk warna hitam pada media SIM, namun terjadi pergerakan atau motilitas pada media yang ditandai dengan adanya perubahan warna dalam media bekas tusukan menjadi keruh. Pada uji

urease didapatkan hasil bahwa isolat A1 mampu menghasilkan enzim urease sehingga terbentuk senyawa amoniak yang ditandai perubahan warna pada media urease menjadi warna pink. Pada uji sitrat didapatkan hasil bahwa isolat A1 mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang ditandai dengan berubahnya warna media dari hijau menjadi biru. Pada uji nitrat didapatkan hasil bahwa isolat A1 mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit yang ditandai dengan terjadinya perubahan kekeruhan pada media *nitrat broth*. Pada uji MR didapatkan hasil bahwa isolat A1 tidak mampu mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam campuran yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media MRVP. Pada uji VP didapatkan hasil bahwa isolat A1 mampu membentuk asetilkarbinol sebagai hasil dari proses metabolisme karbohidrat yang ditandai dengan adanya warna merah pada media MRVP. Adapun gambar hasil uji biokimia isolat A1 dapat dilihat pada Lampiran 12.

b. Isolat dengan kode S1

Berdasarkan hasil pengujian biokimia pada isolat dengan kode S1 mempunyai sifat biokimia sebagai berikut: pada uji TSIA didapatkan hasil bahwa isolat S1 mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan atau sakarosa dengan asam dan disertai dengan terbentuknya gas yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning didasar "*butt*" dan dilereng "*slant*" pada media TSIA, namun bakteri tidak mampu membentuk gas sulfur atau H₂S yang dihidrolisis dari asam amino karena tidak terbentuk warna hitam pada media. Pada uji SIM didapatkan hasil bahwa isolat S1 tidak mampu memecah asam amino triptofan karena tidak terbentuk cincin merah dipermukaan media SIM, dan isolat S1 tidak mampu membentuk senyawa sulfur karena tidak terbentuk warna hitam pada media SIM, namun terjadi pergerakan atau motilitas pada media yang ditandai dengan adanya perubahan warna dalam media bekas tusukan menjadi keruh. Pada uji

urease didapatkan hasil bahwa isolat S1 mampu menghasilkan enzim urease sehingga terbentuk senyawa amoniak yang ditandai perubahan warna pada media urease menjadi warna pink. Pada uji sitrat didapatkan hasil bahwa isolat S1 mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang ditandai dengan berubahnya warna media dari hijau menjadi biru. Pada uji nitrat didapatkan hasil bahwa isolat S1 mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit yang ditandai dengan terjadinya perubahan kekeruhan pada media *nitrat broth*. Pada uji MR didapatkan hasil bahwa isolat S1 tidak mampu mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam campuran yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media MRVP. Pada uji VP didapatkan hasil bahwa isolat S1 mampu membentuk asetilkarbinol sebagai hasil dari proses metabolisme karbohidrat yang ditandai dengan adanya warna merah pada media MRVP. Adapun gambar hasil uji biokimia isolat S1 dapat dilihat pada Lampiran 12.

4.4 Karakteristik Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo Berdasarkan *Microbact Identification Kits*

Pengujian dengan menggunakan *microbact identification kits* ini bertujuan untuk mendukung hasil pengujian biokimia secara manual. Berdasarkan penelitian diperoleh hasil yang berbeda pada kedua isolat bakteri lumpur Lapindo (A1 dan S1).

a. Isolat dengan kode A1

Berdasarkan penelitian diperoleh hasil uji biokimia dengan menggunakan *microbact identification kits* dengan 1 set GNB 24E atau GNB 12A/B/E karena diketahui bahwa isolat A1 merupakan bakteri gram negatif. Pada isolat A1 hanya menggunakan *microbact* GNB 12A/E saja dikarenakan pada saat dilakukan uji oksidase menunjukkan hasil negatif (tidak terjadi perubahan warna). Pengujian

dengan GNB 12A/E meliputi: uji lysine, uji ornithine, uji H₂S, uji glukosa, uji mannitol, uji xylose, uji ONPG, uji indol, uji urease, uji VP, uji sitrat, uji TDA.

Pada isolat A1 diperoleh hasil yaitu: uji lysine (+), uji ornithine (+), uji H₂S (-), uji glukosa (+), uji mannitol (+), uji xylose (+), uji ONPG (+), uji indol (-), uji urease (+), uji VP (+), uji sitrat (+), uji TDA (-). Adapun gambar hasil uji biokimia dengan menggunakan *microbact identification kits* isolat A1 dapat dilihat pada Lampiran 13.

b. Isolat dengan kode S1

Berdasarkan penelitian diperoleh hasil uji biokimia dengan menggunakan *microbact identification kits* dengan 1 set GNB 24E atau GNB 12A/B/E karena diketahui bahwa isolat S1 merupakan bakteri gram negatif. Pada isolat S1 hanya menggunakan *microbact* GNB 12A/E saja dikarenakan pada saat dilakukan uji oksidase menunjukkan hasil negatif (tidak terjadi perubahan warna). Pengujian dengan GNB 12A/E meliputi: uji lysine, uji ornithine, uji H₂S, uji glukosa, uji mannitol, uji xylose, uji ONPG, uji indol, uji urease, uji VP, uji sitrat, uji TDA.

Pada isolat S1 diperoleh hasil yaitu: uji lysine (-), uji ornithine (-), uji H₂S (-), uji glukosa (+), uji mannitol (+), uji xylose (+), uji ONPG (-), uji indol (-), uji urease (-), uji VP (-), uji sitrat (-), uji TDA (-). Adapun gambar hasil uji biokimia dengan menggunakan *microbact identification kits* isolat S1 dapat dilihat pada Lampiran 13.

4.5 Pendugaan Jenis Bakteri Dominan Lumpur Lapindo Sidoarjo

Pendugaan jenis bakteri dominan lumpur Lapindo Sidoarjo dilakukan dengan menggunakan uji biokimia (*Microbact Identification Kits*) yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) kemudian dibandingkan dengan uji 16S rDNA berdasarkan penelitian Prof.Ir.Sukoso M,Sc Ph,D untuk mengetahui jenis bakteri secara pasti.

Tabel 9. Hasil Pendugaan Isolat Bakteri A1 dan S1

KODE ISOLAT	UJI BIKIMIA (<i>Microbact Identification Kits</i>)	UJI 16S rDNA*
A1	<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Marinobacter lutaoensis</i>
S1	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	<i>Marinobacter hydrocarbonoclasticus</i>

(*) Berdasarkan penelitian Prof.Ir.Sukoso M.Sc Ph.D

Pada hasil penelitian menggunakan uji biokimia (*Microbact Identification Kits*) yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) diperoleh hasil bahwa diduga bakteri dengan kode isolat A1 memiliki jenis spesies *Enterobacter gergoviae* dengan ketepatan 88,58% dan dibandingkan dengan hasil penelitian uji 16S rDNA diperoleh jenis spesies pada isolat A1 adalah *Marinobacter lutaoensis*. Sedangkan, pada isolat bakteri dengan kode S1 dengan menggunakan uji biokimia (*Microbact Identification Kits*) yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) diperoleh hasil bahwa diduga spesies bakteri tersebut ialah *Klebsiella rhinoscleromatis* dengan ketepatan 88,67% dan bila dibandingkan dengan hasil penelitian uji 16S rDNA diperoleh hasil spesies isolat bakteri tersebut adalah *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*.

Marinobacter lutaoensis merupakan sebuah bakteri laut heterotrofik dan tahan panas, dengan strain T5054 yang diisolasi dari sumber air panas di pantai Lutao, Taiwan. *M. Lutaoensis* sangat aerobik, gram negatif, tidak membentuk spora dan motil dengan menggunakan satu sampai beberapa flagel. Stain T5054 memerlukan Na⁺ untuk pertumbuhannya dan optimal pada suhu sekitar 45°C, pH 7 dan 3-5% NaCl. Strain tersebut berisi iso C-15:0 sebagai asam lemak yang paling berlimpah dan *ubiquinone-8* sebagai satu-satunya kuinon isoprenoid. *Marinobacter lutaoensis* tidak memerlukan vitamin atau faktor pertumbuhan organik lainnya, dan dapat tumbuh pada glukosa, manitol, dan berbagai asam organik dan asam amino sebagai sumber koarbon tunggal. Berdasarkan hasil

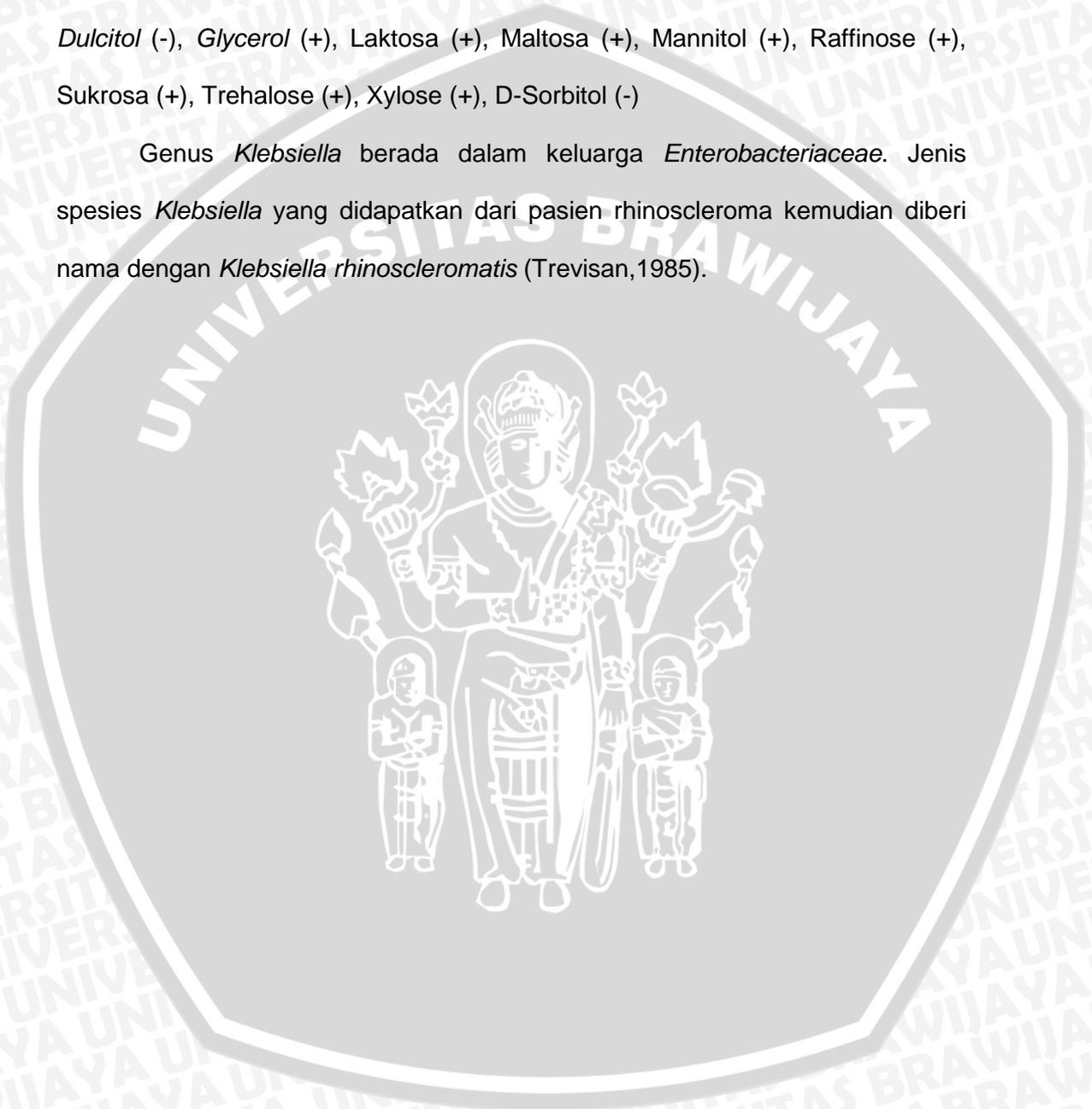
analisis filogenetik rDNA 16S, menunjukkan bahwa strain T5054 dapat diklasifikasikan sebagai spesies baru dalam genus *Marinobacter*. Nama *Marinobacter lutaoensis* sp. Diusulkan sebagai bakteri baru pada bulan November (Shieh *et al.*,2003).

Marinobacter hydrocarbonoclasticus SP17 berbentuk biofilm khusus yang terdapat dipermukaan antara air dan senyawa hidrofobik (HOCS) yang digunakan sebagai sumber karbon dan energi, pembentukan biofilm pada permukaan HOC air telah diakui sebagai strategi untuk mengatasi rendahnya ketersediaan substrat ini yang hampir tidak larut air, yang dapat menimbulkan peningkatan mekanisme asimilasi HOCS melalui pembentukan biofilm. Senyawa organik hidrofobik (HOCS) meliputi, lemak, hidrokarbon serta beberapa polutan organik tersebar luas dilingkungan tetapi lemah larut dalam air dan dapat menimbulkan terjadinya asimilasi oleh bakteri heterotrofik. Pembentukan biofilm pada antar permukaan air (HOC) merupakan strategi yang digunakan oleh *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SP 17 (ATCC 49840) untuk mengatasi bioavailabilitas rendah HOCS. SP17 diisolasi dari sedimen kronis yang terkontaminasi minyak karena kemampuannya untuk menggunakan alkana sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* adalah gram negatif, bersifat aerobik, motil, tidak membentuk spora dan bakteri berbentuk batang ini menunjukkan sifat halotoleran yang ekstrim (0,08-3,5 M NaCl) dan mensintesis *ectoine* sebagai *osmoprotectan* (Grimaud *et.al.*,2012).

Pada family *Enterobacteriaceae* genus *Enterobacter* merupakan *lactose fermenters*, memiliki sifat-sifat sebagai bakteri bentuk batang gram negatif, motil, agak mukoid, dan aktifitas fermentasi lebih terbatas dibandingkan dengan *Klebsiella* (Alimsardjono,2012). Bakteri *Enterobacter gergoviae* 57-7 adalah bakteri endofit oportunistik karena ia dapat hidup ditanah (An *et al.*,2007)

Berdasarkan Naresh *et.al.*, (2013), Hasil fisiologi dan biokimia bakteri *Enterobacter gergoviae* adalah Gram negatif, morfologi sel (batang pendek), Motility (+), tidak terpigmentasi, tidak berspora, urease (+), indol (-), MR (-), VP (+), Gelatin (-), *phenyl alanine deaminase* (+), *L-Arabinose* (+), *Cellobiose* (+), *Dulcitol* (-), *Glycerol* (+), Laktosa (+), Maltosa (+), Mannitol (+), Raffinose (+), Sukrosa (+), Trehalose (+), Xylose (+), D-Sorbitol (-)

Genus *Klebsiella* berada dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. Jenis spesies *Klebsiella* yang didapatkan dari pasien rhinoscleroma kemudian diberi nama dengan *Klebsiella rhinoscleromatis* (Trevisan, 1985).



5. PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian tentang Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Isolat A1 dan S1 dari Air Lumpur dan Sedimen Padat Lapindo, Sidoarjo dapat disimpulkan bahwa:

- Isolat A1 dan S1 termasuk kedalam kelompok bakteri termofilik karena mampu tumbuh pada suhu lebih dari 45°C dan diketahui memiliki enzim termostabil yang tidak mudah terdenaturasi pada suhu tinggi, yang dapat dimanfaatkan dalam pengolahan produk perikanan, misalnya dalam pembuatan kitin dan kitosan.
- Pada Isolat A1 diketahui jenis spesies bakteri dengan nama *Marinobacter lutaensis* yang diperoleh berdasarkan hasil uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso M.Sc, Ph.D dan memiliki sifat biokimia serupa dengan *Enterobacter gergoviae* dengan ketepatan 88,58% yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) serta memiliki morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna putih tipis, memiliki tepi yang rata dan berelevasi datar, lalu morfologi sel nya berbentuk basil dan gram negatif, mampu hidup pada kondisi lingkungan lumpur Lapindo Sidoarjo yang memiliki suhu 45°C; pH 7,8 memiliki kadar salinitas sebesar 30 ppt atau dikategorikan dalam air payau dengan keasinan yang tinggi, dan beberapa kandungan logam berat yaitu Pb, Hg, Cu, Fe, Zn, Cr, Cd, Ni, Mn, Au dengan kadar tertinggi adalah logam Mn, sebesar 39,16 ppm dan tidak ditemukan kandungan logam Cd atau nihil.
- Pada isolat S1 diketahui jenis spesies bakteri dengan nama *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* yang diperoleh berdasarkan hasil uji 16S rDNA yang dilakukan oleh Prof. Ir. Sukoso M.Sc, Ph.D dan memiliki sifat biokimia serupa

dengan *Klebsiella rhinoscleromatis* dengan ketepatan 88,67% yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (*Bergey's Manual Determinative Bacteriology*) serta memiliki morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna kuning keputihan, memiliki tepi yang rata berlapis dan berelevasi timbul, lalu morfologi sel nya berbentuk basil dan gram negatif, mampu hidup pada kondisi lingkungan lumpur Lapindo Sidoarjo yang memiliki suhu 48°C; pH 7,5 dan beberapa kandungan logam berat yaitu Pb, Hg, Cu, Fe, Zn, Cr, Cd, Ni, Mn, Au dengan kadar tertinggi adalah logam Mn sebesar 528 ppm, dan terendah adalah kandungan logam Cd sebesar 0,03 ppm.

5.2 SARAN

Saran yang dapat diberikan dari penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik bakteri dengan lebih terperinci sehingga informasi yang didapat lebih lengkap dan dapat dilakukan penanganan ataupun pemanfaatan mengenai jenis bakteri tersebut khususnya dibidang pengolahan produk perikanan yang menggunakan suhu tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alimasardjono, Lindawati. 2012. "*Enterobacteriaceae*". Surabaya
- Am.Geol.Inst (*American Geological Institute*). 1976. "*Dictionary of Geological Terms. Revised Edition Anchor Books*". New York. VIII + 472 h.
- An, Q; Dong Y; Wang W; Li Y; Li J. 2007. "*Constitutive Expression of The nifA Gene Activates Associative Nitrogen Fixation of Enterobactergergovieae 57-7, an Opportunistic Endophytic Diazotroph*". Key Laboratory of Photosynthesis and Environmental Molecular Physiology, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China
- Apriani, Ratih Suci dan Putu Wesen. 2013. "*Penurunan Salinitas Air Payau dengan Menggunakan Resin Penukar Ion*". Prodi Teknik Lingkungan. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan. Universitas Pembangunan Nasional. Surabaya
- Arief H. 1975. Papain. *Bulletin Biokimia* (1). Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Asnawi, Hafid, "Keanekaragaman Bakteri Termofilik yang Terdapat Dalam Sumber Mata Air Panas di Taman Wisata Padusan Pacet, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur", Jurusan Biologi FMIPA, UM, (2006).
- Brock, TD. 1978. *Thermophilic Microorganisms and Life at High Temperature*. Springer-Verlag, New York.
- Brock, TD. 1986. *Thermophiles: Geomicrobiology, Molecular and Applied Microbiology*. John Wiley and Sons, New York.
- Brotowijoyo, M. D., Dj. Tribawono., E. Mulbyantoro. 1995. *Pengantar Lingkungan Perairan dan Budidaya Air*. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Brown, A. 2001. "*Benson: Microbiological Application Lab Manual. 8th Ed.*". The McGraw-Hill Companies. New York
- Cahyadi, Alius; dan Venty. 2007. "*Bakteriologi*". Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Atma Jaya/Rumah Sakit Atma Jaya, Jakarta dan Dokter Umum di Jakarta. Jakarta
- Cappucino, JG and Sherman, N. 1983. "*Microbiology: A Laboratory Manual*". The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California
- Chem-is-try. 2008. Mangan. Situs Kimia Indonesia. Redaksi chem.-is-try.org diakses pada tanggal 15 Desember 2013 pukul 09.00 WIB.
- Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., and Eaton, A. D., 1998, *Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater*, 20th Edition, American Public Association, American Water Works Association, Water Environment Federation

- Colwell, Rita R; and Michael S. Zambruski. 1972. "Methods In Aquatic Microbiology". Butterworths. London
- Cooper, P.F; D.A Hobson and Susan Jones. 1990. "Sewage Treatment by Reed Bed System". J. IWEM. 1989.3
- Darmono. 2001. "Lingkungan Hidup dan Pencemaran (Hubungannya dengan Toksikologi Senyawa Logam)". UI-Press. Jakarta
- Davies, Richard J. 2007. "Birth of Mud Vulcano: East Java 29 May 2006" dalam GSA TODAY (Vol. 17) No. 2, February 2007
- Dennifa. 2008. "Angka Asam dan Basa". Universitas Islam Negeri (UIN). Malang. Malang
- Dewi, Marina Iche. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun Sumatera Utara. Universitas Sumatera Utara. Medan
- DR 2800 Spectrophotometer. 2007. Procedure Manual June 2007 Edition 2. Hach Company. Germany
- Duncan, F. 2005. "MCB 1000L Applied Microbiology Laboratory Manual 4th Ed.". The McGraw-Hill Companies. New York
- Duxbury, A.C; and Alison, B. Duxbury. 1991. "An Introduction to The World's Oceans 3rd Edition". Wm C Brown. Dubuque
- Dwidjoseputro. 2005. "Dasar-Dasar Mikrobiologi". Djambatan. Jakarta
- Ebookpangan.2006. Khitin – Khitosan, Produksi dan Pemanfaatannya. www.ebookpangan.com. Diakses pada tanggal 20 Desember 2013, pukul 09.00 WIB
- Edward, C. 1990. Thermophiles. dalam Microbiology of Extreme Environments. Edwards, C.(ed). Alden Press. Oxford.
- Fardiaz, S. 1988 "Petunjuk Laboratorium Analisis Mikrobiologi Pangan". Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ferraris, R. P; F.D.P. Estepa; J.M. Ladja and E.G. De Jesus. 1986. "Effect of Salinity on The Osmotic, Chloride, Total Protein and Calcium Concentration in the Hemolymph of The Prawn. *Penaeus monodon Fabricius*". Comp. Biochem. Physiol., 83A (4):701-708
- Gilles, R and P. Pequeux. 1983. "Interactions of Chemical and Osmotic Regulation With The Environment. P:109-177. In F.J. Vernberg and W. B.Vernberg (eds). The Biology of Crustacea, Vol8". Environmental Adaptations. Academic Press. New York. Pp:109-177
- Gooday GW. 1994. Physiology of microbial degradation of chitin and chitosan. In Ratledge C, editor. Biochemistry of Microbial Degradation. Netherlands: Kluwer Academic Publ. p: 279-312.

- Griffiths RI; Whiteley AS; O'donnell AG; Bailey MJ. 2000. "Rapid Method for Coextraction of DNA and RNA from Natural Environments for Analysis of Ribosomal DNA and rRNA-Based Microbial Community Composition". Appl Environ Microbiol 66:5488-5491
- Grimaud, Regis; Jean-Francois Ghiglione; Christine Cagnon; Beatrice Lauga; Pierre-Joseph Vaysse; Arturo Rodriguez-Blanco; Sophie Mangenot; StephaneCruveiller; Valerie Barbe; Robert Duran; Long-Fei Wu; Emmanuel Talla; Patricia Bonin; and ValerieMichotey. 2012. "Genome Sequence of The *Marinobacterhydrocarbonoclasticus* SP17, Which Forms Biofilms on Hydrophobic Organic Compounds". J Bacteriol. 2012 July; 194(13): 3539-3540
- Gross, M.G. 1993."Oceanography.A View of Earth, 6th Edition".Prentice Hall. New Jersey
- Hadioetomo, RS. 1985. "Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium". PenerbitGramedia. Jakarta
- Haliza, Winda dan Maggy Thenawidjaya Suhartono. 2012. Karakteristik Kitinase dari Mikrobia. IPB. Bogor
- Hendarsyah, Deuxianto. 2006. Karakterisasi Kitin Deasetilase Termostabil Isolat Bakteri Asal Pancuran Tujuh, Baturaden, Jawa Tengah. IPB.Bogor
- Herawati, Niniek. 2007. "Analisis Resiko Lingkungan Aliran Air Lumpur Lapindo ke Badan Air (Studi Kasus Sungai Porong dan Sungai Aloo-Kabupaten Sidoarjo)". Program Studi Magister Ilmu Lingkungan, Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro. Semarang
- Hidayat, Nur; Masdiana C. Padaga; dan Sri Suhartini. 2006. "MikrobiologiIndustri". ANDI. Yogyakarta
- Indrajaya, Madayanti F., dan Akhmaloka.2003. Mikroorganisme Termofil Isolat Kawah Wayang Indonesia.. 8, 67-71.
- Irianto, Koes. 2006."Mikrobiologi (Menguak Dunia Mikroorganisme) Jilid. 1".Yrama Widya. Bandung
- Irianto, Koes. 2007. "Mikrobiologi (Menguak Dunia Mikroorganisme) Jilid. 2".Yrama Widya. Bandung
- Jayanti, M.W.; B. Oktavia, dan M. Yazid. 2012. "Karakterisasi Bakteri Toleran Uranium Dalam Limbah Uranium Fase Organik TBP-Kerosin". Prosiding Seminar NasionalTeknologiPengelolaanLimbah IX.Hal. 197-210
- Jung, W.J., G.H. Jo, J.H. Kuk, Y.J. Kim, K.T. Oh and R.D. Park. 2007. Production of chitin from red crab shell waste by successive fermentation with *Lactobacillus paracasei* KCTC-3074 and *Serratia marcescens* FS-3. Journal of Carbohydrate Polymers.68(4): 746-750.
- Kafetzopoulos, D., A. Martinou dan V. Bouriotis.1993. Bioconversion of Chitin and Chitosan : Purification and characterization of chitin Deacetylase from

Mucor rouxii. Proc. Natl. Acad. Sci. (90) : 2564 – 2568. Appl. Biol. Sci. USA

Kholidiyah, Noviana. 2010."Respon Biologis Tumbuhan Eceng Gondok (*Eichorniacrassipes solms*) Sebagai Biomonitoring Pencemaran Logam Berat Cadmium (Cd) dan Plumbum (Pb) pada Sungai Pembuangan Lumpur Lapindo, Kecamatan Porong, Kabupaten Sidoarjo".Universitas Malik Ibrahim. Malang

Koesoemadinata, R, 2006, *Masalah Pembuangan Lumpur Lapindo Brantas ke Laut*, Dongeng Geologi, [www. rovicky. wordpress.com](http://www.rovicky.wordpress.com), akses tanggal 9 Januari 2013 pukul 09.00 WIB.

Kristianingrum, Susila. 2013. Kajian Berbagai Proses Destruksi Sampel dan Efeknya. Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA. UNY.

Lasa I., Berenguer J., "Thermophilic enzymes and their biotechnological potential", *Microbiologia SEM*, 9, (1993), 77-89.

Lay, W. B. 1994. "*AnalisisMikroba di Laboratorium*".Raja Grafindo Perkasa. Jakarta

Lay, W. B. 2004. "*AnalisisMikroba di Laboratorium*".Raja Grafindo Perkasa. Jakarta

Lehninger, 1997. Dasar – Dasar Biokimia. Terjemahan M. T Suhartono. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Liu, Wen-Tso, Marsh TL, Cheng H, Forney LJ. 1997. "*Characterization of Microbial Diversity by Determining Terminal Restriction Fragment Length Polymorphisms of Genes Encoding 16S rRNA*". Appl Environ Microbiol 63:4516-4522

Masyhuri dan Zainuddin. 2008. Metodologi Penelitian: Pendekatan Praktis dan Aplikatif. Bandung: PT. Refika Aditama.

Mazzini, A, Svensen, H, Akhmanov, GG, Aloisi, G, Planke, S, Malthe-Sorensen, A and Istandi, B. 2008."*Triggering and Dynamic Evolution of The LUSI Mud Vulcano, Indonesia*". Earth and Planetary Science Letters 261:375-88

Naresh, Butani; ChelliahPreethi; Shah Sneha; RandiveBhagyashree; Patel Parizad. 2013. "*Microbial Decolorization of Disperse Textile Dye Brown 21 by Enterobacter gergoviae Isolated From Textile Effluent*". International Research Journal of Environment Sciences ISSN 2319-1414 Vol.2 (5), 31-36, May (2013). Departement of Microbiology, BhagwanMahavir College of Biotechnology, Surat-394220, Gujarat. India

Nanda, Manisha; Dinesh Sharma; Arun Kumar. 2011. *Removal of Heavy Metals from Industrial Effluent Using Bacteria*. International Journal of Environmental Science Volume 2, No. 2, 2011. India

Nursiywani; W. Asmara; A.E.T.H. Wahyuni; dan Triyanto. 2011. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

dan Potensinya Sebagai Antivibrio. *Ilmu Kelautan* 2011. Vol. 16 (2) 70-77. *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau Kampus Bina Widya Sp. Panam Program Studi Sain Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada*

Oxoid. 2003. Microbact™ Gram Negative 12A, 12B, 12E & 24E. Oxoid Manual Identification Systems. Diakses pada tanggal 24 November 2013. Pukul 21.30 WIB

Palmer, T. 1985. *Understanding Enzymes*. 2nd Edition. Ellis Horwood Publishers, Chichester.

Pelczar, M.J & E.C.S Chan. 1986. *Penerjemah, Ratna Siri Hadioetomo dkk. Dasar-Dasar Mikrobiologi 1. Universitas Indonesia Press. Jakarta*

Prabaningtyas, S. 2003. *Karakteristik Bakteri Koleksi Laboratorium Mikrobiologi. Chimera Vol. VIII No. 2. Universitas Negeri Malang. Malang*

Purnomo, Bambang. 2008. *Materi Kuliah Mikrobiologi. Faperta UNIB. Bengkulu*

Putra, S.E dan Putra J.A. 2005. *Bioremoval Metode Alternatif Untuk Menanggulangi Pencemaran Logam Berat. www. Che-istry.org*

Radji, Maksum. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi, Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. EGC. Jakarta*

Raihana, Nadia. 2011. *Profil Kultur dan Uji Sensitivitas Bakteri Aerob dari Infeksi Luka Operasi Laparotomi di Bangsal Bedah RSUP DR. M. Djamil Padang. Program Pascasarjana. Universitas Andalas. Padang*

Rahayu, S; Fredy T; Maggy T.S; J.K. Hwang; dan Y.R. Pyun. 1999. *Eksplorasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase Asal Indonesia. Institut Pertanian Bogor. Bogor*

Ramadhan, L.O.A.N; C.L. Radiman; D. Wahyuningrum; V. Suendo; L.O. Ahmad; S. Valiyaveetil. 2010. *Deasetilasi Kitin Secara Bertahap dan Pengaruhnya Terhadap Derajat Deasetilasi serta Massa Molekul Kitosan. Jurnal Kimia Indonesia Vol. 5 (1), 2010, h 17-21*

Ranjard L. Brotheir E, Nazaret S. 2000. *Sequencing Bands of Ribosomal Intergenic Spacer Analysis Fingerprints for Characterization and Microscale Distribution of Soil Bacterium Populations Responding to Mercury Spiking. Appl Environ Microbiol 63:5334-5339*

Rindayani, Nadia. 2013. *Uji Kemampuan Pipa Aluminium dan Tembaga Pada Reaktor Desalinasi Elektrogravitasi Menurunkan Klorida. Jurusan Teknik Lingkungan. ITS. Surabaya.*

Rumajar TP. 2001. *Pendekatan Sistem Untuk Pengembangan Usaha Perikanan Ikan Karang dengan Alat Tangkap Bubu di Perairan Tanjung Manimbaya Kabupaten Donggala Sulawesi Tenggara (Tesis) Hal. 28-36 ". Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor*

- Sale, A.J. 1961. *Laboratory Manual on Fundamental Principle of Bakteriology*. MacGrew-Hill, Inc. Toronto
- Samanta, Amalesh; Paramita Bera; Mahamuda Khatun; Chandrima Sinha; Pinaki Pal; Asif Lalee; Anurup Mandal. 2012. *An Investigation on Heavy Metal Tolerance and Antibiotic Resistance Properties of Bacterial Strain Bacillus sp. Isolated From Municipal Waste*. Jadavpur University. India
- Sanusi, H. S. 2006. *Kimia Laut, Proses Fisik Kimia dan Interaksinya Dengan Lingkungan*. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. 188 hal.
- Satrio, B. Pratikno dan P. Sidauruk. 2012. Studi Asal-Usul Air Lumpur Lapindo Periode 2007-2012 Menggunakan Isotop Alam. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*. Vol. 8 No. 2 Desember 2012. Hal 89-99
- Shieh WY; Jean WD; Lin YT; Tseng M. 2003. *Marinobacterlutaensis sp. nov., a Thermotolerant Marine Bacterium Isolated From a Coastal Hot Spring in Luta, Taiwan*. *Can J Microbiol*. 2003 Apr; 49 (4): 244-52 Institute of Oceanography, National Taiwan University, Taipei
- Sianturi, Dessy Christina. 2008. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar Dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara*. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. Medan
SK Gubernur Jawa Timur NO. 45 Tahun 2002. *Tentang Baku Mutu Limbah Cair Bagi Industri Atau Kegiatan Usaha Lainnya di Jawa Timur*. Jawa Timur
- Society of Indonesian Environmental Journalists (SIEJ) . 2013. *Air Suling Tidak Murah Khas Negeri Arab*. <http://www.siej.or.id/?w=glossary>. Diakses Pada Tanggal 10 November 2013 Pada Pukul 21.00.
- Soeka YS, Sulistiani. *Seleksi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase yang Diisolasi dari Gunung Bromo Jawa Timur*. *Jurnal Natur Indonesia*. 2011; 13(2):155-161.
- Sogaard M, Norgaard M, Schonheyder HC., 2007, *First Notification of Positive Blood Cultures and the High Accuracy of the Gram Stain Report*, *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 54:4, p 1113-1117
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2002. *Penyusunan Neraca Sumber Daya, Bagian 1: Sumber Daya Spasial*. SNI 19-6728.1-2002
- Subowo dkk. 1999. *Logam Berat*. IPB. Bogor
- Suhartono, M.T. 1989. *Enzim Dan Bioteknologi*. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Suriawiria, Unus. 1985. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Angkasa. Bandung
- Suriawiria, Unus. 2003. *Mikrobiologi Air*. PT. Alumni. Bandung
- Surtiningsih, Tini; Dwi Choliah Prisadi; dan Thin Soedarti. 2009. *Biodiversitas Bakteri Pendegradasi Cr (III) Pada Sedimen Limbah Industri Pabrik Kulit Carma Pasuruan*. Universitas Airlangga. Surabaya

- Surya. 2013. Definisi, Prinsip, Kelebihan dan Kekurangan Cawan Gores dan Cawan Tuang. IPB. Bogor
- Sutamihardja, R.t.m, Adnan K . 1982. Perairan Teluk Jakarta Ditinjau dari Tingkat Pencemaran. Fakultas Pascasarjana. Jurusan PSL- IPB. Bogor
- Suyati. 2010. Identifikasi dan Uji Antibiotik Bakteri Gram Negatif pada Sampel Urin penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK). Universitas Negeri Papua. Manokwari
- Tokuyasu, K., M.O. Kameyama dan K. Hayasi, 1996. Purification and Characterization of Extracelular Chitin Deacetylase from *Colletotrichum Lindemuthianum*. J. Biosci. Biotechnol. Biochem., 60 (10): 1598 – 1603.
- Trevisan, V. 1885. Caratteri di alcuni nuovi generi di Batteriaceae. Atti. Accad. Fis.-med-stat. Milano Ser. 4(3):92-106
- Tsigos I, Martinou A, Kafetzopoulos D, Bouriotis V. "Chitin Deacetylase: New, Versatile Tools in Biotechnology". TIBTECH. 2000; 18: 305-311.
- Ulrich de la Camp and Oliver Seely. 2013. Determination of The Content of Steel. Diakses Pada Tanggal 2 Desember 2013 Pada Pukul 22.00.
- Universal Bacterial PCR Fact Sheet*. 2004. 16S rDNA PCR Assay
- USDA. 1996. Soil Quality Resource Concerns: Sediment Deposition on Cropland. USDA Natural Resource Conservation Service, April 1996
- Verloo, M. 1993. *Chemical Aspects of Soil Pollution*. In *ITC-Gen Publications Series 4:17-46*
- Wahyuancol. 2008. Sedimentasi (http://wafayuancol.wordpress.com/category/1-tosfer/sediment). Diakses pada tanggal 2 November 2013. Pukul 09.00 WIB
- Waluyo, Lud. 2005. Mikrobiologi Umum. UMMpress. Malang
- Waluyo, Lud. 2009. Mikrobiologi Lingkungan. UMMpress. Malang
- Ward, F.N; H.M Nakagawa; T.F Harms and G.H. VanSickle 1969. Atomic-Absorption Methods of Analysis Useful in Geochemical Exploration. United States Government Printing Office. Washington
- Widayati, Wiwik Eko; Joko Widada; Joedoro Soedarsono. 2007. Deteksi Molekular Bakteri Endofit pada Jaringan Planlet Tebu Molecular Detection of Endophytic Bacteria on Plantlet Tissue of Sugarcane. HAYATI Journal of Biosciences, December 2007, p 145-149 Vol. 14, No. 4 ISSN: 1978-3019
- Yamasaki, Y., I. Hayashi, Y. Ohta, T. Nakagawa, M. Kawamukai dan H. Matsuda. 1993. Purification and Mode of Action of Chitosanolytic Enzyme from *Enterobacter* sp. G-1. J. Biosci. Biotechnol. Biochem., 57 (3): 444 – 449

Yu Z and Mohn WW. 2001. Bacterial Diversity and Community Structure in An Aerated Lagoon Revealed by Ribosomal DNA Sequencing. *Appl Environ Microbiol* 674:1565-1574

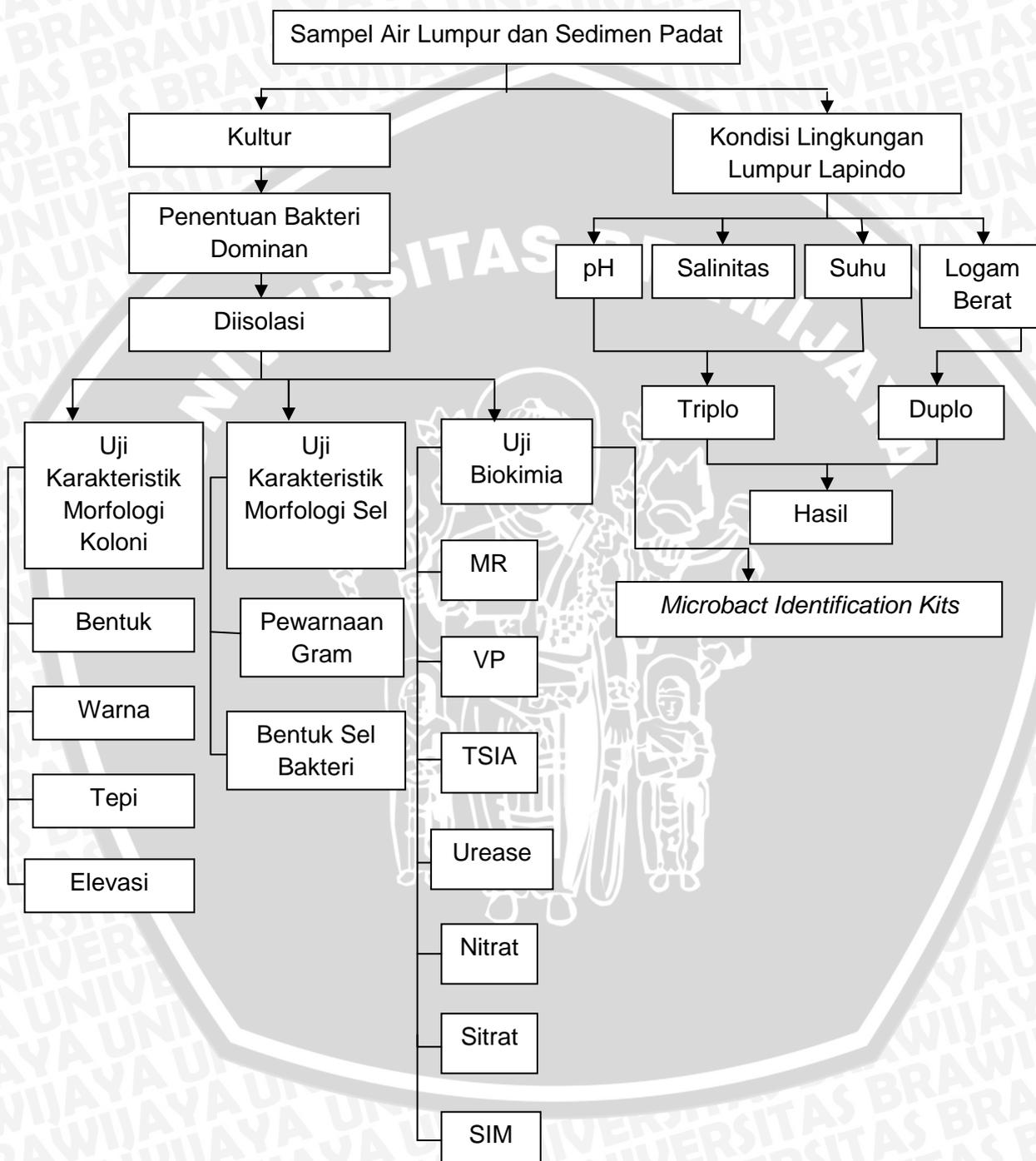
Yumei danYulia.2008. MetodePenelitianSosial (Resume).Diakses padaTanggal 30 November 2013. Pukul 09.00 WIB

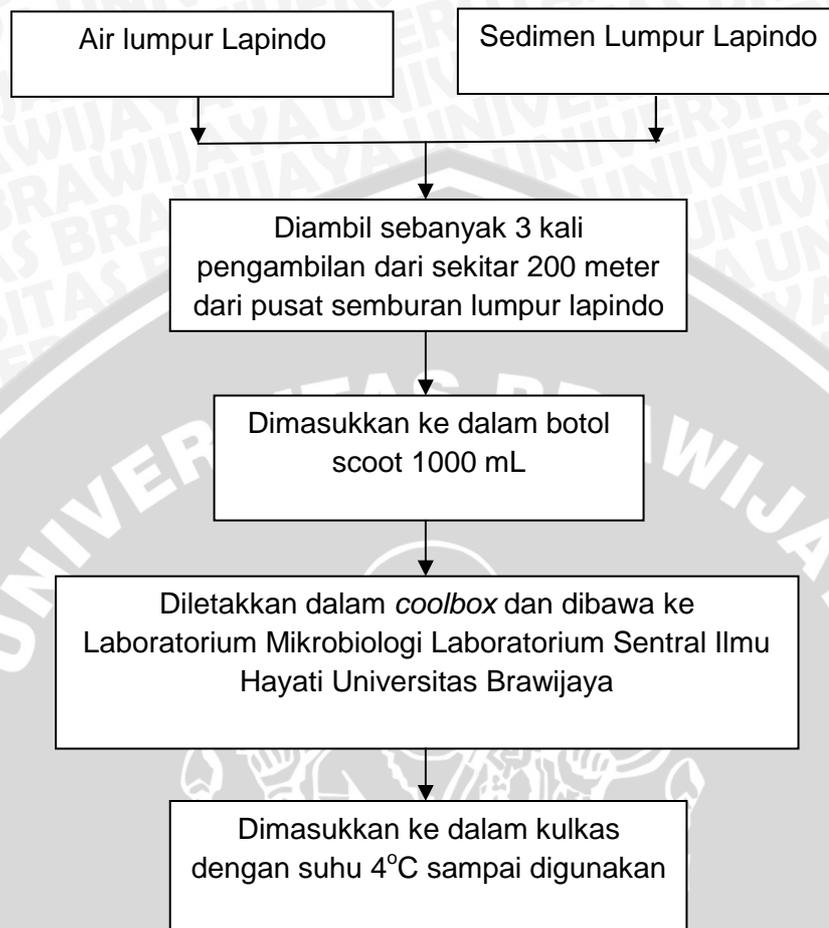
Zajac, Anna Sykula; Monika Turek; Mohit Philip Mathew; Ferenc Patai; Martina Horvat; Joanna ablonska. 2010. Determination of Nickel in Tea by Using Dimethylglyoxime Method. No.1081 *Food Chemistry and Biotechnology*, Vol. 74 2010. Scientific Bulletin of The Technical University of Lodz



LAMPIRAN

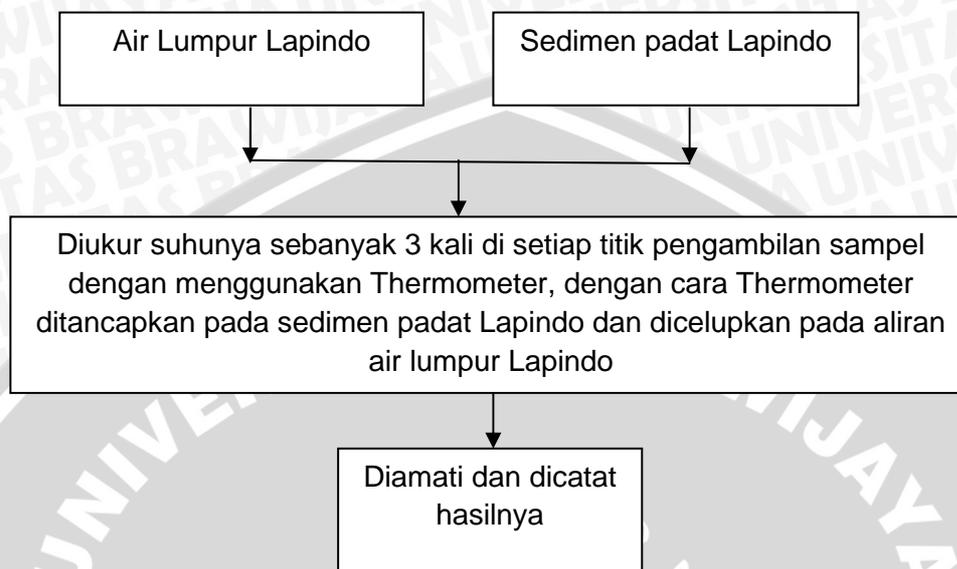
LAMPIRAN 1. Skema Kerja Penelitian



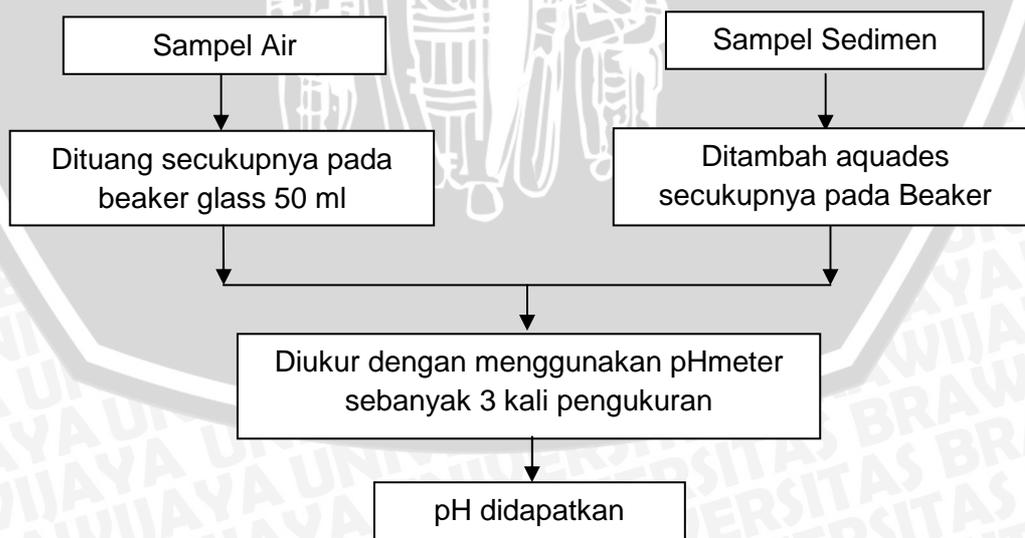
LAMPIRAN 2. Pengambilan Sampel

LAMPIRAN 3. Pengukuran Parameter Fisika dan Kimia Lingkungan

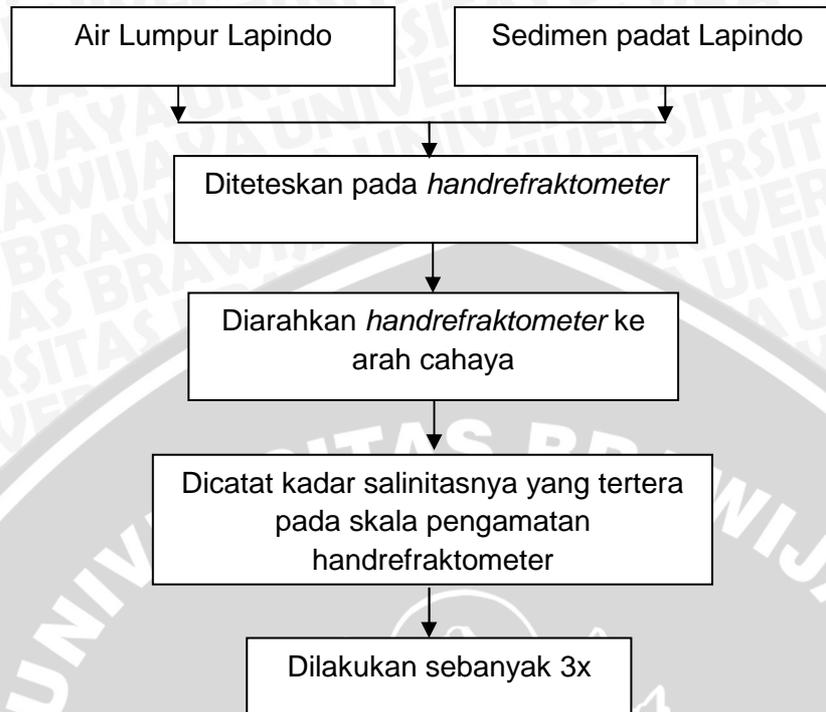
3.1 Pengukuran Suhu



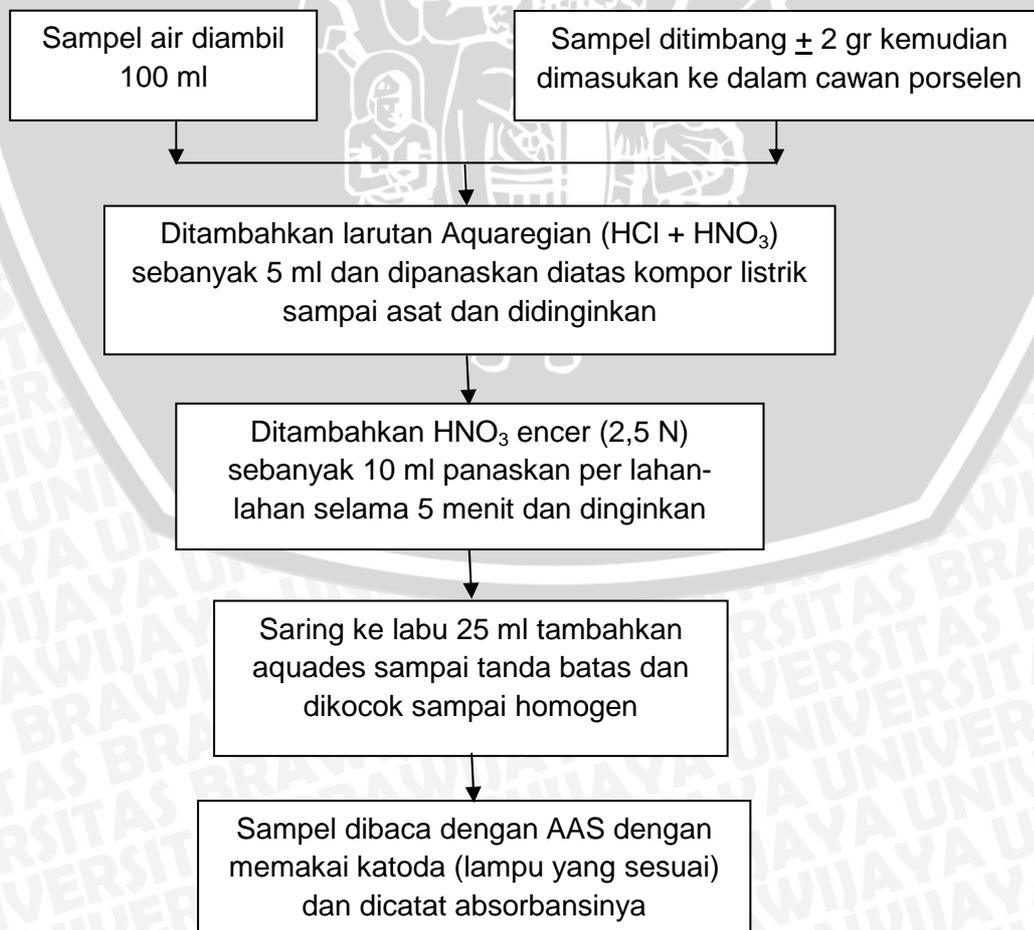
3.2 Pengukuran pH



3.3 Pengukuran Salinitas

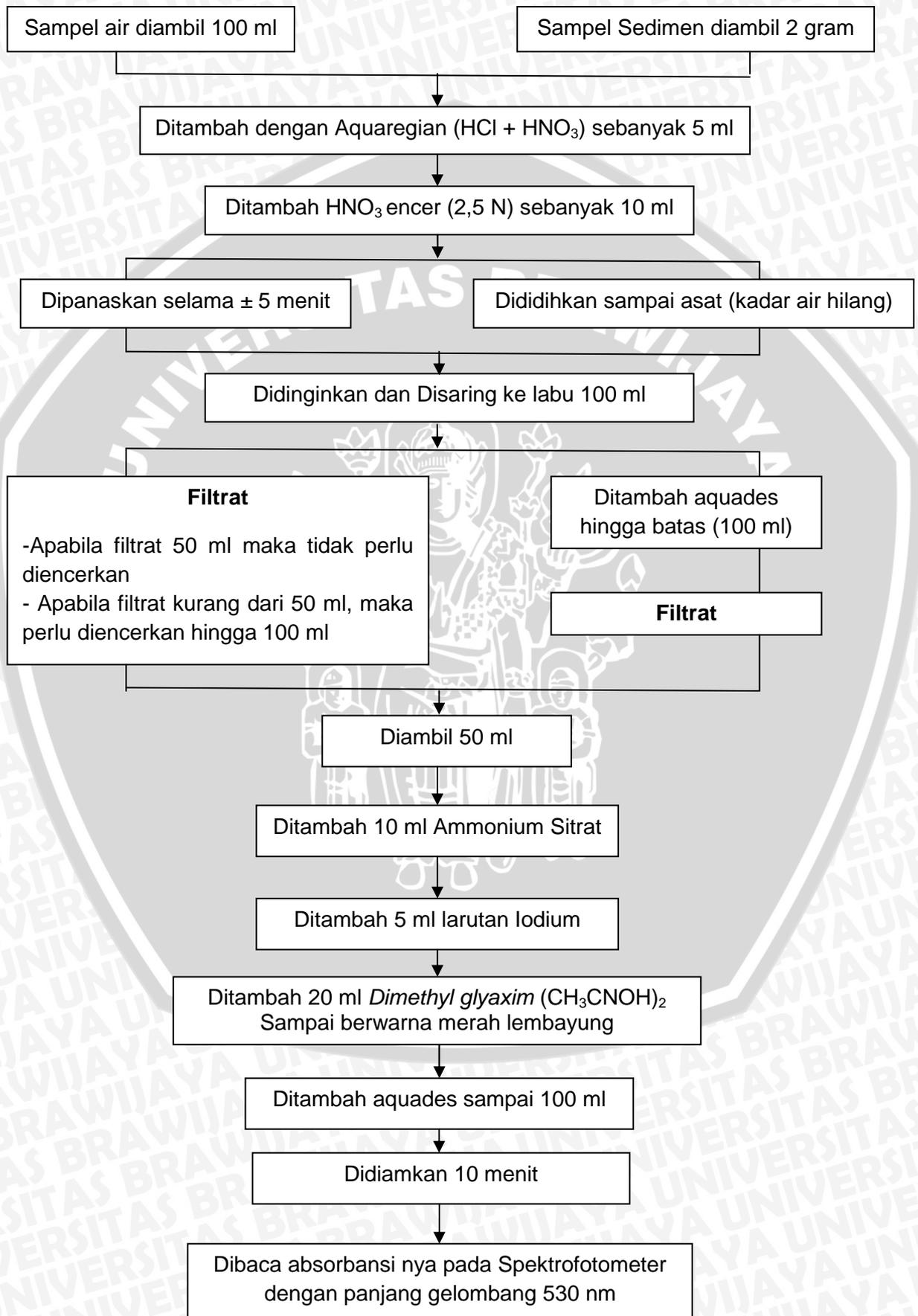


3.4 Pengukuran Logam Berat dengan AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometer*)

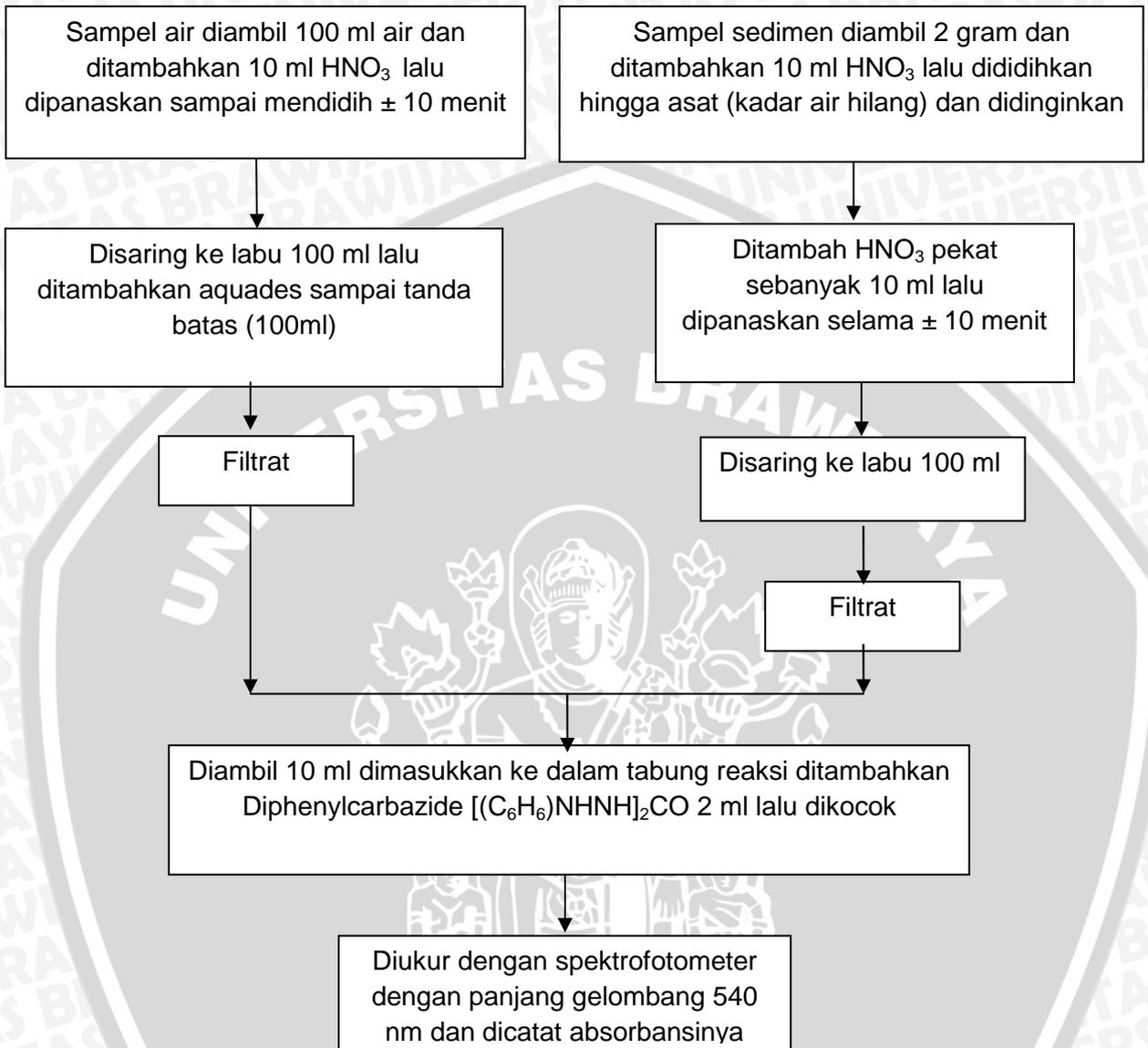


3.5 Pengukuran Logam Berat dengan Spektrofotometer

- Logam Ni (Nikel)



- Logam Cr (Cromium)



- Logam Mn (Mangan)

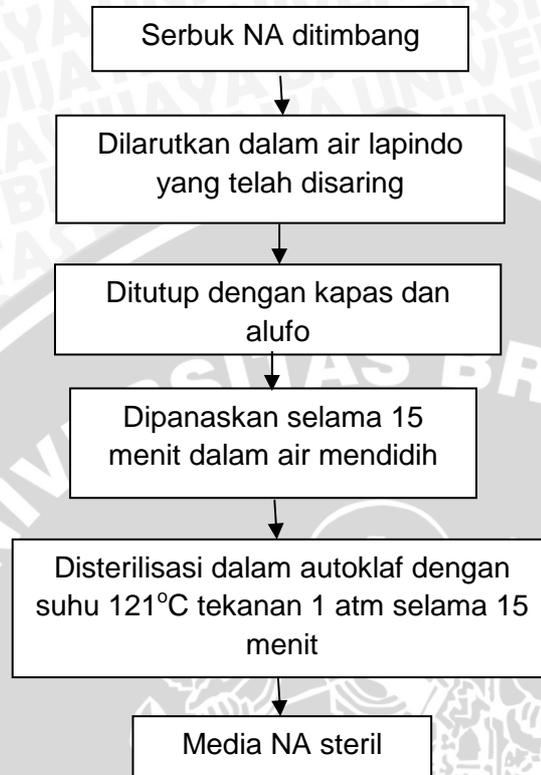
Sampel air diambil 100 ml air dan ditambahkan 10 ml HNO_3 lalu dipanaskan sampai mendidih ± 10 menit

Sampel sedimen diambil 2 gram dan ditambahkan 10 ml HNO_3 lalu dididihkan hingga asat (kadar air hilang)

Didinginkan dan ditambahkan 0,5 gr Amonium persulfat $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$ dan 10 ml H_3PO_4 (Asam Fosfor)

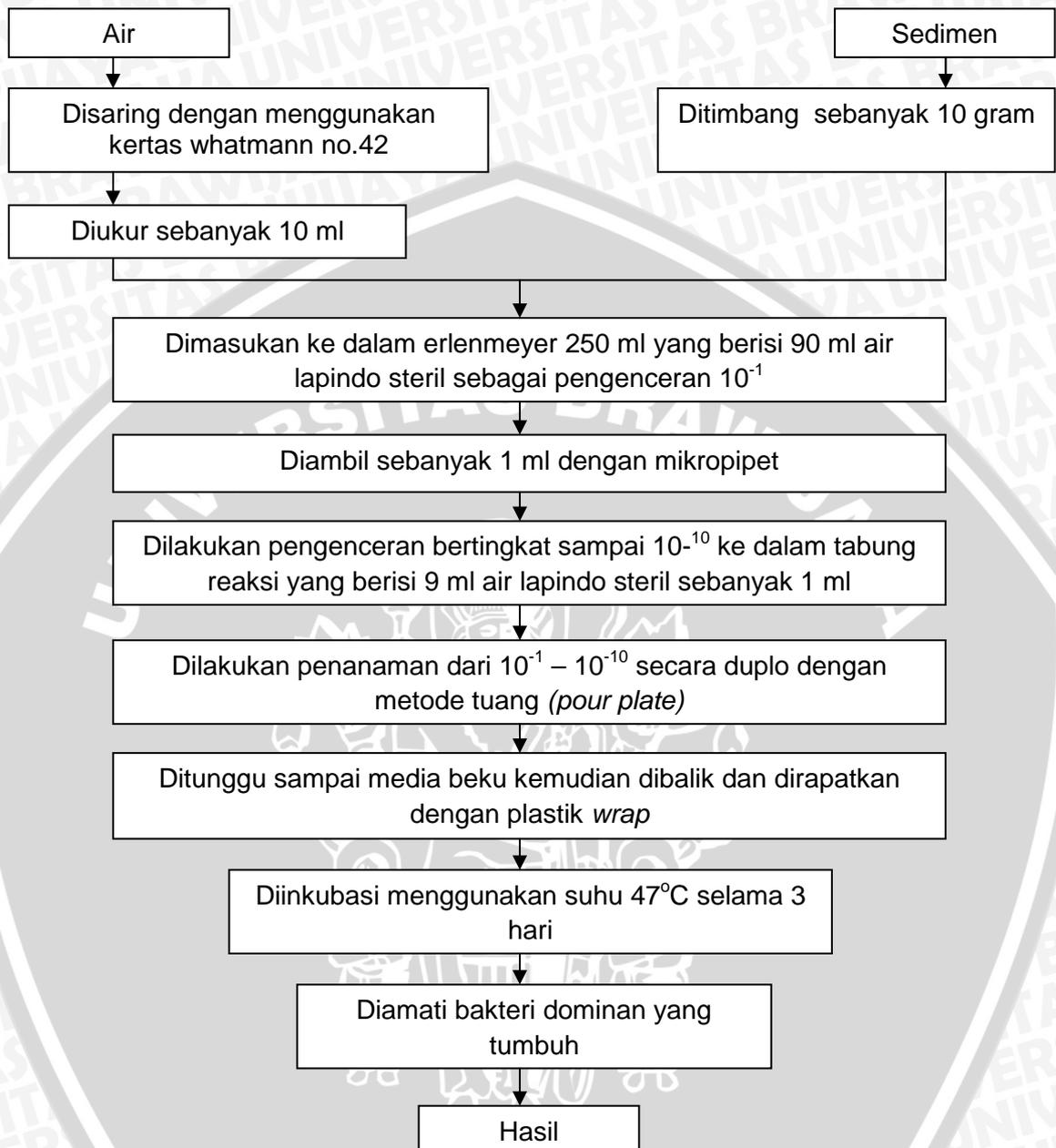
Didihkan dan didinginkan kemudian ditambahkan NaIO_4 (Natrium Periodate) 0,1 gram dan dipanaskan $\pm 70^\circ\text{C}$ sampai terbentuk warna merah lembayung

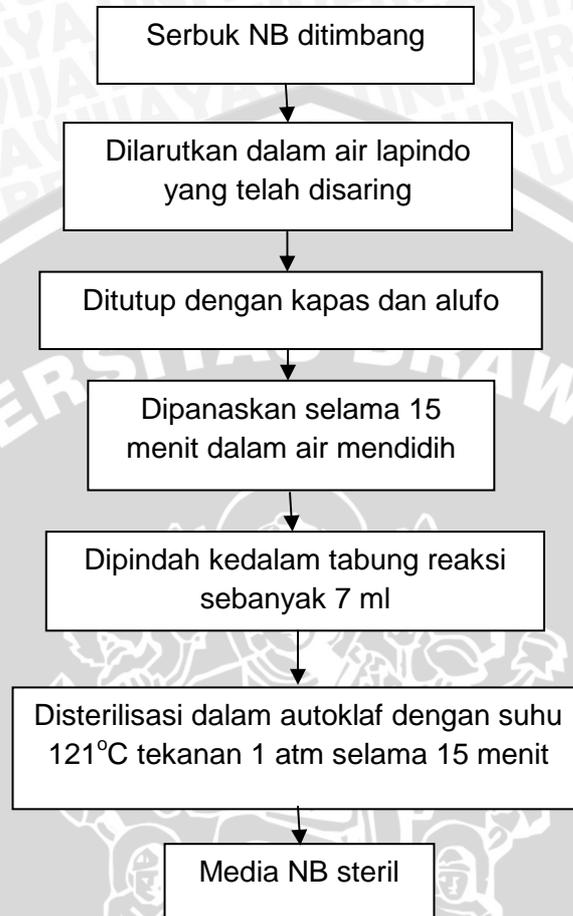
Diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 525 nm dan dicatat absorbansinya

LAMPIRAN 4. Kultur Bakteri Dominan**4.1 Persiapan Media NA (*Nutrient Agar*)**

$$\text{Rumus : NA} = \frac{20}{1000} \times \sum \text{cawan} \times 20 \text{ ml}$$

4.2 Kultur Bakteri Massal

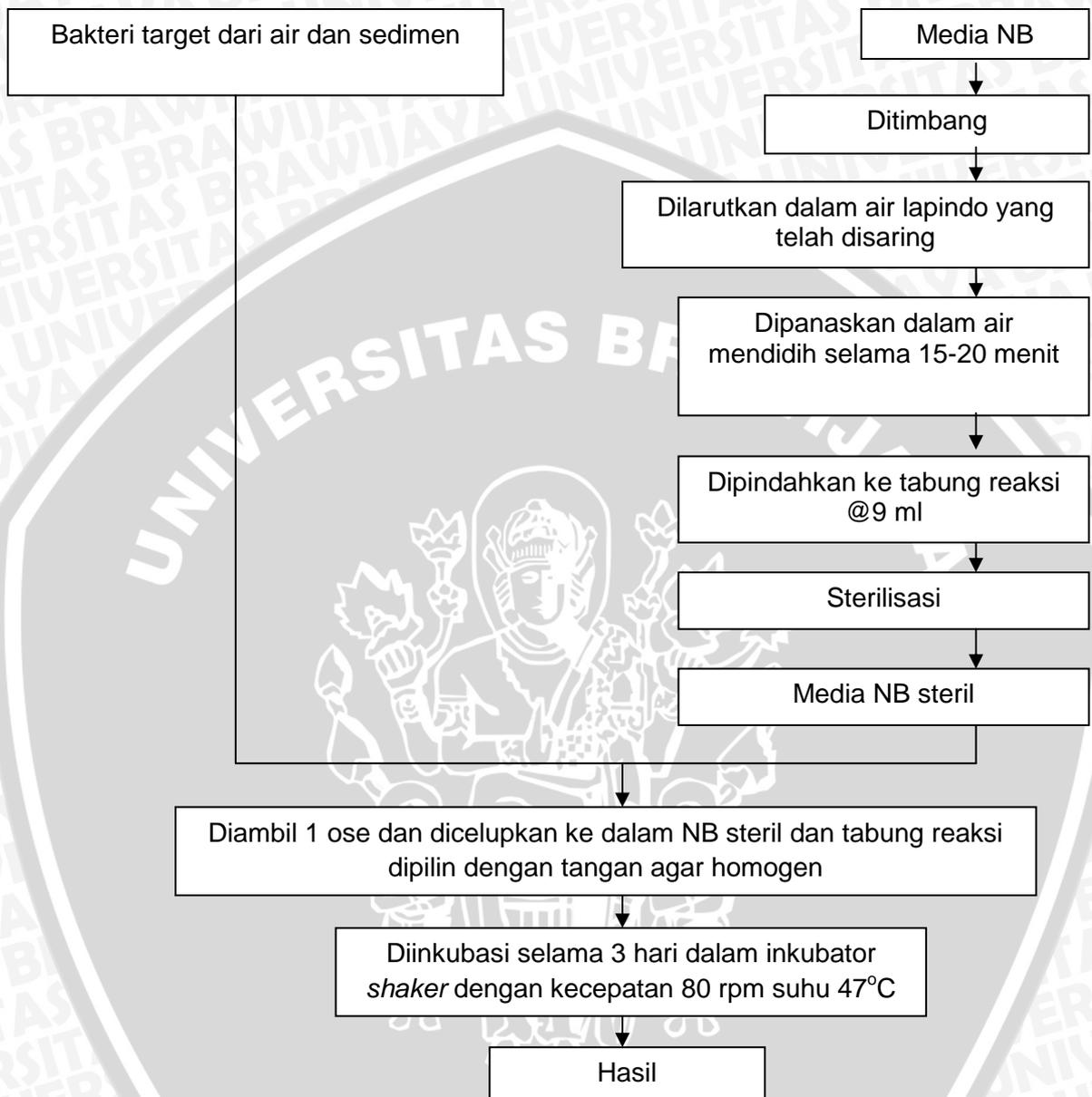


LAMPIRAN 5. Isolasi Bakteri Target**5.1 Pembuatan Media NB (*Nutrient Broth*)**

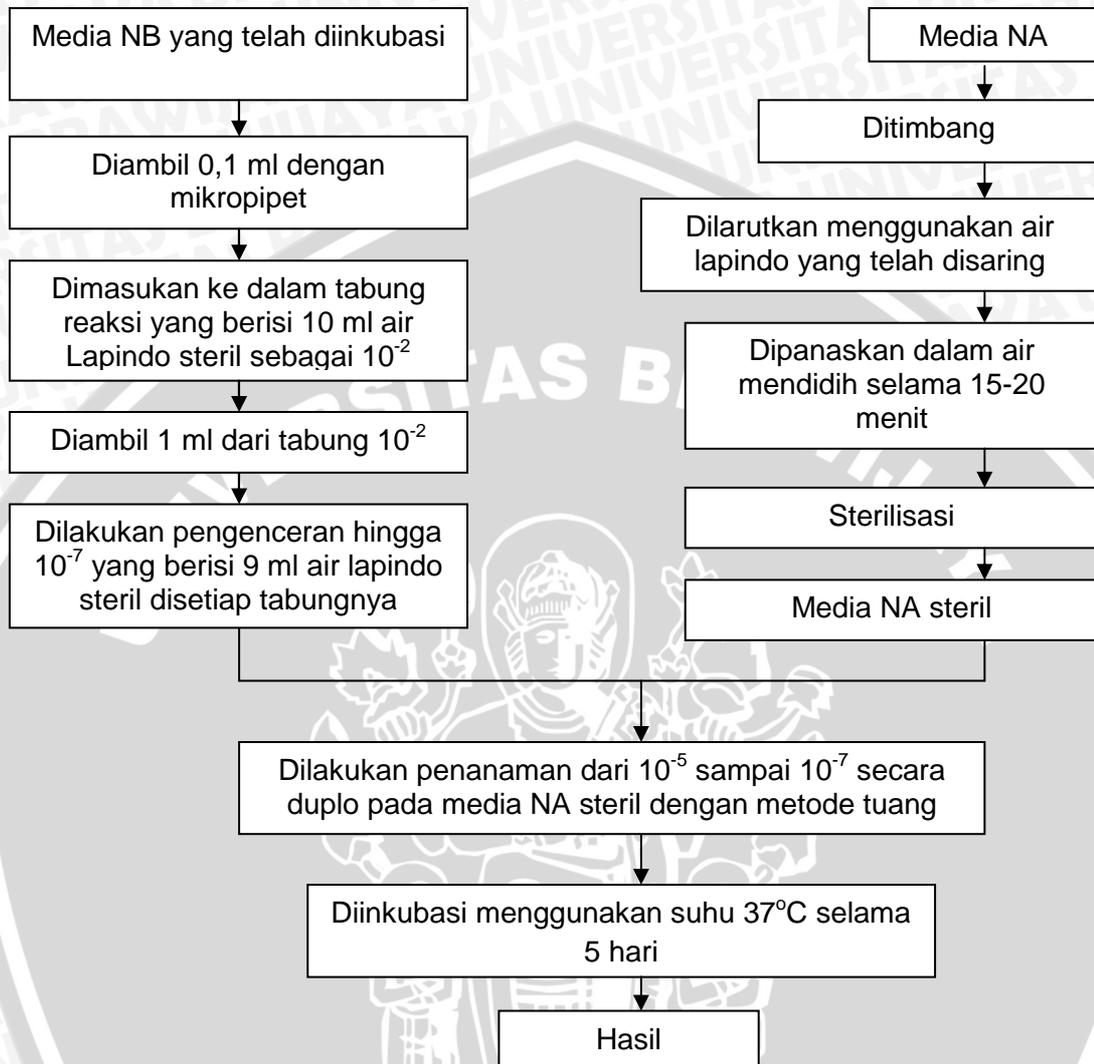
$$\text{Rumus : NB} = \frac{13}{1000} \times \sum \text{tabung} \times 7 \text{ ml}$$

5.2 Isolasi Bakteri Target

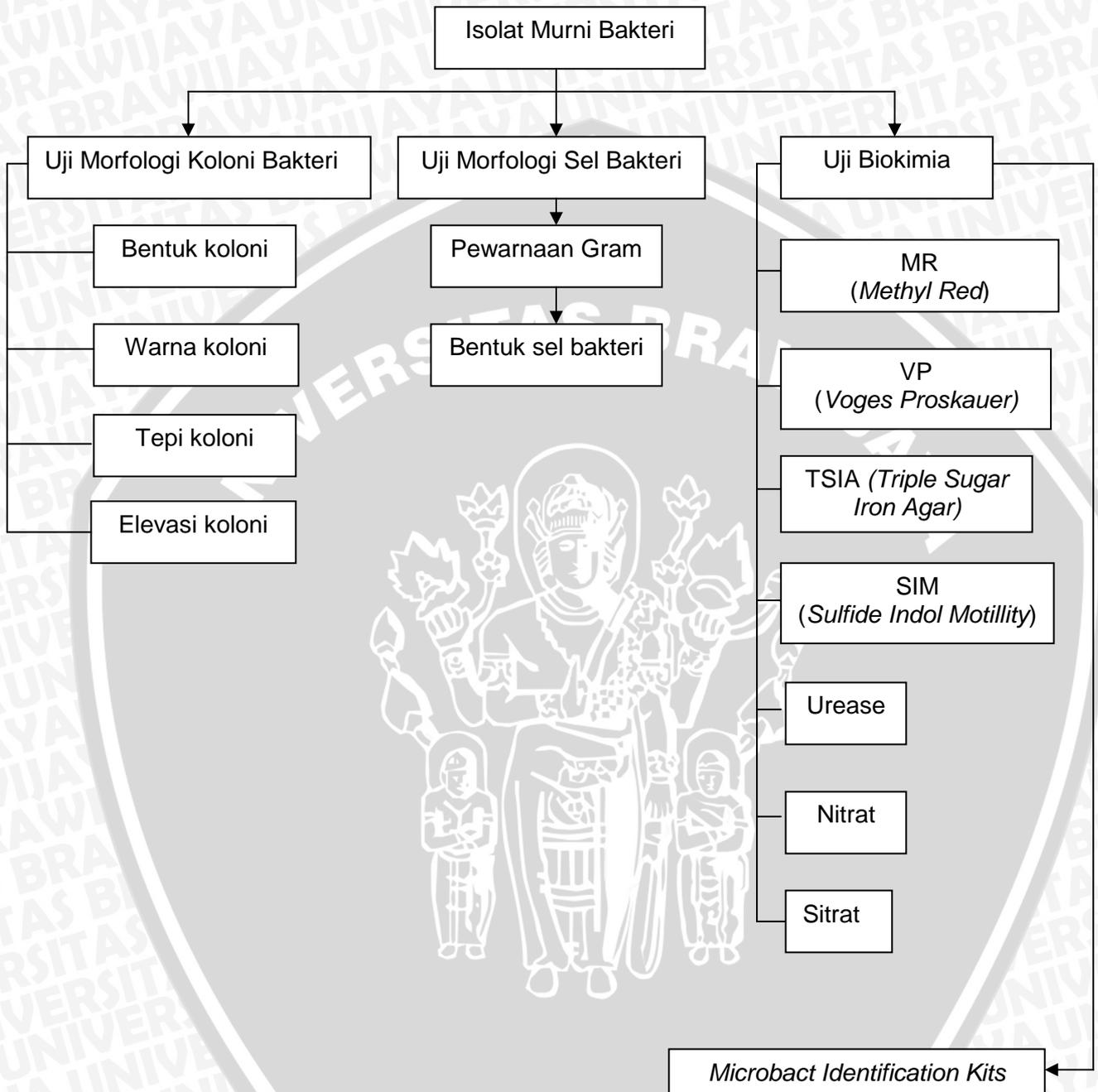
Tahap 1.



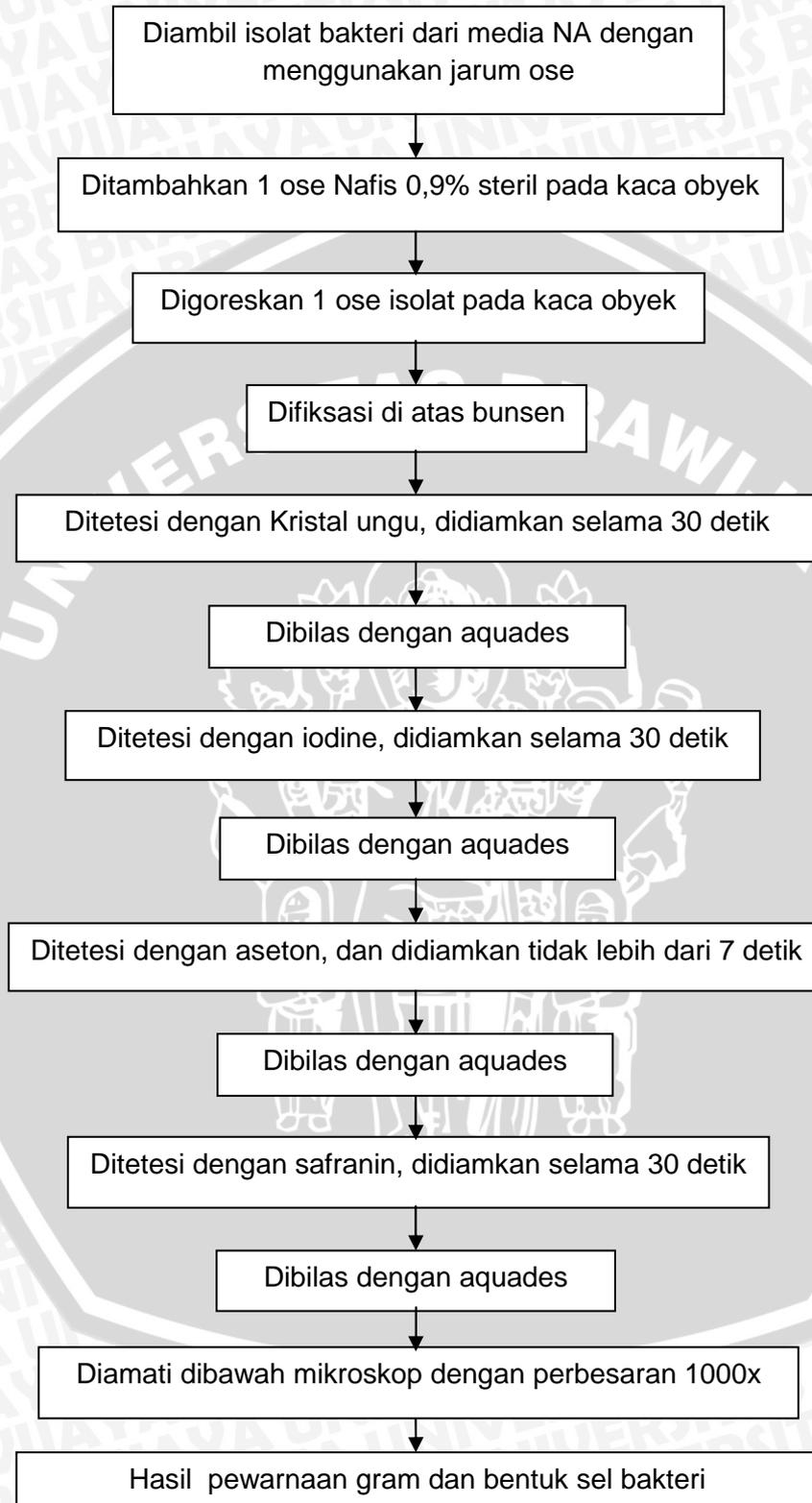
Tahap 2.



LAMPIRAN 6. Uji Karakterisasi Bakteri



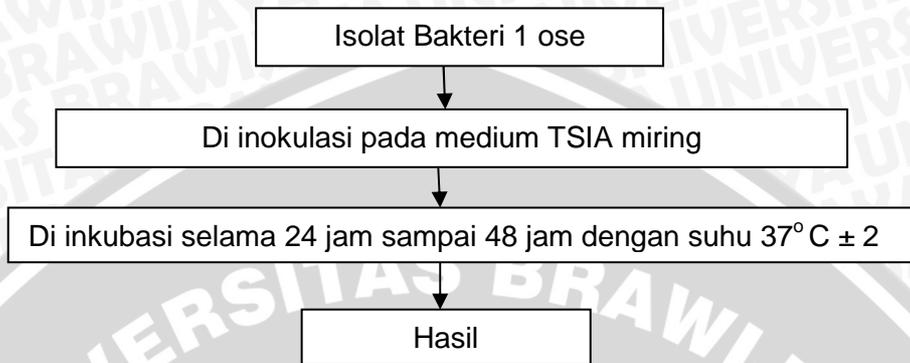
6.1. Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel Bakteri



6.2 Uji Biokimia

6.2.1 Uji Biokimia Manual

- Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)



Keterangan:

Asam/Asam = Kuning/Kuning

Alkali/Alkali = Pink/Pink

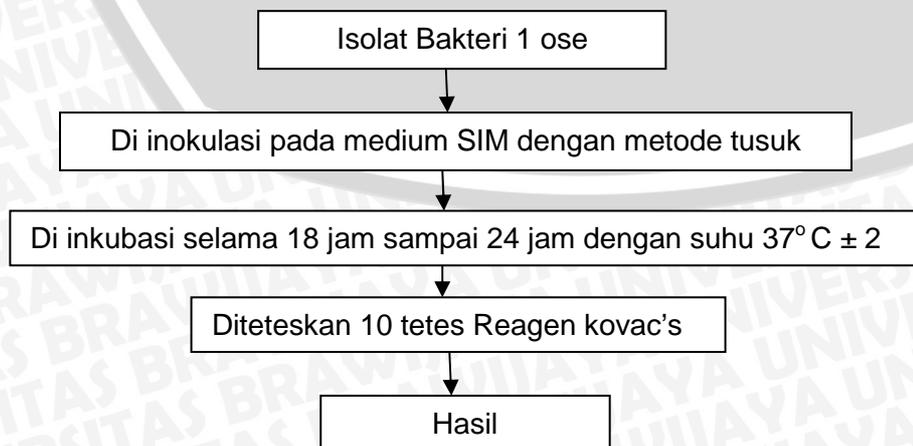
Asam/Alkali = Kuning/ Pink

Alkali/Asam = Pink/Kuning

Adanya H₂S = Warna hitam

Adanya Gas = Gelembung/retakan pada media

- Uji SIM (Sulfide Indol Motility)



Indol:

(+) = Apabila medium berubah warna menjadi merah (cincin merah)

(-) = Apabila medium berubah warna menjadi kuning

Motil:

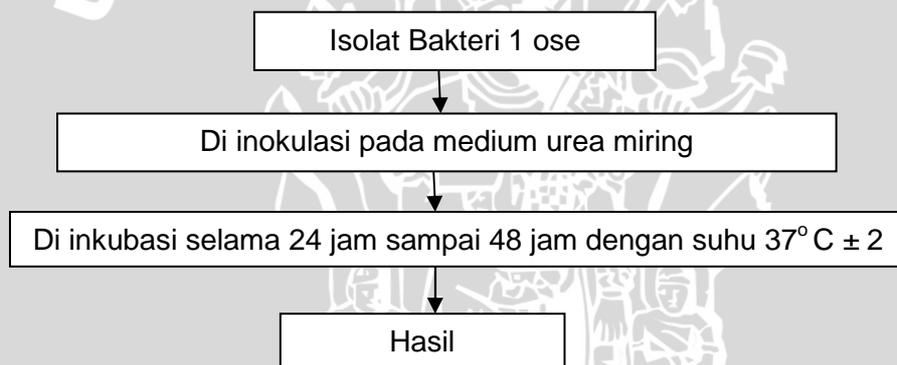
(+) = Adanya kekeruhan pada bekas tusukan

(-) = Tidak ada kekeruhan pada bekas tusukan

Sulfur:

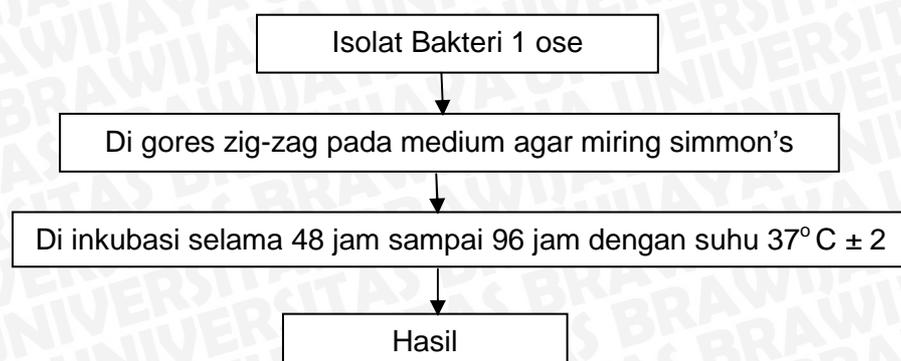
(+) = Terbentuk warna hitam

(-) = Tidak berubah warna

- Uji Urease**Keterangan:**

(+) = Apabila medium berubah warna menjadi pink

(-) = Apabila tidak ada perubahan warna

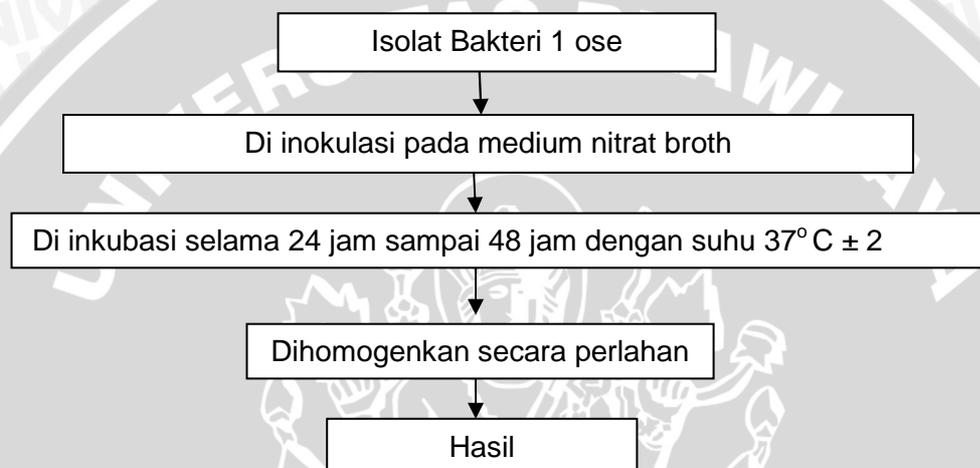
- Uji Sitrat

Keterangan:

(+) = Apabila medium berubah warna menjadi biru dan disertai pertumbuhan

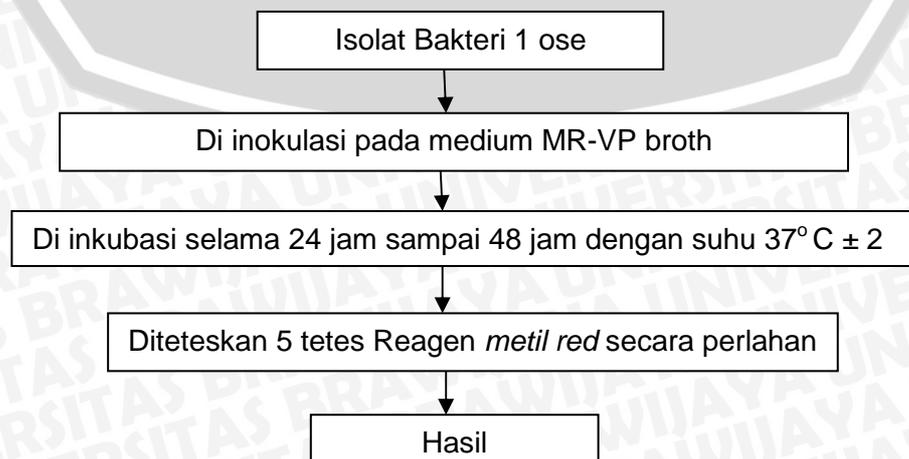
isolat bakteri

(-) = Apabila tidak ada perubahan warna (tetap hijau)

- Uji Nitrat**Keterangan:**

(+) = Apabila medium berubah menjadi keruh

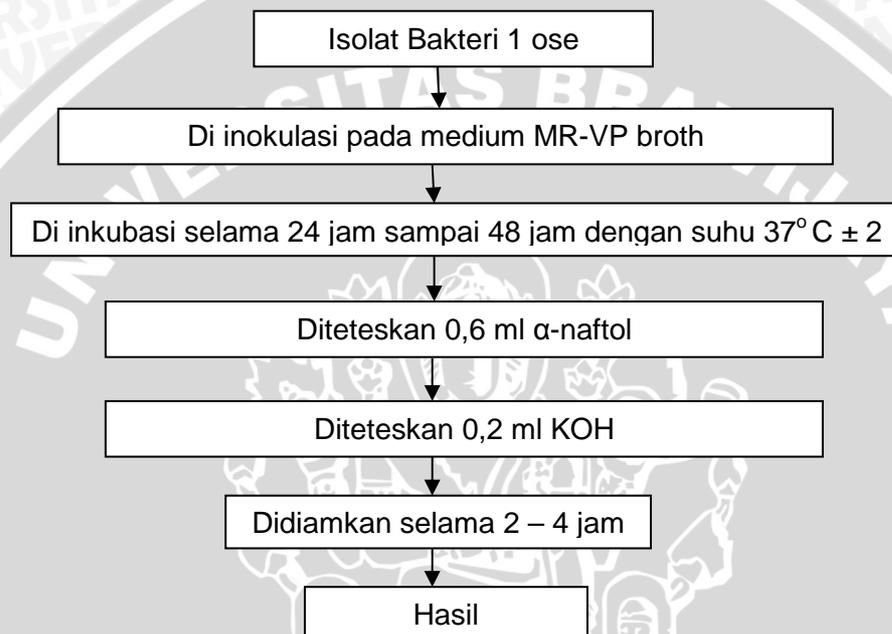
(-) = Apabila tidak ada perubahan kekeruhan

- Uji MR (Methyl Red)

Keterangan:

(+) = Apabila medium berubah warna menjadi merah

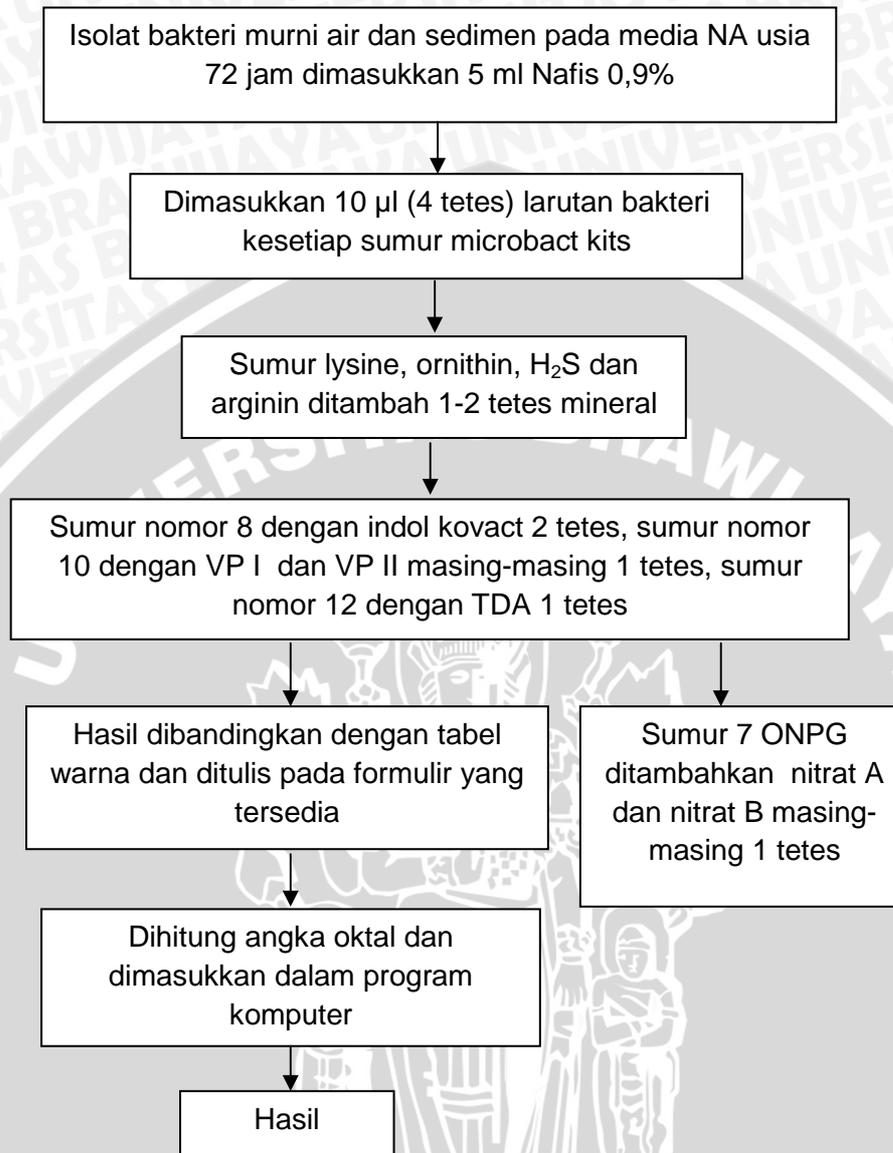
(-) = Apabila medium berubah warna menjadi kuning

- Uji VP (Voges Proskaver)**Keterangan:**

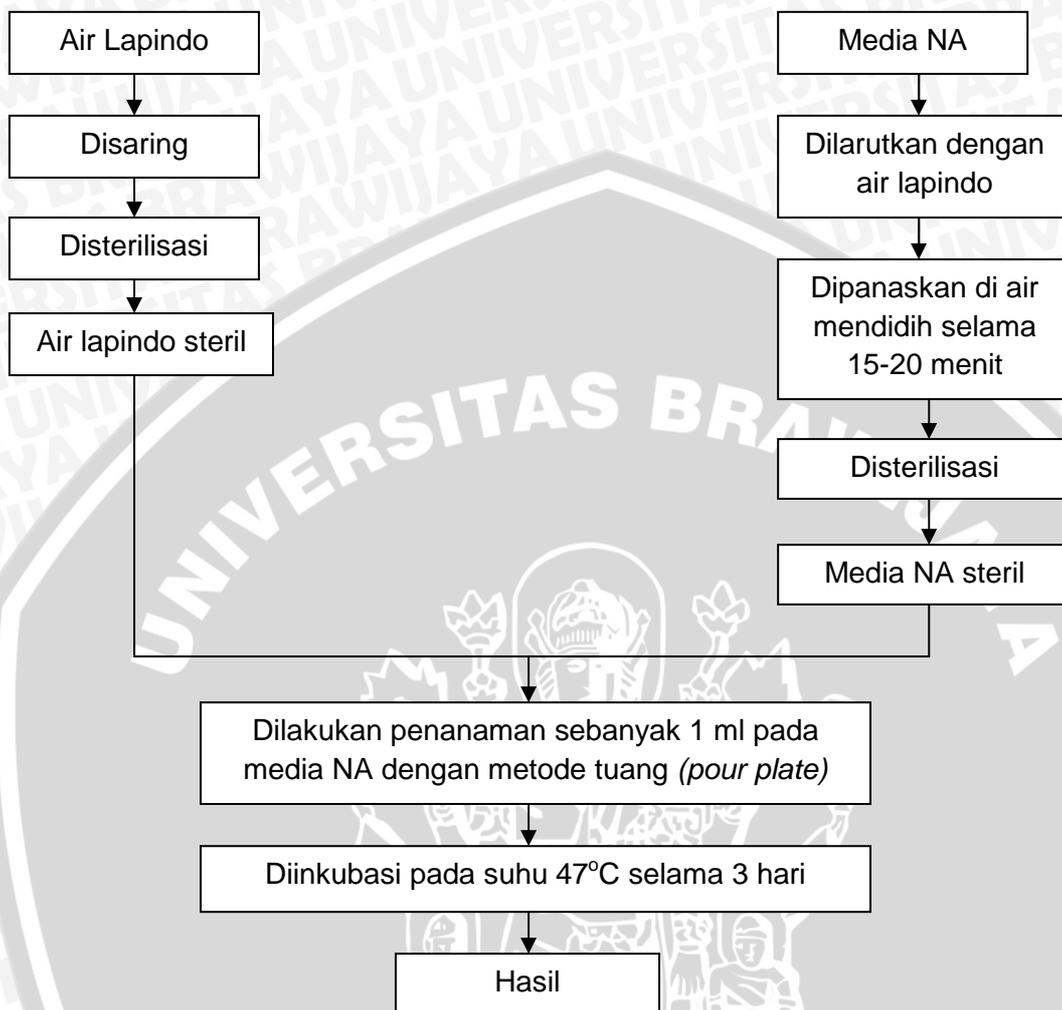
(+) = Apabila medium berubah warna menjadi pink hingga merah

(-) = Apabila tidak ada perubahan warna

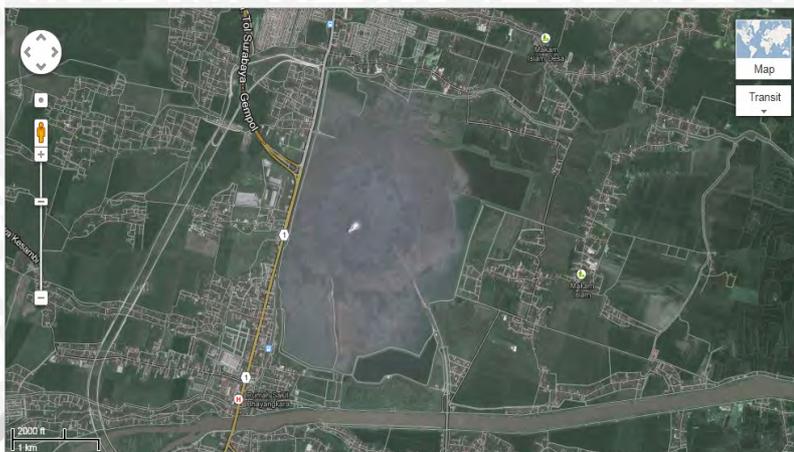
6.2.2 Uji Biokimia *Microbact Identification Kits*



LAMPIRAN 7. Pembuatan Blanko (kontrol negatif)



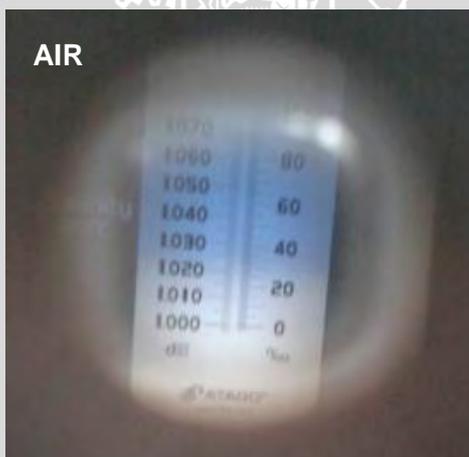
LAMPIRAN 8. Lokasi Semburan Lumpur Lapindo Sidoarjo



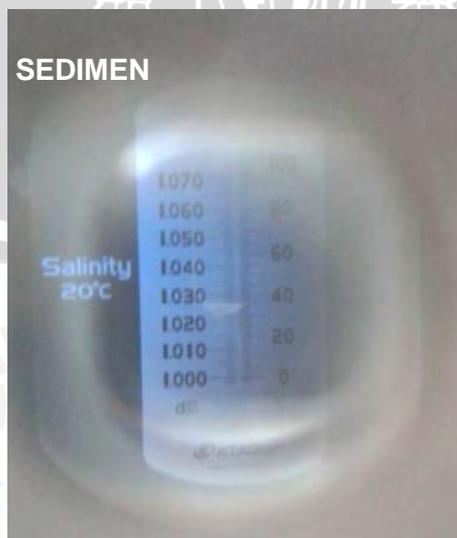
LAMPIRAN 9. Foto Hasil Uji Salinitas Air dan Sedimen Lumpur Lapindo

Sidoarjo

AIR

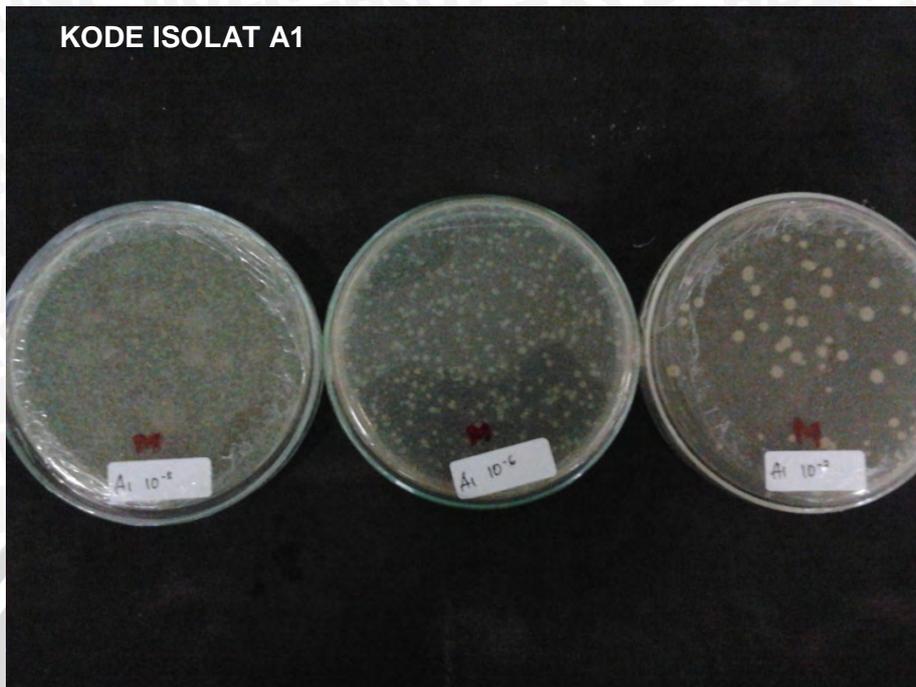


SEDIMEN

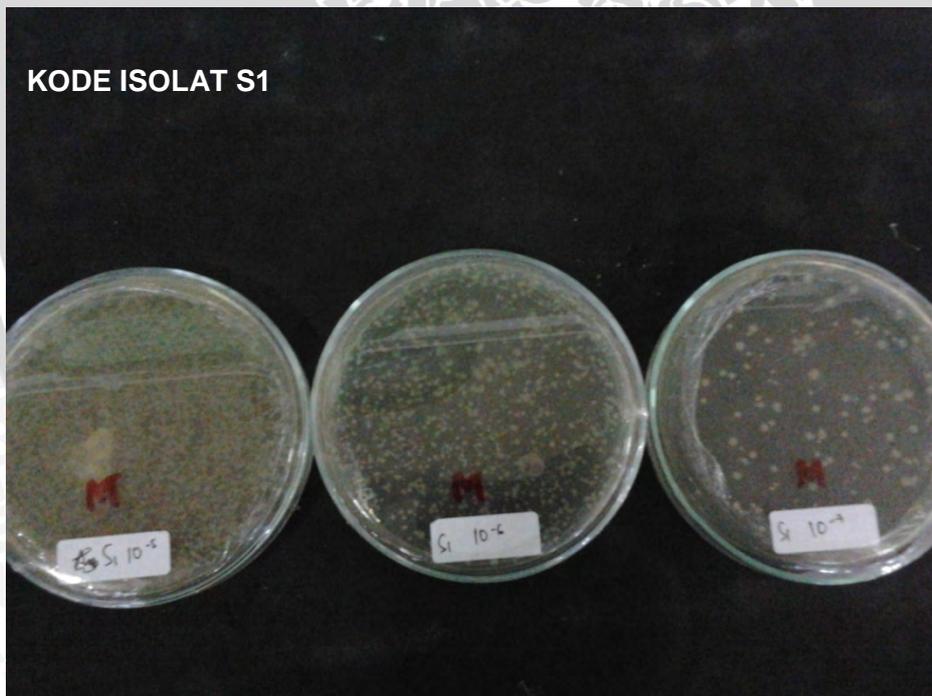


LAMPIRAN 10. Foto Hasil Isolasi Bakteri Kode Isolat A1 dan S1

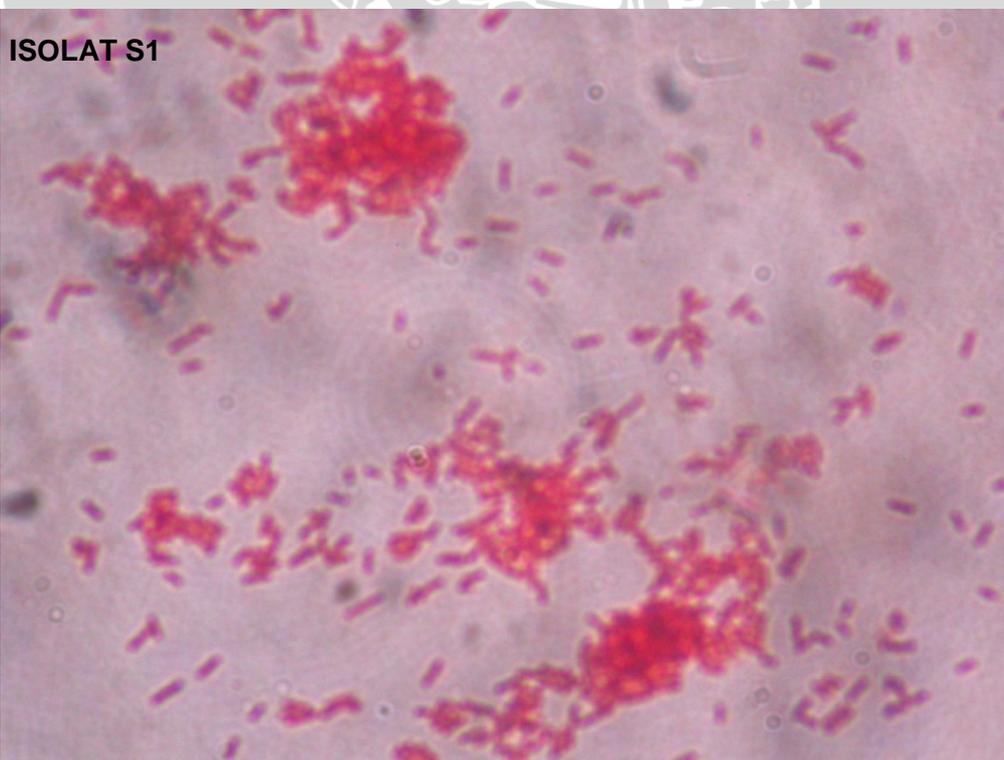
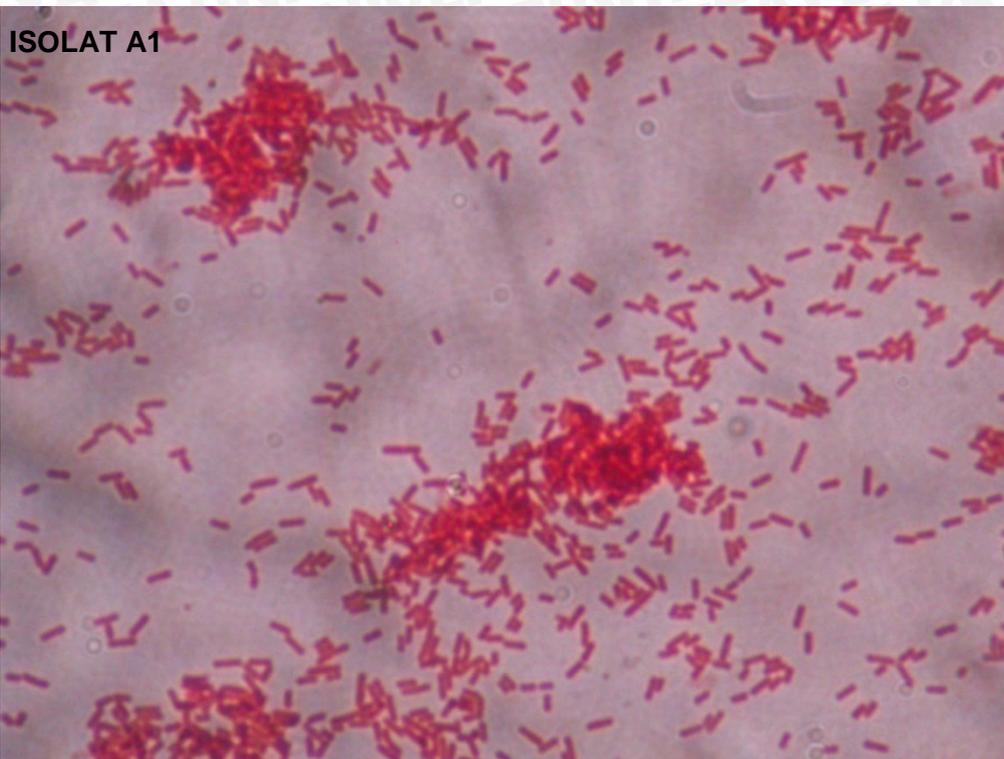
KODE ISOLAT A1



KODE ISOLAT S1



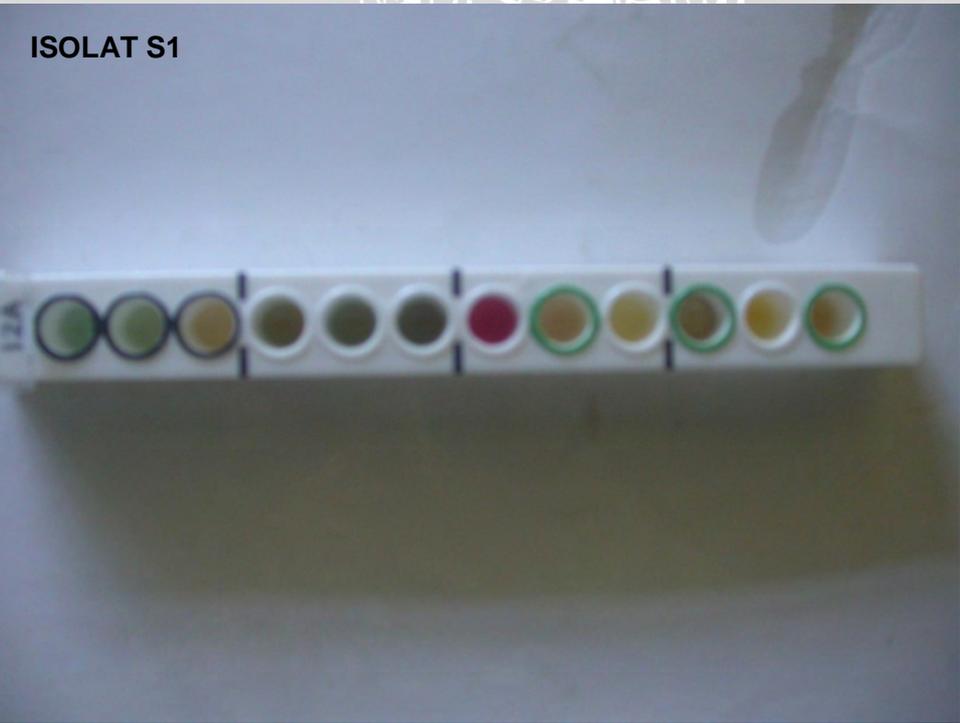
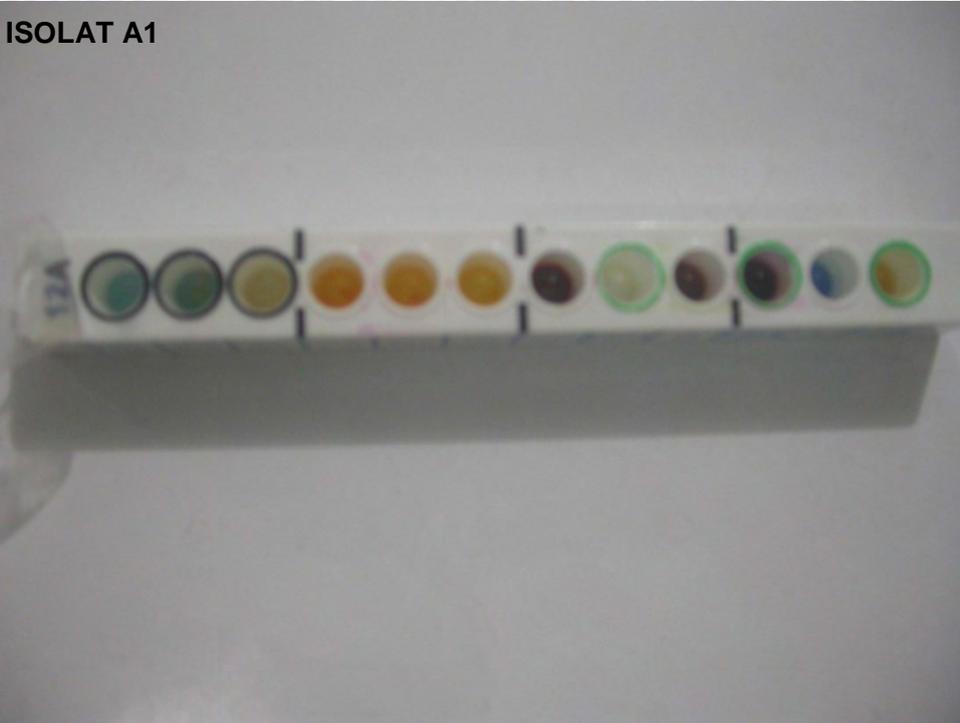
LAMPIRAN 11. Foto Bentuk Sel Bakteri Pada Isolat A1 dan S1



LAMPIRAN 12. Foto Hasil Uji Biokimia Isolat A1 dan S1



LAMPIRAN 13. Foto Hasil Uji Biokimia Isolat A1 dan S1 Menggunakan *Microbact Identification Kits*



LAMPIRAN 14. Hasil Analisa Logam Berat



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS MIPA JURUSAN KIMIA

Jl. Veteran – Malang 65145, Telp. (0341) 575838, 551611 – 551615, Pes.311, Fx (0341) 575839
Email : kimia_UB@ub.ac.id, Website : http://kimia.ub.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISA

Nomor: TN.21 / RT.5 / T.1 / R.0 / TT.150803 / 2013

1. Data konsumen :
 - Nama konsumen : Qorina Ilmaniar
 - Instansi : Fak. Perikanan UB
 - Alamat : Watu Gong 44B
 - Telepon : -
 - Status : Mahasiswa
 - Keperluan Analisis : Uji Kualitas
2. Sampling dilakukan oleh : Konsumen
3. Identifikasi sampel
 - Nama sampel : Air dan Sedimen
 - Asal sampel : Jawa Timur
 - Wujud : Padatan dan Cairan
 - Warna : Abu-abu
 - Bau : Menyengat
4. Prosedur Analisa : Laboratorium Lingkungan Jurusan Kimia FMIPA UB Malang
5. Penyampaian Laporan hasil analisis : Diambil langsung
6. Tanggal terima sampel : 7 Oktober 2013
7. Data hasil analisa :

NO	Parameter	Kode	Hasil Analisa		Metode Analisis	
			Kadar	Satuan	Pereaksi	Metode
1.	Pb	A	0,69±0,03	ppm	HNO ₃	AAS
2.	Pb	S	2,69±0,07	ppm	HNO ₃	AAS
3.	Hg	A	0,23 ±0,04	ppm	HNO ₃	AAS
4.	Hg	S	0,59±0,06	ppm	HNO ₃	AAS
5.	Cu	A	0,07±0,03	ppm	HNO ₃	AAS
6.	Cu	S	0,27±0,05	ppm	HNO ₃	AAS
7.	Fe	A	0,76±0,05	ppm	HNO ₃	AAS
8.	Fe	S	6,48±0,04	ppm	HNO ₃	AAS
9.	Zn	A	0,03±0,01	ppm	HNO ₃	AAS
10.	Zn	S	0,49±0,02	ppm	HNO ₃	AAS
11.	Cd	A	-	ppm	HNO ₃	AAS
12.	Cd	S	0,03±0,06	ppm	HNO ₃	AAS
13.	Au	A	0,42±0,05	ppm	HNO ₃	AAS
14.	Au	S	2,12±0,08	ppm	HNO ₃	AAS
15.	Cr	A	0,02±0,09	ppm	[(C ₆ H ₆)NHNH] ₂ CO	Spektrofotometri
16.	Cr	S	0,06±0,10	ppm	[(C ₆ H ₆)NHNH] ₂ CO	Spektrofotometri
17.	Mn	A	39,16±0,02	ppm	NaIO ₄	Spektrofotometri
18.	Mn	S	528±0,04	ppm	NaIO ₄	Spektrofotometri
19.	Ni	A	1,02±0,04	ppm	(CH ₃ CNOH) ₂	Spektrofotometri
20.	Ni	S	3,39±0,06	ppm	(CH ₃ CNOH) ₂	Spektrofotometri

Catatan :

1. Hasil analisa ini adalah rata-rata pengerjaan analisis secara duplo
2. Hasil analisa ini hanya berlaku untuk sampel yang kami terima dengan kondisi sampel saat itu



Malang, 24 Oktober 2013
Kepala UPT. Layanan Analisa & Pengukuran

Dra. Sri Wardani, MS.i



LAMPIRAN 15. Data Uji *Microbact Identification Kits*

OXOID
MICROBACT™
 IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E

A,

			GNB 24E																								
			GNB 12A / 12E											GNB 12B													
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine	
			+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-													
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4
			6			7			5			6															

Result / Resultado / Ergeltis / Résultat / Risultato / Resultat / Resultat / Resultado / Αποτελεσμα

Sum / Suma / Summe / Somme / Somma / Sum / Summe / Soma / Απογραφή

Identification / Identificación / Identifikation / Identificazione / Identificação / Identifizierung / Identificação / Ταυτοποίηση

Enterobacter gergoviae 88, 82

OXOID
MICROBACT™
 IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E

S,

			GNB 24E																								
			GNB 12A / 12E											GNB 12B													
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine	
			-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-													
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4
			0			7			0			0															

Result / Resultado / Ergeltis / Résultat / Risultato / Resultat / Resultat / Resultado / Αποτελεσμα

Sum / Suma / Summe / Somme / Somma / Sum / Summe / Soma / Απογραφή

Identification / Identificación / Identifikation / Identificazione / Identificação / Identifizierung / Identificação / Ταυτοποίηση

Klebsiella rhinoscleromatis 88, 67



LAMPIRAN 16. Data Hasil Standar Deviasi Kondisi Lingkungan Lumpur Lapindo Sidoarjo

SUHU AIR	1	2	3	RATA2	STANDAR DEVIASI
A	43	45	47	45	2
B	44	45	46	45	1
C	44.5	45	46	45.16666667	0.763762616
D	44	45	48	45.66666667	2.081665999
E	44	45	46	45	1
Rata-rata				45.16666667	0.288675135

SUHU SEDIMEN	1	2	3	RATA2	STANDAR DEVIASI
A	47	49	49	48.33333333	1.154700538
B	47	48	49	48	1
C	46	48.5	49	47.83333333	1.607275127
D	47	49	48	48	1
E	47	48	48.5	47.83333333	0.763762616
Rata-rata				48	0.204124145

pH AIR	1	2	3	RATA2	STANDAR DEVIASI
A	8	7.7	7.8	7.833333333	0.152752523
B	8	7	7.8	7.6	0.529150262
C	7.4	7.9	8	7.766666667	0.321455025
D	7.8	7.8	8	7.866666667	0.115470054
E	8	7.7	7.9	7.866666667	0.152752523
Rata-rata				7.786666667	0.125830574

pH SEDIMEN	1	2	3	RATA2	STANDAR DEVIASI
A	7.7	7.5	7.6	7.6	0.1
B	7.8	7.5	7	7.433333333	0.404145188
C	7.5	7.2	7.7	7.466666667	0.251661148
D	7.5	7.6	7.8	7.633333333	0.152752523
E	7.8	7.5	7.5	7.6	0.173205081
Rata-rata				7.546666667	0.090061707

SALINITAS	1	2	3	STANDAR DEVIASI
A	30	30	30	30
B	30	30	30	30
C	30	30	30	30
D	30	30	30	30
E	30	30	30	30
Rata-rata				30