

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perseroan Terbatas (PT) Tlogo Kelang adalah pabrik gula merah modern dengan kapasitas produksi 1000 *Ton Cane per Day* (TCD). Perusahaan ini merupakan perintis industri gula merah di Indonesia dengan sistem penguapan *close pan* yang terletak di Desa Krebet Senggrong, Kecamatan Bululawang, Kabupaten Malang (Profil Tlogo Kelang, 2011). Dalam proses industri ini, selain dihasilkan produk yang diinginkan juga dihasilkan produk samping baik yang masih dapat dimanfaatkan maupun yang tidak dapat dimanfaatkan dan dikategorikan sebagai limbah. Limbah tersebut kemudian diolah di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL).

Di dalam IPAL, limbah diolah dengan menggunakan bak aerasi. Ketersediaan bahan organik dan ion nutrien dari limbah membuat mikroorganisme dapat tumbuh di dalam bak aerasi tersebut. Mikroorganisme ini membentuk koloni di permukaan pada bagian dalam bak aerasi. Alat-alat buatan seperti bak aerasi yang digunakan untuk mengolah limbah tersebut menuju tempat pembuangan limbah, bisa menjadi substrat untuk melihat berbagai jenis mikroorganisme. Kumpulan mikroorganisme yang melekat erat ke suatu permukaan ini disebut dengan biofilm. Pelekatan ini didukung berbagai faktor diantaranya oleh keberadaan matrik ekstrasellular (Kokare *et al.*, 2009). Biofilm berkembang pada permukaan yang terbilas dalam lingkungan berair, baik permukaan biotik (tanaman air, binatang), maupun abiotik (batu, logam, dan tembok). Biofilm terbentuk sangat cepat dalam sistem yang mengalir dimana suplai makanan yang teratur cukup tersedia. Polimer ekstrasellular yang dihasilkan dalam perkembangan biofilm, menyebabkan terlihatnya lapisan berlendir pada permukaan (Jamilah *et al.*, 2004).

Biofilm merupakan pertumbuhan mikroorganisme secara terstruktur pada permukaan padatan sehingga membentuk lapisan tipis. Secara umum proses pembentukan biofilm melalui 3 tahapan, yaitu tahap pelekatan pada permukaan padatan (*attachment*), kolonisasi, dan tahap pertumbuhan biofilm (Piatek *et al.*, 2009). Pada tahap pelekatan, mikroba mendekati permukaan melalui gaya elektrostatik maupun gaya fisika. Pada umumnya, ketersediaan nutrisi, suhu air dan laju alir cairan yang memadai serta karakteristik bakteri seperti adanya flagela dan permukaan sel yang terasosiasi dengan polisakarida atau protein mempercepat proses pelekatan. Setelah bakteri berasosiasi satu sama lainnya membentuk mikrokoloni. Beberapa dari sel mikroba terikat secara permanen pada permukaan material melalui pembentukan *Extracellular Polymeric Substance* (EPS) terdiri dari sejumlah besar protein, polisakarida, asam nukleat dan fosfolipid. EPS berfungsi sebagai penghubung antar permukaan sel dan menjadi inisiasi pada pembentukan biofilm. Terbentuknya biofilm sebagai strategi bagi mikroorganisme untuk mempertahankan populasinya karena adanya EPS mencegah difusi senyawa-senyawa toksik yang membahayakan serta mengatur pertumbuhan sel (Sastrawidana dan Sukarta *et al.*, 2013).

Menurut Buana dan Wardani (2014), biofilm merupakan suatu bentuk adaptasi bakteri yang menempel pada suatu permukaan, berkoloni, dan menyelubungi dirinya sendiri dalam suatu matriks. Sifat alami dari biofilm yang lebih resisten terhadap antimikroba sehingga sulit untuk dihilangkan. Mayoritas bakteri (menguntungkan ataupun tidak) seringkali dijumpai dalam bentuk biofilmnya. Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti) (Harniza, 2009). Bakteri begitu penting bagi kehidupan di alam ini karena mereka memainkan peran penting dalam ekologi (Yuwono, 2013). Mikroorganisme mempunyai peran penting dalam sejumlah proses penanganan limbah. Hal utama dalam pengolahan limbah cair adalah

pengembangan dan pemeliharaan kultur mikroorganisme yang cocok. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme terpenting dalam penanganan limbah cair (Chasanah, 2007).

Bakteri yang hidup di biofilm bisa dibedakan menjadi bakteri yang dapat dikultur (*culturable bacteria*) dan bakteri yang tidak dapat dikultur (*non-culturable bacteria*). Bakteri-bakteri ini bersama-sama membentuk biofilm dan memiliki banyak peranan penting baik dalam perspektif mikrobiologi lingkungan atau dalam perspektif bioteknologi lingkungan. Salah satu peran penting bakteri dalam bidang bioteknologi lingkungan adalah menjadi agen pengurai. Peran penting ini membuat bakteri dalam proses penangan limbah perlu dipelajari untuk mengembangkan sistem pengolahan limbah yang optimal. Salah satu cara untuk mempelajarinya yaitu dengan cara mengidentifikasi jenis bakteri yang dapat dikultur dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah.

Pabrik gula PT. Tlogo Kelang memproduksi gula merah dengan melalui beberapa proses, yaitu proses pemurnian, penguapan dan pengkristalan dengan menggunakan sistem *close pan vacuum* dan tanpa menggunakan bahan kimia, sehingga dapat diperoleh standar kualitas yang baik, alami dan higienis. Pabrik gula ini selain menghasilkan produk yang diinginkan juga menghasilkan produk samping baik yang masih dapat dimanfaatkan maupun yang tidak dapat dimanfaatkan yang dikategorikan sebagai limbah. Sehingga pabrik gula PT. Tlogo Kelang ini dapat dijadikan sebagai lokasi penelitian tentang identifikasi bakteri yang dapat dikultur dari biofilm pada jaringan pengolahannya. Dengan mengetahui jenis dan karakteristik bakteri yang didapat, maka dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengolahan limbah untuk mengurangi polutan dari limbah yang dihasilkan oleh pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang.

1.2 Rumusan Masalah

Dalam proses industri, selain dihasilkan produk yang diinginkan juga dihasilkan produk samping baik yang masih dapat dimanfaatkan maupun yang tidak dapat dimanfaatkan dan dikategorikan sebagai limbah. Limbah tersebut kemudian diolah dengan alat-alat buatan seperti bak aerasi yang digunakan untuk mengolah limbah tersebut menuju tempat pembuangan limbah, yang akan mendukung terbentuknya biofilm. Mayoritas bakteri (menguntungkan ataupun tidak) seringkali dijumpai dalam bentuk biofilm. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme terpenting dalam penanganan limbah, sehingga perlu dipelajari. Salah satu cara mempelajarinya yaitu dengan cara mengidentifikasi jenis bakteri dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang. Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang akan diteliti dalam penelitian skripsi adalah sebagai berikut:

- Jenis bakteri apa saja yang didapatkan dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang?
- Berapa jumlah koloni bakteri yang dapat dikultur?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri dan jumlah koloni bakteri dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang.

1.4 Kegunaan Penelitian

Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat berguna bagi:

- Mahasiswa, untuk menambah pengetahuan dan wawasan tentang identifikasi jenis bakteri dan jumlah bakteri dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang dan diharapkan jenis bakteri yang ditemukan dari hasil kultur dapat dijadikan sebagai bakteri kandidat untuk bioremediasi.
- Bagi Lembaga Pendidikan, sebagai bahan informasi untuk penelitian lebih lanjut tentang pengolahan limbah untuk mengurangi polutan dari limbah yang dihasilkan oleh pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang.
- Bagi Pemerintah, sebagai bahan pertimbangan dalam menentukan kebijakan guna pengelolaan sumber daya perairan yang berkelanjutan serta peningkatan dan kelestarian kualitas air.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan dengan mengambil sampel langsung dari pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Desa Kreet Senggrong, Kecamatan Bululawang, Kabupaten Malang kemudian melakukan kultur di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan identifikasi bakteri di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang serta analisis kualitas air limbah di Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I, Malang yang dilaksanakan pada bulan Januari 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Proses Pembuatan Gula

Indonesia sebagai negara agraris memiliki kekayaan alam dari sektor perkebunan. Berbagai jenis perkebunan yang dapat menjadi komoditi ekspor dapat ditemukan di Indonesia seperti perkebunan tebu, tembakau, karet, kelapa sawit, perkebunan buah-buahan dan sebagainya. Diantara semua jenis perkebunan di Indonesia tersebut, perkebunan tebu merupakan sumber bahan baku untuk pembuatan gula (Abidin dan Oktafriyanto, 2010).

Gula merupakan salah satu kebutuhan pokok masyarakat Indonesia yang berperan sebagai pemanis dan sumber kalori dalam struktur konsumsi masyarakat selain bahan pangan. Pentingnya gula bagi masyarakat di Indonesia tercermin pada kebijakan pemerintah yang menetapkan bahwa gula pasir adalah salah satu dari sembilan bahan pokok kebutuhan rakyat secara global. Sebagai komoditi strategis, gula senantiasa dicermati oleh pemerintah terutama dalam hal pergerakan harganya dan pemerintah pun berkewajiban untuk menjamin ketersediaan gula di pasar domestik pada tingkat harga yang terjangkau bagi seluruh masyarakat (Istiqomah dan Rahayu, 2012).

Menurut Moerdokusumo (1993), proses pengolahan tebu untuk menghasilkan gula kristal putih terdiri dari unit operasi penggilingan (ekstraksi), pemurnian (purifikasi), penguapan (evaporasi), kristalisasi dan sentrifuse. Unit operasi penggilingan bertujuan untuk mengekstraksi kandungan sukrosa dalam tebu sebanyak mungkin. Unit operasi purifikasi bertujuan untuk memisahkan kotoran seperti partikel kasar (pasir, dan ampas yang masih terbawa dalam nira mentah), partikel koloid seperti *nonsuspended sugar* dan partikel terlarut (misalnya desinfektan yang ikut terbawa dari stasiun penggilingan) dalam nira mentah sebanyak mungkin dengan cara yang efektif. Unit operasi penguapan

bertujuan untuk menguapkan kandungan air yang terdapat pada nira jernih (nira encer) dari stasiun pemurnian sehingga dihasilkan nira kental. Unit operasi kristalisasi bertujuan untuk mengkristalkan nira kental sehingga didapatkan kristal gula sesuai yang diinginkan. Unit operasi sentrifuse bertujuan untuk memisahkan kristal gula dengan larutannya dari masakan A, masakan C, dan masakan D dengan cara pemutaran (sentrifugasi).

Menurut Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (1999), saat ini gula yang diproduksi di Indonesia 65% bermutu SHS (*Super High Sugar*) IA dan 35% bermutu SHS IB. Selain produk utama berupa gula kristal, pengolahan gula dari tebu menghasilkan produk samping berupa pucuk tebu, ampas, blotong dan tetes. Produk samping ini merupakan bahan baku potensial dari berbagai industri dan belum optimal dikembangkan.

2.2 Limbah Industri Gula

Gula merupakan komoditi penting bagi Indonesia. Selain sebagai salah satu bahan makanan pokok, gula juga merupakan sumber kalori bagi masyarakat selain beras, jagung dan umbi-umbian. Sebagai bahan pemanis utama, gula digunakan pula sebagai bahan baku pada industri makanan dan minuman. Keberadaan pemanis buatan dan pemanis lainnya sampai saat ini belum sepenuhnya bisa menggantikan keberadaan gula pasir. Karenanya gula menjadi semakin penting perannya pada kebutuhan pangan masyarakat (Dachliani, 2006).

Menurut Undang Undang RI Nomor 5 Tahun 1984 Tentang Perindustrian, Bahan baku industri adalah bahan mentah yang diolah atau tidak diolah yang dapat dimanfaatkan sebagai sarana produksi dalam industri. Industri adalah kegiatan ekonomi yang mengolah bahan mentah, bahan baku, barang setengah



jadi, dan/atau barang jadi menjadi barang dengan nilai yang lebih tinggi untuk penggunaannya, termasuk kegiatan rancang bangun dan perekayasaan industri.

Industri merupakan salah satu penopang perekonomian daerah. Keberadaan industri di suatu wilayah dapat membantu meningkatkan perekonomian masyarakat setempat. Namun akibat adanya proses industri, maka industri tersebut akan mengeluarkan hasil sampingan berupa limbah. Limbah apapun seharusnya tidak menjadi masalah jika dikelola dengan baik tetapi apabila karena berbagai keterbatasan maka limbah tersebut tidak dikelola maka cepat atau lambat tentu akan menimbulkan masalah (Putero dan Astuti, 2009).

Menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, industri gula adalah usaha dan/atau kegiatan di bidang pengolahan tebu menjadi gula dan turunannya yang digunakan untuk konsumsi manusia dan pakan. Pabrik gula merupakan salah satu industri yang menghasilkan limbah, baik limbah padat, gas maupun limbah cair. Limbah yang dihasilkan oleh pabrik gula ini menjadi salah satu permasalahan apabila tanpa adanya proses IPAL yang baik, karena dapat memberikan dampak negatif terhadap lingkungan. Limbah merupakan buangan hasil produksi yang kehadirannya pada waktu dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena akan memberikan pengaruh yang merugikan. Dibandingkan dengan limbah padat dan gas, limbah cair lebih menjadi sorotan karena limbah cair ini akan dibuang ke sungai yang airnya sering dimanfaatkan oleh masyarakat (Imam, 2013).

Berbagai industri saat ini, termasuk industri gula, banyak membuang limbah ke sungai tanpa ada pengolahan terlebih dahulu atau sudah dilakukan pengolahan tetapi masih belum memenuhi baku mutu limbah cair yang sudah ditetapkan oleh pemerintah, dengan demikian limbah tersebut dapat mengganggu lingkungan sekitarnya. Dalam proses produksi gula dari tanaman tebu yang

diproses sampai menjadi gula kasar atau gula murni hingga mempunyai nilai jual yang tinggi, memiliki hasil samping produk berupa limbah. Limbah yang dihasilkan berupa limbah padat yaitu ampas tebu dari proses penggilingan dan penyaringan kotoran setelah dari proses pemerasan tebu, juga limbah cair yang berasal dari air pendingin kondensor baromatik, air pendingin, air proses dari pencucian pada penghilangan warna, pencucian endapan saringan tekan, dan air cuci peralatan pabrik (Isyuniarto *et al.*, 2007).

Molase (tetes tebu) merupakan hasil samping dari industri pengolahan gula yang masih mengandung gula cukup tinggi (Sebayang, 2006). Menurut Yusma (1999), molase adalah bahan yang mengandung sakarida, merupakan produk samping dari industri gula yang diperoleh setelah sakarosanya dikristalkan dan dipisahkan dari sari gula tebu. Kandungan dari molase antara lain: sukrosa 55%, gula mereduksi 18,27%, abu sulfat 12,74%, pol 29,25% dan brick 81,27%. Ada dua jenis molase yang berasal dari industri yaitu: *Black Strap Molase*, merupakan sisa sari kristalisasi gula tebu, jenis ini mengandung kadar gula sebesar 60% dan *Light Test Molase*, merupakan sisa penguapan sari gula tebu, kadar gulanya lebih rendah.

Tabel 1. Komposisi Molase (Dellweg, 1983 dalam Widyanti, 2010)

| Komponen | Analisa | Kandungan (%) |
|--|------------------|---------------|
| Air | Gravimetri | 20 |
| Senyawa organik gula: | | |
| a) Sakarosa | Somoghi – Nelson | 32 |
| b) Glukosa | Somoghi – Nelson | 14 |
| c) Fruktosa | Somoghi – Nelson | 16 |
| d) Senyawa nitrogen | Kjeldahl | 10 |
| Senyawa anorganik: | | |
| a) SiO ₂ | Titrimetri | 0,5 |
| b) K ₂ O | Titrimetri | 3,5 |
| c) CaO | Titrimetri | 1,5 |
| d) MgO | Titrimetri | 0,1 |
| e) P ₂ O ₅ | Titrimetri | 0,2 |
| f) Na ₂ O | Titrimetri | - |
| g) Fe ₂ O ₃ | Titrimetri | 0,2 |
| h) Al ₂ O ₃ | Titrimetri | - |
| i) Residu soda dan karbonat (sebagai CO ₂) | | 1,6 |
| j) Residu sulfat (sebagai SO ₃) | | 0,4 |

Menurut Dellweg (1983) dalam Widyanti (2010), molase masih mempunyai kandungan gula tinggi. Komposisi molase dapat dilihat pada Tabel 1.

2.3 Jaringan Pengolahan Limbah

Perkembangan industri dan teknologi diberbagai bidang kehidupan selain meningkatkan kualitas hidup manusia juga memberikan dampak lain terhadap kelangsungan lingkungan hidup yaitu berupa pencemaran. Untuk mencegah terjadinya pencemaran lingkungan yang tidak diinginkan, maka pemerintah mengeluarkan suatu standar baku mutu untuk buangan limbah, khususnya untuk limbah cair yang cukup ketat, sehingga mendorong pelaku-pelaku industri untuk mencari dan menggunakan teknologi pengolahan limbah yang ekonomis dan berdaya guna tinggi (Indriyati dan Susanto, 2009).

Salah satu sistem pengendalian pencemaran yang banyak diterapkan untuk pengolahan limbah adalah menggunakan Instalasi Pengolahan Limbah (IPAL). IPAL yang merupakan sistem pengolahan limbah untuk menghasilkan limbah yang memenuhi syarat baku mutu. Dalam menjalankan fungsinya IPAL harus berpedoman kepada Peraturan Pemerintah No 82 tahun 2001 yang mengatur pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran (Tugiyono *et al.*, 2009).

Menurut Einstein (2011), pengolahan limbah bertujuan untuk menetralkan air dari bahan-bahan tersuspensi dan terapung, menguraikan bahan organik *biodegradable*, meminimalkan bakteri patogen, serta memperhatikan estetika dan lingkungan. Pengolahan air limbah dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu : secara alami dan secara buatan. Pengolahan air limbah secara alamiah dapat dilakukan dengan pembuatan kolam stabilisasi. Dalam kolam stabilisasi, air limbah diolah secara alamiah untuk menetralisasi zat-zat pencemar sebelum air

limbah dialirkan ke sungai. Kolam stabilisasi yang umum digunakan adalah kolam anaerobik, kolam fakultatif (pengolahan air limbah yang tercemar bahan organik pekat), dan kolam maturasi (pemusnahan mikroorganisme patogen). Karena biaya yang dibutuhkan murah, cara ini direkomendasikan untuk daerah tropis dan sedang berkembang. Sedangkan pengolahan air limbah dengan buantan alat dilakukan pada IPAL. Pengolahan ini dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu *primary treatment* (pengolahan pertama), *secondary treatment* (pengolahan kedua), dan *tertiary treatment* (pengolahan lanjutan). *Primary treatment* merupakan pengolahan pertama yang bertujuan untuk memisahkan zat padat dan zat cair dengan menggunakan filter (saringan) dan bak sedimentasi. Beberapa alat yang digunakan adalah saringan pasir lambat, saringan pasir cepat, saringan multimedia, *percoal filter*, *microstaining*, dan *vacum filter*. *Secondary treatment* merupakan pengolahan kedua, bertujuan untuk mengkoagulasikan, menghilangkan koloid, dan menstabilisasikan zat organik dalam limbah. *Tertiary treatment* merupakan lanjutan dari pengolahan kedua, yaitu penghilangan nutrisi atau unsur hara, khususnya nitrat dan posfat, serta penambahan klor untuk memusnahkan mikroorganisme patogen.

Menurut Agustinus *et al.*, (2014), pabrik gula juga menghasilkan limbah yang bersifat cair. Limbah cair yang berasal dari ceceran-ceceran beberapa proses seperti pemerasan tebu, penjernihan nira, pencucian alat-alat pemasak nira dan pembersihan alat-alat pengkristalan disalurkan lewat saluran tertutup dari unit proses pembuatan gula masuk melalui semburan limbah cair ke dalam unit *cooling tower* sederhana yang terbuat dari anyaman bambu. Di unit *cooling tower* ini terjadi penurunan suhu air limbah dari suhu sekitar 60°C menjadi 30°C selanjutnya masuk ke dalam bak tampung *inlet*. Contoh skema instalasi pengolahan air limbah pada pabrik gula dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Contoh Skema Instalasi Pengolahan Air Limbah Pada Pabrik Gula (Tugiyono *et al.*, 2009).

2.4 Bakteri

2.4.1 Definisi Bakteri

Menurut Nasution (2012), bakteri merupakan mikroorganisme yang tersebar luas di alam baik di udara, air dan di dalam tanah. Bakteri merupakan organisme uniseluler, pada umumnya tidak berklorofil, ada beberapa yang fotosintetik dan produksi aseksualnya secara pembelahan. Bakteri mempunyai ukuran sel kecil dimana setiap selnya hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop.

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa *Deoxyribose Nucleid Acid* (DNA), tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Harniza, 2009).

2.4.2 Morfologi Bakteri

Bakteri termasuk dalam golongan prokariotik uniseluler, tidak mempunyai selubung inti, pada umumnya mempunyai ukuran sel $(0,5-1,0) \mu\text{m} \times (2,0-5,0) \mu\text{m}$, dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, batang atau basil dan spiral. Pada umumnya tidak memiliki klorofil namun ada diantaranya yang berklorofil sehingga mampu berfotosintesis yaitu sianobakteri. Bakteri melakukan reproduksi secara aseksual dengan pembelahan biner (Dwidjoseputro,1985).

Menurut Yuwono (2013), bakteri berukuran antara $(0.1 - 600) \mu\text{m}$ mulai dari seukuran virus terbesar (seukuran *poxviruses*) misalnya *Mycoplasma* yang berdiameter $(100-200) \text{nm}$ dan mencapai sel tunggal yang mampu dilihat dengan mata telanjang misalnya bakteri *Epulopiscium fishelsoni* $80 \mu\text{m}$ (sedikit lebih kecil dari titik/huruf tebal pada printer). Ukuran rata-rata bakteri sebesar *Escherichia coli* yaitu $(1-1.5 \times 2.0-6.0) \mu\text{m}$. Bakteri juga memiliki beragam bentuk yaitu:

a) Kokus (*coccus*):

- 1) *Cocci* (jika tunggal disebut *coccus*) berbentuk sferis misalnya *Chlamydia trachomatis*.
- 2) *Diplococci* yaitu *cocci* yang tetap berpasangan setelah membelah misalnya *Neisseria gonorrhoeae*.
- 3) *Streptococci* yaitu *cocci* yang gagal memisah setelah pembelahan tetapi tetap membentuk rangkaian (rantai) misalnya *Streptococcus spp.*
- 4) Tetrad yaitu *cocci* yang gagal memisah setelah pembelahan, membentuk grup dalam bentuk empat persegi misalnya *Micrococcus luteus*.
- 5) *Sarcinae* yaitu *cocci* yang gagal memisah setelah pembelahan tetapi membentuk grup dalam bentuk delapan persegi misalnya *Sarcina spp.*
- 6) *Staphylococci* yaitu *cocci* yang gagal memisah setelah pembelahan, membentuk rangkaian seperti buah anggur yaitu *Staphylococcus aureus*.

b) *Basilus (bacillus)*:

- 1) *Bacilli* (jika tunggal disebut *bacillus*) yaitu berbentuk batang/silinder dengan variasi bentuk seperti *rod*, *tapered rod*, *staff*, *cigar*, *oval* dan *curved*. Contoh-contoh bakteri basilus: *Bacillus anthracis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Vibrio cholerae* (*curved rod*).
- 2) *Diplobacilli (paired rods)* yaitu bacilli yang tetap berpasangan setelah membelah.
- 3) *Streptobacilli* yaitu *bacilli* yang gagal memisah setelah pembelahan membentuk rangkaian sel misalnya *Bacillus megaterium*.
- 4) *Coccobacilli* sebenarnya masih membingungkan (*ambiguous designation*) sebab basil ini pendek dan lebih mirip cocci misalnya *Bordetella pertussis*.

c) *Spiral*

- 1) *Comma* yaitu berbentuk lengkung setengah lingkaran. Misalnya: *Vibrio comma* atau *Vibrio cholerae*.
- 2) *Spirillum* yaitu berupa lengkung lebih dari setengah lingkaran. Misalnya: *Spirillum minor*.
- 3) *Spirochaeta* yaitu berbentuk lengkung seperti kumparan yang halus dan lentur. Misalnya: *Treponema pallidum*.

2.4.3 Klasifikasi Bakteri

Berdasarkan komposisi dinding sel, bakteri dibedakan atas dua golongan yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang memberi respon berwarna biru keunguan jika dilakukan uji pewarnaan gram, karena pada bakteri gram positif memiliki kandungan peptidoglikan > 50 %, memiliki asam teikoat, polimer yang bersifat asam yang mengandung ribitol fosfat atau gliserol fosfat. Sedangkan bakteri gram negatif memberikan respon warna merah disebabkan memiliki kandungan lapisan

membran luar, yang meliputi peptidoglikan, kehadiran membran ini menyebabkan dinding sel bakteri kaya akan lipida (11-22%) polisakarida dan protein (Pelczar dan Chan, 1986 dalam Musdalifah, 2013). Bakteri diklasifikasikan menjadi empat kelompok yaitu aerob obligat (tumbuh jika persediaan oksigen banyak), aerob fakultatif (tumbuh jika oksigen cukup, juga dapat tumbuh secara anaerob), anaerob obligat (tumbuh jika tidak ada oksigen) dan anaerob fakultatif (tumbuh jika tidak ada oksigen juga dapat tumbuh secara aerob) (Supardi, 1999 dalam Nasution, 2012).

Menurut Harniza (2009), klasifikasi diperlukan untuk memahami beberapa kelompok organisme. Tes biokimia, pewarnaan gram, merupakan kriteria yang efektif untuk klasifikasi. Hasil pewarnaan mencerminkan perbedaan dasar dan kompleks pada sel bakteri (struktur dinding sel), sehingga dapat membagi bakteri menjadi 2 kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

a) Bakteri gram negatif

- Bakteri Gram Negatif Berbentuk Batang (*Enterobacteriaceae*).

Bakteri gram negatif berbentuk batang habitatnya adalah usus manusia dan binatang. *Enterobacteriaceae* meliputi *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*). Beberapa organisme seperti *Escherichia coli* merupakan flora normal dan dapat menyebabkan penyakit, sedangkan yang lain seperti salmonella dan shigella merupakan patogen yang umum bagi manusia.

- Pseudomonas, Acinobacter dan Bakteri Gram Negatif Lain.

Pseudomonas aeruginosa bersifat invasif dan toksigenik. Mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh dan merupakan patogen nosokomial yang penting.

- *Vibrio Campylobacter*, *Helicobacter*, dan bakteri lain yang berhubungan.

Mikroorganisme ini merupakan spesies berbentuk batang Gram-negatif yang tersebar luas di alam. *Vibrio* ditemukan di daerah perairan dan permukaan air. *Aeromonas* banyak ditemukan di air segar dan terkadang pada hewan berdarah dingin.

- *Haemophilus*, *Bordetella*, dan *Brucella*.

Gram negatif *Hemophilis influenza* tipe b merupakan patogen bagi manusia yang penting.

- *Yersinia*, *Fransicisella* dan *Pasteurella*.

Berbentuk batang pendek gram-negatif yang pleomorfik. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif, dan merupakan bakteri anaerob fakultatif.

b) Bakteri gram positif

- Bakteri gram positif pembentuk spora : Spesies *Bacillus* dan *Clostridium*.

Kedua spesies ini terdapat dimana-mana, membentuk spora, sehingga dapat hidup di lingkungan selama bertahun-tahun. Spesies *Basillus* bersifat aerob, sedangkan *Clostridium* bersifat anaerob obligate.

- Bakteri Gram-positif Tidak Membentuk Spora: Spesies *Corynebacterium*, *Listeria*, *Propionibacterium*, *Actinomycetes*.

Beberapa anggota genus *Corynebacterium* dan kelompok *Propionibacterium* merupakan flora normal pada kulit dan selaput lender manusia.

- *Staphylococcus*.

Berbentuk bulat, biasanya tersusun bergerombol yang tidak teratur seperti anggur. Beberapa spesies merupakan anggota flora normal pada

kulit dan selaput lendir, yang lain menyebabkan supurasi dan bahkan sepsis fatal. *Staphylococcus* yang patogen sering menghemolisis darah, mengkoagulasi plasma dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler. Tipe *Staphylococcus* yang berkaitan dengan medis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*.

- *Streptococcus*.

Merupakan bakteri gram-positif berbentuk bulat yang mempunyai pasangan atau rantai pada pertumbuhannya. Beberapa streptococcus merupakan flora normal manusia tetapi lainnya bisa bersifat patogen pada manusia. Ada 20 spesies diantaranya : *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, dan jenis *Enterococcus*.

2.5 Biofilm

Menurut Buana dan Wardani (2014), biofilm merupakan suatu bentuk adaptasi bakteri yang menempel pada suatu permukaan, berkoloni, dan menyelubungi dirinya sendiri dalam suatu matriks. Sifat alami dari biofilm yang lebih resisten terhadap antimikroba sehingga sulit untuk dihilangkan. Mayoritas bakteri (menguntungkan ataupun tidak) seringkali dijumpai dalam bentuk biofilmnya. Biofilm adalah suatu komunitas sel bakteri yang terstruktur dan saling menempel, bakteri-bakteri tersebut mampu memproduksi matriks polimer dan mampu melekat pada permukaan biologis maupun benda mati. Formasi ini membuat bakteri pembuat biofilm mampu bertahan terhadap lingkungan ekstrim yang membahayakan bakteri tersebut. Bakteri di dalam biofilm mampu bertahan terhadap antibiotik, desinfektan, bahkan mampu tahan terhadap sistem imun hospesnya (Oliveira *et al.*, 2006).

Biofilm terbentuk ketika mikroorganisme seperti bakteri menempel pada suatu permukaan pada lingkungan yang lembab dan mulai mensekresikan suatu lendir yang dapat melekatkannya pada berbagai jenis benda seperti logam, plastik, pasir, partikel tanah dan jaringan. Biofilm terdiri dari sel mikroorganisme dan *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) (Chasanah, 2007).

Pelekatan biofilm ke substratnya didukung berbagai faktor diantaranya oleh matrik ekstrasellular (Kokare *et al.*, 2009). Biofilm berkembang pada permukaan yang terbilas dalam lingkungan berair, baik permukaan biotik (tanaman air, binatang), maupun abiotik (batu, logam, dan tembok). Biofilm terbentuk sangat cepat dalam sistem yang mengalir dimana suplai makanan yang teratur cukup tersedia. Polimer ekstrasellular yang dihasilkan dalam perkembangan biofilm, menyebabkan terlihatnya lapisan berlendir pada permukaan (Jamilah *et al.*, 2004).

Biofilm merupakan pertumbuhan mikroorganisme secara terstruktur pada permukaan padatan sehingga membentuk lapisan tipis. Proses pembentukan biofilm bakteri melalui 3 tahapan, yaitu tahap pelekatan bakteri pada permukaan padatan (*attachment*), kolonisasi, dan tahap pertumbuhan biofilm (Piatek *et al.*, 2009). Pada tahap pelekatan, bakteri mendekati permukaan melalui gaya elektrostatis maupun gaya fisika. Pada umumnya, ketersediaan nutrisi, suhu air dan laju alir cairan yang memadai serta karakteristik bakteri seperti adanya flagela dan permukaan sel yang terasosiasi dengan polisakarida atau protein mempercepat proses pelekatan. Setelah bakteri berasosiasi satu sama lainnya membentuk mikrokoloni. Beberapa dari sel bakteri terikat secara permanen pada permukaan material melalui pembentukan EPS terdiri dari sejumlah besar protein, polisakarida, asam nukleat dan fosfolipid. EPS berfungsi sebagai penghubung antar permukaan sel dan menjadi inisiasi pada pembentukan biofilm. Terbentuknya biofilm sebagai strategi bagi mikroorganisme

untuk mempertahankan populasinya karena adanya EPS mencegah difusi senyawa-senyawa toksik yang membahayakan serta mengatur pertumbuhan sel (Sastrawidana dan Sukarta, 2013).

2.6 Peranan Bakteri Dalam Penanganan Limbah

Mikroorganisme mempunyai peran penting dalam sejumlah proses penanganan limbah. Hal utama dalam pengolahan limbah cair adalah pengembangan dan pemeliharaan kultur mikroorganisme yang cocok. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme terpenting dalam penanganan limbah cair. Bakteri yang berkembang di air kotor ada 2 macam yaitu bakteri aerob dan anaerob. Bakteri aerob adalah bakteri yang membutuhkan oksigen bebas untuk keperluan hidupnya dalam menguraikan zat organik menjadi senyawa sederhana dan tidak berbahaya, sedangkan bakteri anaerob adalah bakteri yang tidak memerlukan oksigen untuk keperluan hidupnya dalam menguraikan zat organik menjadi senyawa sederhana dan biasanya tidak dikehendaki karena menimbulkan gas dan bau busuk. Keefektifan proses pengolahan air limbah tergantung pada perubahan-perubahan biokimiawi yang dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme khususnya bakteri, jadi semakin banyak bakteri yang terdapat dalam suatu sistem pengolahan limbah cair maka proses pendegradasian bahan-bahan yang terjadi juga akan semakin cepat (Chasanah, 2007).

Menurut Carawan (1979) dalam Megasari *et al.*, (2012), bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang mampu melaksanakan proses metabolisme benda-benda organik sehingga merupakan bagian yang terpenting dalam rantai makanan dan pengolahan air limbah. Bakteri akan mensintesis unsur-unsur organik yang terlarut dalam air tetapi tidak semua unsur organik dapat digunakan oleh bakteri, oleh sebab itu partikel-partikel organik berukuran lebih besar disintesa oleh protozoa. Bakteri dan mikroba tersebut akan

teraklimatisasi terhadap cairan limbah dan memudahkan proses penghilangan bahan cemaran. Bioremediasi adalah penggunaan agen-agen biologik untuk menetralkan tanah dan air tercemar menjadi zat-zat yang tidak berbahaya bagi lingkungan atau kesehatan manusia (Waluyo, 2005). Salah satu cara untuk mendegradasi limbah yang ramah lingkungan ialah menggunakan teknologi bioremediasi (Adityanto, 2007).

Menurut Dwipayana dan Ariesyady (2009), bakteri yang didapatkan dari hasil identifikasi pada lumpur hasil pengolahan limbah cat yaitu, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium* dan *Pseudomonas fluorescens*. Menurut Megasari *et al.*, (2012), keragaman bakteri yang teridentifikasi pada proses pengolahan limbah cair industri minuman dengan lumpur aktif ada lima jenis yaitu *Bacillus sp*, *Acinetobacter sp*, *Staphylococcus sp*, *Cardiobacterium sp*, dan *Mycoplasma sp*. Bakteri yang diidentifikasi dari lumpur pengolahan limbah cair industri minuman kemungkinan besar merupakan bakteri yang berperan dalam degradasi limbah cair industri minuman. Dari hasil isolasi dan identifikasi limbah daduk tebu, didapatkan lima genus bakteri, yaitu *Cellulomonas sp.*, *Cellvibrio sp.*, *Cytophaga sp.*, *Microccus sp.* dan *Pseudomonas sp.* (Ekawati *et al.*, 2012).

2.7 Parameter Kualitas Air Limbah

2.7.1 Parameter Fisika

A. Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan yang dapat menembus dan menyebar ke berbagai tempat di muka bumi. Pengukuran suhu atau temperatur air menjadi hal yang mutlak dilakukan dalam penelitian ekosistem akuatik. Hal ini disebabkan karena kelarutan berbagai jenis gas di dalam air serta semua

aktivitas biologis di dalam ekosistem akuatik sangat dipengaruhi oleh suhu (Lestariyanti, 2014).

Suhu mempunyai pengaruh besar terhadap kelarutan oksigen. Jika suhu naik maka kandungan oksigen dalam air menurun. Perbedaan suhu 5°C sudah cukup untuk mematikan organisme perairan, terutama jika limbah datang serentak (seperti halnya limbah pabrik) (Handayani *et al.*, 2012). Menurut Siregar (2009), di negara-negara tropis, suhu air limbah biasanya berada dalam kisaran yang menguntungkan bagi proses pengolahan biologi, yaitu antara 20°C – 30°C.

2.7.2 Parameter Kimia

A. *Power of Hydrogen* (pH)

Menurut Lestariyanti (2014), derajat keasaman atau pH (*power of hydrogen*) merupakan logaritma dari kepekatan ion-ion H (hidrogen) yang terlepas dalam suatu cairan. Angka indeks yang umum digunakan mempunyai kisaran antara 0 hingga 14 dengan ketentuan sebagai berikut :

- a) Angka pH 7 = air bersifat netral
- b) Angka pH >7 = air bersifat basa
- c) Angka pH <7 = air bersifat asam

Menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, baku mutu air limbah adalah ukuran batas atau kadar unsur pencemar dan jumlah unsur pencemar yang ditenggang keberadaannya dalam air limbah yang akan dibuang atau dilepas ke dalam sumber air dari suatu usaha atau kegiatan. Baku mutu air limbah untuk parameter pH bagi industri gula dengan kapasitas kurang dari 2.500 ton tebu yang diolah per hari yaitu 6,0 – 9,0.

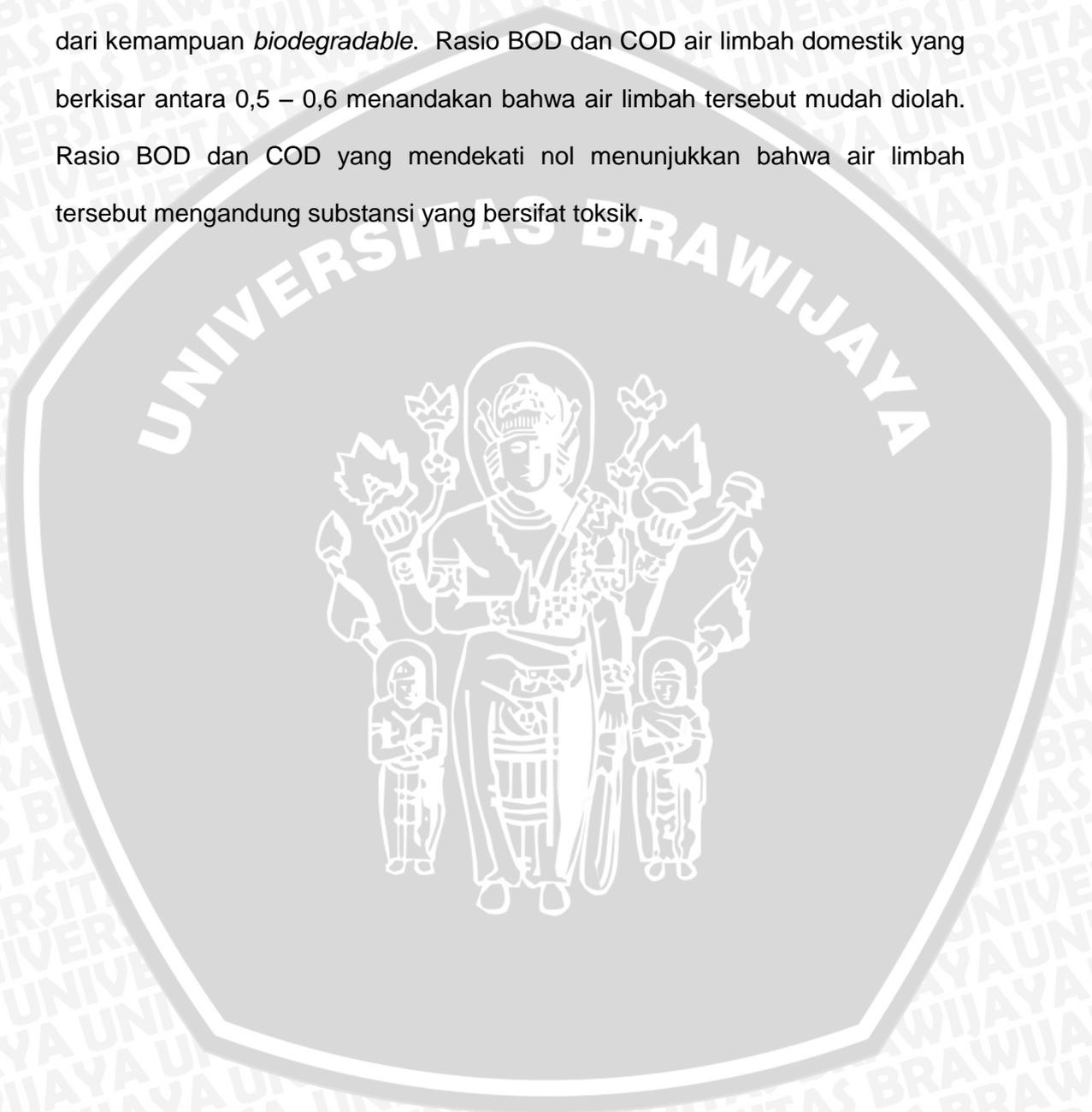
B. **Biochemical Oxygen Demand (BOD)**

Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas, sehingga bila ketersediaannya di dalam air tidak mencukupi kebutuhan biota air, maka segala aktifitas biota akan terhambat. Nilai BOD menyatakan jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme aerobik dalam proses penguraian senyawa organik. Angka indeks BOD yang semakin besar di suatu perairan menunjukkan semakin besar pula tingkat pencemaran di suatu perairan tersebut. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi nilai BOD menunjukkan semakin banyak jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk menguraikan senyawa organik yang mengindikasikan banyak limbah atau senyawa organik yang terdapat dalam air. BOD yang tinggi akan menurunkan kandungan-kandungan oksigen terlarut didalam air karena akan digunakan oleh mikroorganisme aerobik dalam proses penguraian senyawa organik (Lestariyanti, 2014). Menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, baku mutu air limbah untuk parameter BOD bagi industri gula dengan kapasitas kurang dari 2.500 ton tebu yang diolah per hari yaitu sebesar 60 mg/L.

C. **Chemical Oxygen Demand (COD)**

Menurut Lumaela *et al.*, (2013), *Chemical Oxygen Demand (COD)* merupakan jumlah total oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik secara kimiawi. Sumber COD berasal dari kegiatan industri kertas, penyamakan kulit, gula, pemotongan daging, pengalengan ikan, pembekuan udang, roti, susu, keju, dan mentega, limbah domestik dan lain-lain. Limbah rumah tangga dan industri merupakan sumber utama limbah organik dan merupakan penyebab utama tingginya konsentrasi COD, selain itu limbah peternakan juga menjadi penyebab tingginya konsentrasi COD.

Menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, baku mutu air limbah untuk parameter COD bagi industri gula dengan kapasitas kurang dari 2.500 ton tebu yang diolah per hari yaitu sebesar 100 mg/L. Menurut Siregar (2009), rasio BOD dan COD merupakan indikasi pertama dari kemampuan *biodegradable*. Rasio BOD dan COD air limbah domestik yang berkisar antara 0,5 – 0,6 menandakan bahwa air limbah tersebut mudah diolah. Rasio BOD dan COD yang mendekati nol menunjukkan bahwa air limbah tersebut mengandung substansi yang bersifat toksik.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah bakteri dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang yang meliputi jenis dan kelimpahan bakterinya serta kualitas air yang meliputi parameter fisika (suhu) dan parameter kimia (pH, BOD, COD).

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan mengambil sampel langsung dari pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Desa Kreet Senggrong, Kecamatan Bululawang, Kabupaten Malang kemudian melakukan kultur di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan identifikasi bakteri di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang serta analisis kualitas air limbah di Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I, Malang yang dilaksanakan pada bulan Januari 2015. Pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Desa Kreet Senggrong, Kecamatan Bululawang, Kabupaten Malang terletak pada koordinat 8^o7'15" LS dan 112^o38'37" BT pada ketinggian ± 420 m di atas permukaan laut (Googe Earth, 2015). Peta lokasi penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dan eksperimen. Menurut Marzuki (1983) dalam Suryanto dan Subarijanti (2009), sifat umum dari bentuk metode deskriptif yaitu mengumpulkan, menyusun, menganalisa dan menafsirkan data kemudian diadakan klasifikasi atau dibandingkan antara satu kelompok data dengan kelompok data yang lain. Metode deskriptif dalam penelitian ini yaitu menganalisa kualitas air limbah dan mengklasifikasi atau mengidentifikasi bakteri dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang Malang. Sedangkan metode eksperimen dalam penelitian ini yaitu melakukan uji biokimia pada saat melakukan identifikasi bakteri. Penelitian eksperimen bertujuan untuk meneliti kemungkinan sebab akibat dengan mengenakan satu atau lebih kondisi perlakuan pada satu atau lebih kelompok eksperimen dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (Michael, 1977 dalam Setyanto, 2012).

Pengambilan sampel bakteri dari biofilm dilakukan pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang. Kemudian sampel bakteri tersebut dikultur dan dihitung jumlah koloninya serta diidentifikasi di laboratorium. Sedangkan sampel air limbah langsung dianalisis di Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I, Malang.

3.5 Sumber Data

Data yang diambil dalam penelitian ini meliputi data primer dan data sekunder. Menurut Mulyanto (2008), data primer adalah data yang didapat dari sumber pertama, survei dilakukan bila data sudah ada di sasaran penelitian. Data primer dalam penelitian ini dari hasil observasi dan partisipasi aktif. Data primer yaitu jenis bakteri yang didapatkan pada saat kultur. Sedangkan data

sekunder adalah data primer yang diperoleh pihak lain (telah diolah) dan disajikan baik oleh pengumpul maupun pihak lain (Mulyanto, 2008). Data sekunder diperoleh dari jurnal, internet serta kepustakaan penunjang lain.

3.6 Tahapan Penelitian

3.6.1 Pembuatan Natrium Fisiologis

Natrium Fisiologis (Na Fis) digunakan sebagai pelarut swab dan digunakan dalam proses pengenceran. Menurut Nugraha (2012), langkah-langkah yang perlu dilakukan agar didapatkan Na Fis sebanyak 100 ml, yaitu:

- Menimbang NaCl dengan timbangan digital sebanyak 0,9 gram,
- Memasukkan 0,9 gram NaCl ke dalam beaker glass 250 ml,
- Menambahkan aquades sebanyak 100 ml lalu dihomogenkan,
- Memasukkannya ke dalam erlenmeyer 250 ml,
- Menutupnya dengan kapas,
- Membungkusnya dengan kertas koran,
- Mengikatnya dengan tali,
- Mensterilisasinya dalam autoklaf selama 15 menit,
- Mengeluarkannya dari autoklaf dan didapatkan Na steril 100 ml.

Rumus perhitungan NaCl = $(0,9/100) \times \sum \text{tabung reaksi} \times 10 \text{ ml aquades}$.

Perhitungan di atas adalah perhitungan berapa gram NaCl yang dibutuhkan agar didapatkan Na Fis 100 ml.

3.6.2 Pengambilan Sampel Bakteri Dari Biofilm

Sampel bakteri diambil dengan menggunakan teknik swab. Menurut Buku Teknik Pengambilan Contoh Kurikulum 2013, teknik swab (*swab technique*)

bertujuan untuk memperoleh mikroorganisme yang umumnya menempel pada permukaan suatu benda, langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan, antara lain:
 - a) 1 buah *swap stick* steril,
 - b) Pelarut *swap* (*extraction fluid*) dengan menggunakan Na Fisiologis atau Na steril 10 ml,
 - c) Transek logam steril (*sterile metal guide*) (5 x 5) cm² atau (10 x 10) cm²,
 - d) *Glass beads*.
- Membasahi *swap stick* dengan pelarut,
- Mengoleskan *swap stick* di seluruh permukaan dengan menggerakkan sambil memutar *stick* membujur dan melintang,
- Memasukkan *swap stick* ke dalam botol dan diaduk,
- Mengocoknya ± 25 kali,
- Didapatkan sampel bakteri dari biofilm yang sudah diencerkan.

Keterangan : jika memakai teknik swab sudah termasuk pengenceran tingkat 10^{-1} .

3.6.3 Pengenceran

Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Menurut Ekawati *et al.*, (2012), langkah-langkah pengenceran yaitu sebagai berikut:

- Sampel bakteri dari biofilm yang sudah diencerkan (10^{-1}) sebanyak 10 ml,
- Mengambil sampel bakteri dari biofilm yang sudah diencerkan (10^{-1}) sebanyak 1 ml dengan pipet serologis,
- Meletakkan pada tabung reaksi (10^{-2}) yang berisi Na Fis 9 ml dan dihomogenkan,

- Dari tabung reaksi (10^{-2}), mengambil sampel bakteri dari biofilm yang sudah diencerkan (10^{-2}) sebanyak 1 ml dengan pipet serologis,
- Meletakkannya pada tabung reaksi (10^{-3}) yang berisi Na Fis 9 ml dan dihomogenkan,
- Mengulangi langkah ke empat dan ke lima sampai pengenceran tingkat 10^{-5} ,
- Didapatkan sampel yang siap dikultur atau ditanam (yang ditanam sampel pada tingkat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5}).

Keterangan : Setiap pengenceran dari tabung reaksi satu ke tabung reaksi yang lain harus menggunakan pipet serologis yang berbeda untuk meminimalisir perpindahan bakteri pada tiap pengenceran dan didekatkan dengan bunsen agar tidak mengalami kontaminasi.

3.6.4 Pembuatan Media Kultur

Media kultur yang digunakan yaitu media padat *Nutrient Agar* (NA). Menurut Sarah *et al.*, (2010), langkah – langkah yang perlu dilakukan agar didapatkan media NA adalah sebagai berikut:

- Menimbang NA dengan timbangan digital sebanyak 2,76 gram,
- Memasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml,
- Menambahkan aquades sebanyak 120 ml,
- Menghomogenkan,
- Menutupnya dengan kapas,
- Membungkusnya dengan kertas koran,
- Mengikatnya dengan tali,
- Mensterilisasinya dalam autoklaf selama 15 menit,
- Mengeluarkannya dari autoklaf dan didapatkan hasil media NA.

Rumus perhitungan NA = $(23/1000) \times \sum \text{cawan} \times 20 \text{ ml aquades} = 2,76 \text{ gram NA}$.

Keterangan: Perhitungan di atas adalah perhitungan berapa gram NA yang dibutuhkan untuk penanaman bakteri. $\sum \text{cawan} = 6 \text{ cawan}$, karena ditanam dengan teknik duplo.

Setiap sampel/spesimen minimal diambil ganda (*double/duplo*) untuk menjaga kemungkinan penyimpanan berbeda, menghindari bila jumlah atau berat sampel/spesimen kurang, menghindari terjadinya kerusakan pada sampel/spesimen serta untuk analisa tertentu yang membutuhkan pengulangan (Keputusan Kepala Badan Karantina Pertanian Nomor 2897 Tahun 2007).

3.6.5 Kultur Atau Penanaman Bakteri

Kultur atau penanaman bakteri dilakukan dengan metode tuang. Menurut Novendra (2013), langkah – langkah yang perlu dilakukan dalam mengkultur atau menanam bakteri dengan metode tuang adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan media NA (20 ml) dalam keadaan masih hangat dan tidak terlalu panas,
- Memasukkan media NA yang masih hangat bersamaan dengan sampel bakteri (sebanyak 1 ml yang sudah diencerkan dari masing-masing pengenceran) ke dalam cawan petri yang steril,
- Meratakan dengan cara digoyang membentuk angka delapan,
- Menutup cawan petrinya,
- Menunggu sampai beku,
- Setelah beku, kemudian cawannya dibalik agar uap airnya tidak menetes,
- Membungkusnya dengan kertas koran,
- Mengikatnya dengan tali,

- Menginkubasinya pada suhu ruang (28°C - 32°C) selama 48 jam di dalam inkubator,
- Mengeluarkannya dari inkubator dan didapatkan hasil kultur berupa koloni-koloni.

3.6.6 Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri

Setelah diinkubasi akan terbentuk koloni pada cawan petri yang digunakan untuk kultur bakteri dalam jumlah yang dapat dihitung. Jumlah yang terbaik antara (30 – 300) koloni. Penghitungan jumlah koloni bakteri dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya metode hitungan cawan (*Total Plate Count*) (Untung, 2012). Cara menghitung jumlah koloni bakteri yaitu:

- Mengambil cawan yang berisi koloni-koloni hasil kultur bakteri dari inkubator,
- Menghitung koloni bakteri dengan menggunakan *coloni counter*,
- Setelah didapatkan jumlah koloninya, lalu dihitung jumlah bakteri dengan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*), rumus :

$$\text{Jumlah koloni bakteri} = \sum \text{koloni} \times [1 / \text{faktor pengenceran}] \text{ (CFU/ml)}$$

Keterangan :

CFU = Coloni Forming Unit

3.6.7 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni (Ekawati *et al.*, 2012). Isolasi bakteri dilakukan dengan memilih 3 koloni yang mendominasi dari masing-masing kultur. Langkah-langkah yang perlu dilakukan dalam mengisolasi bakteri adalah sebagai berikut:

- Memasukkan media NA (20 ml) ke dalam cawan petri yang sudah steril,
- Mendinginkan pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$,
- Mengambil 1 koloni bakteri dari media penanaman dengan jarum loop,
- Menggoreskan pada media NA steril ($\pm 45^{\circ}\text{C}$) dengan metode gores (zig zag) dan dilakukan secara aseptis,
- Menginkubasinya pada suhu ruang ($28^{\circ}\text{C} - 32^{\circ}\text{C}$) selama 48 jam di dalam inkubator,
- Mengeluarkannya dari inkubator dan didapatkan sub biakan bakteri untuk bahan identifikasi bakteri.

3.6.8 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan cara pengamatan makroskopis, pewarnaan mikroskopis dan uji biokimia.

a) Pengamatan Makroskopis

Menurut Ekawati *et al.*, (2012), dari hasil isolasi bakteri, dapat langsung diamati karakter dari masing-masing jenis bakteri. Karakter yang diamati dalam pengamatan makroskopis antara lain: warna, bentuk, tepian, elevasi permukaan, karakteristik optik dan diameter koloni.

b) Pengamatan Mikroskopis

Menurut Ekawati *et al.*, (2012), pengamatan mikroskopis meliputi: bentuk sel dan pengamatan hasil pewarnaan gram (gram positif dan gram negatif). Pewarnaan gram merupakan pewarnaan yang banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi guna pencirian dan identifikasi bakteri. Pewarnaan gram dibagi menjadi kelompok gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu karena bakteri tersebut mengikat

kompleks zat warna kristal ungu-iodium, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah karena mengikat zat warna sekunder yang berwarna merah.

Langkah-langkah yang harus dilakukan dalam pewarnaan gram yaitu:

- Kaca objek dibersihkan dengan alkohol 70 %,
- Mengambil 1 koloni bakteri hasil isolasi dari cawan petri dengan menggukkan jarum loop,
- Meletakkan koloni tersebut pada kaca objek,
- Memfiksasinya di atas bunsen,
- Menetesinya dengan kristal ungu (1 tetes), menunggu selama 1 menit,
- Membilasnya dengan aquades,
- Menetesinya dengan iodium (1 tetes), menunggu selama 2 menit,
- Membilasnya dengan aquades,
- Membilasnya dengan etanol 70 %,
- Membilasnya dengan aquades,
- Menetesinya dengan safranin (1 tetes), menunggu selama 0,5 menit,
- Membilasnya dengan aquades, lalu menutupnya dengan kaca penutup,
- Mengamatinya dengan menggunakan mikroskop,
- Didapatkan hasil kemudian mengklasifikasinya, tergolong bakteri gram positif atau bakteri gram negatif.

c) Uji Biokimia

Uji biokimia digunakan untuk mengamati karakteristik fisiologis bakteri yang telah ditemukan. Pada bakteri gram positif, uji biokimianya dilakukan dengan menggunakan *Bergeys Manual of Bacteriology*, sedangkan pada bakteri gram negatif, uji biokimianya dilakukan dengan menggunakan *Microbact Identification Kits*.

❖ *Bergeys Manual Of Bacteriology*, Megasari et al., (2012), langkah-langkahnya yaitu:

- Untuk menentukan identifikasi bakteri gram positif menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Eighth Edition* dan *Cowan and Steel's Manual For The Identification of Medical Bacteria Third Edition*.

❖ *Microbact Identification Kits*, menurut Ekawati et al., (2012), langkah-langkahnya yaitu:

- Mengambil 1-3 koloni dari masing-masing isolat bakteri terpilih menggunakan jarum loop,
- Mensuspensikannya dengan 10 ml Na fisiologis,
- Mengambil suspensi bakteri sebanyak 100 µl (4 tetes),
- Memasukkannya pada masing-masing sumuran *Microbact Identification Kits*,
- Menginkubasinya di etalase bakteri pada suhu 35°C selama 24 jam,
- Mengamati perubahan warna yang terbentuk,
- Mencocokkan hasil uji fisiologis dengan karakteristik fisiologis bakteri yang terdapat pada buku panduan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*,
- Didapatkan hasil identifikasi bakteri.

3.7 Analisa Kualitas Air Limbah

3.7.1 Parameter Fisika

A. Suhu

Suhu selain diukur dengan menggunakan thermometer, juga bisa diukur dengan menggunakan pH meter. Cara mengukur suhu menggunakan pH meter menurut Istianto (2012), adalah sebagai berikut:

- Mengkalibrasi alat pada skala nol,
- Mencilupkan pH meter ke perairan,
- Melihat skala dan menekan tombol "HOLD" untuk menghentikan angka yang muncul pada pH meter,
- Mencatat hasil nilai suhunya.

3.7.2 Parameter Kimia

A. *Power of Hydrogen* (pH)

pH diukur dengan menggunakan pH meter. Cara mengukur pH menggunakan pH meter menurut Istianto (2012), adalah sebagai berikut:

- Mengkalibrasi alat pada skala nol,
- Mencilupkan pH meter ke perairan,
- Melihat skala dan menekan tombol "HOLD" untuk menghentikan angka yang muncul pada pH meter,
- Mencatat hasil nilai pHnya.

B. *Biochemical Oxygen Demand* (BOD)

Analisis *Biological Oxygen Demand* (BOD) atau kebutuhan oksigen biologis adalah suatu analisa empiris yang mencoba mendekati secara global proses-proses mikrobiologis yang terjadi didalam air. Angka BOD adalah jumlah

oksigen yang dibutuhkan oleh bakteri untuk mendegradasi hampir semua zat organik yang terlarut termasuk zat organik yang tersuspensi didalam air (Isyuniarto *et al.*, 2007). Prosedur analisa BOD yang dilakukan oleh Jasa Tirta menggunakan DO meter, adapun alat penunjang analisa yaitu: botol inkubasi, inkubator dengan suhu 20°C, DO meter, gelas ukur 250 ml dan tabung aerasi. Sedangkan untuk bahannya yaitu: larutan buffer fosfat, larutan MgSO₄, larutan CaCl₂, larutan FeCl₃·6H₂O dan seed. Prosedur kerjanya yaitu:

- Mengambil sejumlah sampel air yang akan diuji,
- Mengencerkan sampel air dengan aquades, kemudian diaduk dengan menggunakan stirrer,
- Memasukkan sampel air ke dalam botol inkubasi,
- Memasang DO meter kemudian diukur sampel air yang terdapat di botol inkubasi,
- Mencatat hasil pembacaan skala sebagai DO hari ke-0,
- Memasukkan botol inkubasi yang berisi sampel air ke dalam inkubator,
- Membiarkan selama 5 hari,
- Mencatat hasil pembacaan skala sebagai DO hari ke-5,
- Menghitung kadar BOD dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{BOD} = \frac{(\text{DO}_0 - \text{DO}_5) - (\text{DO}_{\text{B-0}} - \text{DO}_{\text{B-5}}) \cdot F}{P}$$

Keterangan:

DO₀ = jumlah DO hari ke-0

DO₅ = jumlah DO hari ke-5

DO_{B-5} = jumlah DO blanko hari ke-5

DO_{B-0} = jumlah DO blanko hari ke-0

F = perbedaan seed dalam sampel dan seed dalam blanko

P = desimal faktor pengenceran

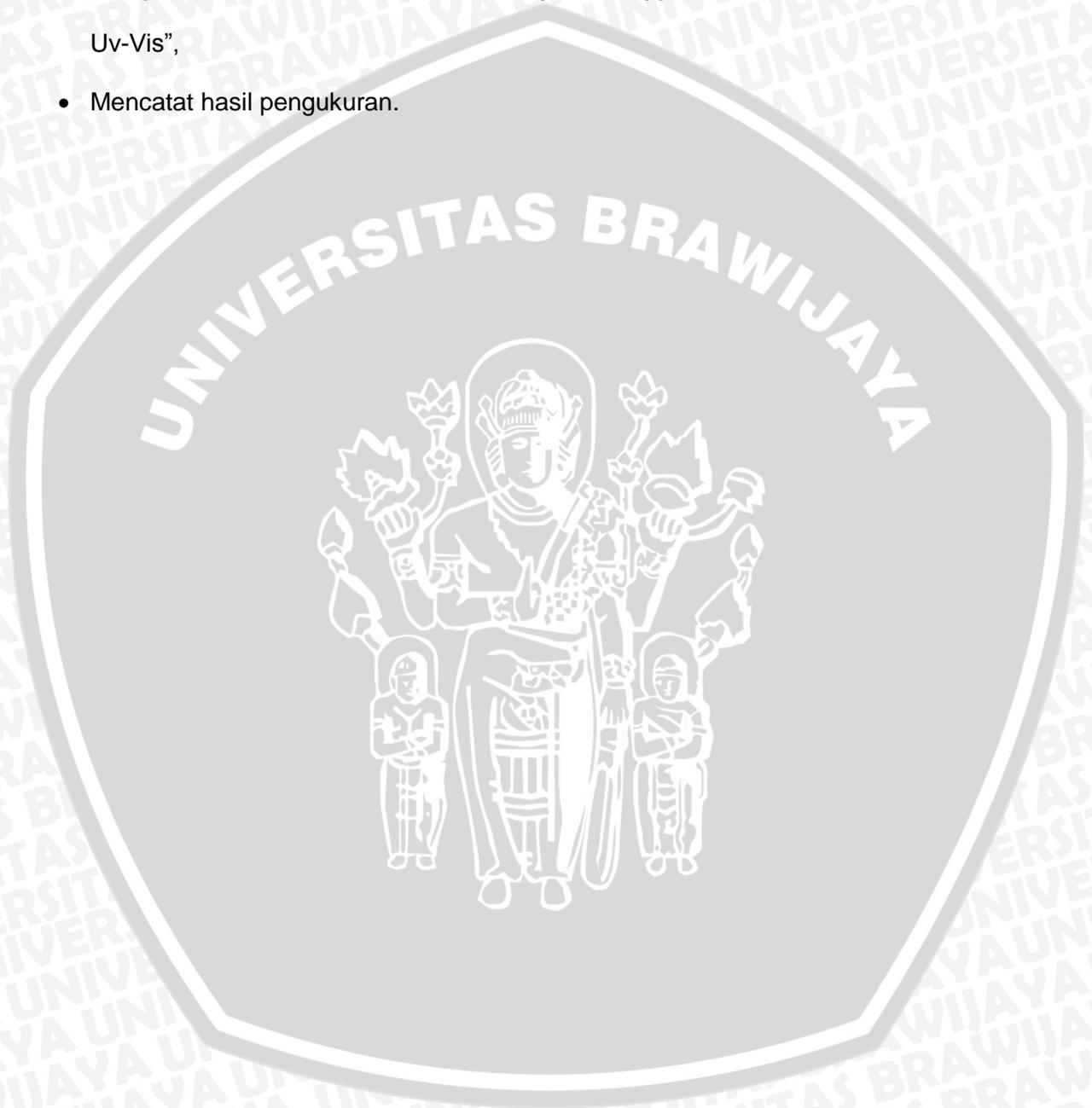
- Mencatat hasil perhitungan sebagai kadar BOD.

C. **Chemical Oxygen Demand (COD)**

Chemical Oxygen Demand (COD) atau kebutuhan oksigen kimia adalah jumlah oksigen (mg O_2) yang dibutuhkan untuk mengoksidasi zat-zat organik yang ada dalam 1 liter sampel air, dimana pengoksidasian $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ digunakan sebagai sumber oksigen (*Oxidizing agent*). Angka COD merupakan ukuran bagi pencemar air oleh zat-zat organik secara alamiah dapat dioksidasi melalui proses mikrobiologis dan mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut di dalam air. COD dihasilkan dari penambahan senyawa kimia dalam proses sulfitasi atau pemurnian gula (Isyuniarto *et al.*, 2007). Prosedur analisa COD yang dilakukan oleh Jasa Tirta menggunakan "Spektrofotometer Uv-Vis", adapun alat penunjang analisa yaitu: gelas ukur, pipet mikro, spektrofotometer Uv-Vis, pemanas reaktor COD Techne 8310. Sedangkan untuk bahannya yaitu: larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{-HgSO}_4$, larutan $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-AgSO}_4$ dan larutan standar pro COD. Prosedur kerjanya yaitu:

- Menyiapkan bahan,
- Melakukan pembuatan larutan induk,
- Melakukan pembuatan larutan standar COD,
- Mengkalibrasi,
- Penerimaan bahan,
- Menyiapkan sampel air yang diuji,
- Menambahkan 2,5 ml blanko, sampel air yang diuji dan larutan standar COD,
- Menambahkan 1,5 ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{-HgSO}_4$,
- Menambahkan 3,5 ml $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-AgSO}_4$, kemudian dikocok,

- Memanaskan dengan menggunakan pemanas reaktor COD Techne 8310 dengan suhu $\pm 150^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam,
- Mendinginkan sampel air pada suhu kamar,
- Mengukur konsentrasi sampel air dengan menggunakan "Spektrofotometer Uv-Vis",
- Mencatat hasil pengukuran.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Pabrik gula PT. Tlogo Kelang dibangun di atas lahan seluas 9.800 m² pada jalur yang strategis, tepat di lingkungan lahan tebu sebagai bahan baku utamanya yakni terletak di Desa Krebet Senggrong, Kecamatan Bululawang, Kabupaten Malang (Profil Tlogo Kelang, 2011). Pabrik gula ini terletak pada koordinat 8°7'15" LS dan 112°38'37" BT pada ketinggian ± 420 m di atas permukaan laut (Google Earth, 2015).



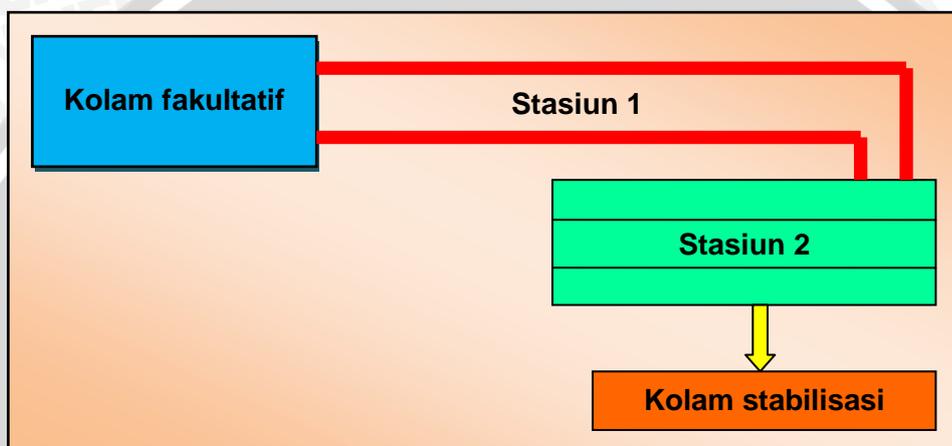
Gambar 2. Pabrik Gula PT. Tlogo Kelang

Menurut Profil Tlogo Kelang (2011), pabrik gula PT. Tlogo Kelang adalah pabrik gula merah modern dengan kapasitas produksi 1000 TCD. Perusahaan ini merupakan perintis industri gula merah di Indonesia dengan sistem penguapan *close pan* yang dijalankan secara tradisional diawali pada tahun 2006 sampai dengan tahun 2010, design kapasitas produksi pada saat itu hanya 50 TCD. Dalam kurun waktu tersebut merupakan pembelajaran dan proses riset dalam rangka menyusun studi kelayakan secara nyata dan sebagai tujuan untuk perencanaan pembangunan industri gula merah dengan kapasitas yang lebih besar dan lebih sistematis. Produk sampingannya adalah nira kental dan bagas.

Selama ini perusahaan ini menyuplai industri kecap yg berbahan baku gula merah tebu, MSG yg berbahan baku nira kental dan pabrik kertas yg berbahan baku bagas. Pabrik gula PT. Tlogo Kelang dapat dilihat pada Gambar 2.

4.2 Deskripsi Stasiun Pengambilan Sampel

Pelaksanaan penelitian ini ditetapkan pada dua stasiun pengambilan sampel. Denah stasiun pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah Stasiun Pengambilan Sampel

4.2.1 Stasiun 1

Stasiun 1 terletak di sebelah kanan pabrik tetapi masih di dalam lingkup perusahaan. Stasiun 1 ini merupakan selokan yang berupa saluran dari bak atau kolam fakultatif menuju ke bak aerasi. Limbah di stasiun 1 ini tergolong limbah cair yang berasal dari kolam fakultatif. Menurut Samina *et al.*, (2013), kolam fakultatif berfungsi mengolah limbah cair yang bersumber dari efluen kolam anaerobik, dimana pada lapisan dasar yang berperan menguraikan zat organik yang terkandung pada air limbah adalah bakteri anaerobik, pada lapisan bagian tengah adalah bakteri fakultatif sedangkan pada lapisan atas yang berperan adalah bakteri aerobik. Biofilm yang diambil di stasiun 1 yaitu pada bagian tepi yang masih tergenang air limbah dan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Stasiun 1

4.2.2 Stasiun 2

Stasiun 2 juga terletak di sebelah kanan pabrik dan masih di dalam lingkup perusahaan yang bersebelahan dengan stasiun 1. Stasiun 2 ini disebut juga dengan bak aerasi yang merupakan tempat untuk mengolah limbah dari selokan (stasiun 1) dan sebelum limbah dialirkan ke bak atau kolam stabilisasi. Limbah di stasiun 1 ini tergolong limbah cair. Menurut Indriyati dan Susanto (2009), sub unit bak aerasi digunakan sebagai wadah bercampurnya dan bereaksinya elemen reaksi seperti mikroba, organik terurai dan oksigen. Biofilm yang diambil di stasiun 2 yaitu pada bagian tepi sebelah kanan yang masih tergenang air limbah dan dapat dilihat pada Gambar 5. Biofilm yang diambil baik di stasiun 1 maupun di stasiun 2 yaitu pada bagian tepi, tidak di bagian dasar karena keterbatasan alat dan metode yang kita punya.



Gambar 5. Stasiun 2

4.3 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri Pada Masa Inkubasi 48 Jam

Koloni bakteri akan tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA) dalam cawan petri setelah dilakukan penanaman bakteri dan setelah diinkubasi selama 48 jam. Penghitungan jumlah koloni bakteri dapat dilakukan dengan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*). Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada masa inkubasi 48 jam dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri Pada Masa Inkubasi 48 Jam

| Sampel | Pengenceran | | | | | | Total TPC (CFU/ml) |
|--------|------------------|------|------------------|------|------------------|----|------------------------|
| | 10 ⁻³ | | 10 ⁻⁴ | | 10 ⁻⁵ | | |
| | A | B | A | B | A | B | |
| S.1 | TBUD | TBUD | TBUD | TBUD | 28 | 63 | 63 x 10 ⁵ |
| S.2 | TBUD | TBUD | TBUD | TBUD | 31 | 82 | 56,5 x 10 ⁵ |

Keterangan :

- Rumus TPC = $\sum \text{koloni} \times [1 / \text{faktor pengenceran}]$
- CFU = Coloni Forming Unit
- TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung
- A dan B = dilakukan secara duplo
- S.1 = stasiun 1
- S.2 = stasiun 2

Cara perhitungan jumlah koloninya dapat dilihat pada Lampiran 3.

Gambar koloni bakteri pada masa inkubasi 48 jam baik pada sampel stasiun 1 maupun sampel stasiun 2 dapat dilihat pada Lampiran 4.

Jumlah koloni bakteri yang ditemukan dalam sampel di stasiun 1 pada tingkat pengenceran 10⁻⁵ yaitu sebesar 63 x 10⁵ CFU/ml sedangkan jumlah koloni bakteri yang ditemukan dalam sampel di stasiun 2 pada tingkat pengenceran 10⁻⁵ yaitu sebesar 56,5 x 10⁵ CFU/ml. Jumlah koloni bakteri yang ditemukan dalam sampel di stasiun 1 lebih banyak jika dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri yang ditemukan dalam sampel di stasiun 2, hal itu dikarenakan suhu di stasiun 2 lebih tinggi daripada suhu di stasiun 1. Tinggi rendahnya suhu dapat mempengaruhi kehidupan bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kristiawan

et al., (2014), suhu tinggi akan menyebabkan kehidupan bakteri menjadi kurang optimal.

Jumlah koloni pada sampel di stasiun 1 dan stasiun 2 pada tingkat pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} tidak perlu dihitung karena jumlah koloninya tidak masuk range (30 – 300 koloni) dan TBUD. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dwipayana dan Ariesyady (2009), yang meneliti jumlah koloni yang didapatkan dari hasil metode cawan tuang pada sampel lumpur hasil pengolahan limbah cat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Koloni Bakteri Yang Didapat Dari Hasil Metode Cawan Tuang Pada Sampel Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat

| No. | Tingkat Pengenceran | Jumlah Koloni (CFU/ml) |
|-----|---------------------|-------------------------------------|
| 1 | 10^{-1} | <i>Too Numerous To Count</i> (TNTC) |
| 2 | 10^{-2} | TNCT |
| 3 | 10^{-3} | TNCT |
| 4 | 10^{-4} | TNCT |
| 5 | 10^{-5} | 207 |
| 6 | 10^{-6} | 21 |
| 7 | 10^{-7} | 0 |

Jumlah koloni yang dapat dijadikan acuan untuk penentuan jumlah koloni bakteri per ml sampel adalah jumlah koloni yang berkisar antara 30-300, yaitu pada pengenceran 10^{-5} . Pada bakteri dengan jumlah koloni lebih dari 300, pertumbuhan bakteri terlalu padat dan mengakibatkan terjadi pertumbuhan koloni yang saling menumpuk satu sama lain sehingga tidak seluruh koloni dapat terhitung. Maka nilai tersebut dianggap tidak valid. Bila koloni bakteri yang tumbuh dengan jumlah koloni kurang dari 30, data yang didapat juga tidak valid karena pertumbuhan bakteri yang sangat sedikit dan tidak representatif.

4.4 Hasil Pengamatan Makroskopis Dan Mikroskopis Isolat Bakteri

Hasil pengamatan makroskopis bakteri didapatkan dengan cara mengamati karakteristik morfologi koloni bakteri pada media NA. Sedangkan pengamatan mikroskopis bakteri dilakukan dengan cara mengamati bentuk sel bakteri yang telah diwarnai dengan pewarnaan gram. Didapatkan 6 koloni bakteri yang berbeda. Sampel pada stasiun 1 diberi kode A, B dan C, sedangkan sampel pada stasiun 2 diberi kode D, E dan F. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 4. Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Bakteri

| Stasiun | Isolat | Karakteristik Morfologi Koloni | | | | |
|---------|--------|--------------------------------|------------|----------|---------|-------------|
| | | BENTUK | TEPI | ELEVANSI | WARNA | KONSISTENSI |
| 1 | A | Oval | Tidak Rata | Datar | Kuning | Basah |
| | B | Bulat | Rata | Cembung | Putih | Basah |
| | C | Serabut | Tidak Rata | Cembung | Krem | Kering |
| 2 | D | Oval | Rata | Cembung | Abu-abu | Basah |
| | E | Bulat | Rata | Cembung | Putih | Basah |
| | F | Bulat | Rata | Cembung | Putih | Basah |

Pada pengamatan karakteristik morfologi koloni bakteri dari sampel stasiun 1 dan sampel stasiun 2, koloni bakteri yang bentuknya oval yaitu koloni pada isolat A dan D, koloni bakteri yang bentuknya bulat yaitu koloni pada isolat B, E dan F, sedangkan pada isolat C bentuk koloninya serabut. Tepian koloni yang tidak rata yaitu koloni pada isolat A dan C, sedangkan pada isolat B, D, E dan F tepian koloninya rata. Elevansi atau permukaan koloni yang datar yaitu koloni pada isolat A, sedangkan pada isolat B, C, D, E dan F permukaan

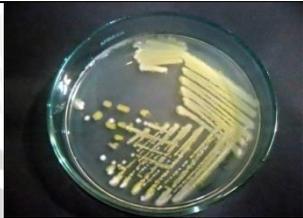
koloninya cembung. Warna koloni pada isolat A warnanya kuning, pada isolat B warna koloninya putih, pada isolat C warna koloninya krem, pada isolat D warna koloninya abu-abu, pada isolat E warna koloninya putih serta pada isolat F warna koloninya putih. Konsistensi koloni bakteri yang basah yaitu koloni pada isolat A, B, D, E dan F, sedangkan pada isolat C konsistensinya kering. Karakteristik morfologi koloni bakteri dapat diamati secara langsung dan diamati setelah mendapatkan biakan murni, hal ini sesuai dengan pendapat Kismiyati *et al.*, (2009), pengamatan morfologi koloni bakteri dilakukan setelah mendapatkan biakan murni. Pengamatan ini meliputi warna, bentuk, tepian koloni, elevasi atau permukaan koloni dan struktur dalam koloni.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri

| Parameter | Kode Isolat | | | | | |
|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Stasiun 1 | | | Stasiun 2 | | |
| | Strain A | Strain B | Strain C | Strain D | Strain E | Strain F |
| Warna koloni | Kuning | Putih | Krem | Abu-abu | Putih | Putih |
| Diameter koloni (mm) | 3,52 | 1,12 | 5,15 | 1,02 | 3,13 | 2,02 |
| Reaksi gram | Negatif | Negatif | Positif | Negatif | Negatif | Negatif |
| Bentuk sel | Batang | Batang | Batang | Batang | Batang | Batang |

Pada pengamatan mikroskopis, semua isolat (A, B, C, D, E dan F) selnya berbentuk batang. Hasil dari reaksi pewarnaan gram, semua isolat tergolong bakteri gram negatif kecuali isolat C. Menurut Kismiyati *et al.*, (2009), pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk di dalam kelompok bakteri gram positif atau kelompok bakteri gram negatif. Gambar koloni dari masing-masing strain dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Gambar Koloni Dari Masing-Masing Strain

| Stasiun | Strain | Gambar Koloni |
|---------|--------|--|
| 1 | A |  |
| | B |  |
| | C |  |
| 2 | D |  |
| | E |  |
| | F |  |

4.5 Hasil Pengamatan Uji Biokimia Isolat Bakteri

Karakteristik fisiologis bakteri dapat diamati melalui uji biokimia. Hasil pengamatan uji biokimia isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengamatan Uji Biokimia Isolat Bakteri

| Uji Biokimia | Kode Isolat | | | | | |
|-----------------------|-------------|-------|------|-----------|-------|-------|
| | Stasiun 1 | | | Stasiun 2 | | |
| | A | B | C | D | E | F |
| Spora | - | - | + | - | - | - |
| Oksidase | + | + | + | - | - | - |
| Motilitas | + | + | - | + | + | - |
| Nitrat | + | + | + | + | + | + |
| Lysin | - | + | + | - | - | + |
| Ornithin | - | + | + | + | - | - |
| H ₂ S | - | - | - | - | - | - |
| Glukosa | - | - | - | - | + | + |
| Manitol | - | - | - | - | + | + |
| Xylosa | - | - | - | - | + | + |
| ONPG | + | + | + | + | + | + |
| TSIA | Alk/Alk | As/As | TDK | As/As | As/As | As/As |
| Indole | - | - | - | - | - | - |
| Urease | - | - | - | + | + | + |
| V-P | - | - | - | + | + | - |
| Sitrat | + | - | - | + | + | - |
| TDA | + | + | + | - | - | + |
| Gelatin | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Malonat | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Inositol | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Rhamnosa | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Sukrosa | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Lactosa | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Arabinosa | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Adonitol | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Raffinosa | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Salicin | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Arginin | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Katalase | + | - | + | TDK | TDK | TDK |
| Koagulase | - | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Novobiocin Resistance | TDK | - | - | TDK | TDK | TDK |
| Hemolisisin | TDK | TDK | alpa | beta | beta | beta |

Keterangan :

- + = hasil uji positif
- = hasil uji negatif
- TDK = tidak diuji
- Alk/As (Alkalin/Asam) = laktose atau sukrosa fermentasi
- As/As (Asam/Asam) = glukosa dan laktosa atau sukrosa terfermentasi
- Alk/Alk (Alkalin/Alkalin) = gula yang tidak terfermentasi
- α = hemolisis sebagian
- β = hemolisis total
- ONPG = *O-Nitro-Phenyl-β-D-Galactopyranose*
- TSIA = *Triple Sugar Iron Agar*
- V-P = *Voges-Proskauer*
- TDA = *Triptofan Deaminase*



Hasil pengamatan uji biokimia pada uji pembentukan spora, hanya isolat C yang dapat membentuk spora, sedangkan isolat A, B, D, E dan F tidak dapat membentuk spora karena isolat A, B, D, E dan F termasuk bakteri gram negatif. Hal ini sesuai dengan pendapat Lay (1994) dalam Litaay *et al.*, (2007), bakteri gram negatif tidak dapat membentuk spora. Spora dibentuk oleh bakteri untuk melindungi diri dari lingkungan yang tidak menguntungkan, diantaranya kekurangan sumber karbon, energi atau fosfat, adanya bahan bersifat toksik, temperatur yang tidak sesuai atau kondisi kekeringan yang dapat memicu pembentukan spora. Lapisan luar dari spora dapat tahan pada kondisi fisik dan bahan kimia sehingga spora sukar diwarnai sedangkan sel vegetatif tidak tahan pada kondisi tersebut.

Hasil pengamatan uji biokimia mengenai uji enzim yaitu pada uji oksidase, uji katalase, uji urease dan uji koagulase. Dalam uji oksidase, pada isolat A, B dan C terdapat enzim oksidase, sedangkan pada isolat D, E dan F tidak terdapat enzim oksidase karena uji oksidase digunakan untuk mengetahui keberadaan enzim oksidase pada bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Kismiyati *et al.*, (2009), tujuan uji oksidase adalah untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan *paper oksidase* yang dapat dilihat perubahan warna yang terjadi pada *paper oksidase*. Pada uji katalase, bakteri pada isolat A dan C bersifat katalase positif, sedangkan bakteri pada isolat B bersifat katalase negatif karena uji katalase digunakan untuk melihat kemampuan bakteri tertentu dalam menghasilkan enzim katalase yang penting untuk pertumbuhan bakteri aerobik. Hal ini sesuai dengan pendapat Lazuardi *et al.*, (2013), kebanyakan bakteri menggunakan enzim katalase untuk memecahkan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Enzim katalase penting untuk pertumbuhan bakteri aerobik karena H_2O_2 yang dihasilkan dengan bantuan berbagai enzim pernafasan bersifat racun atau toksik bagi bakteri. Mekanisme enzim katalase

memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik H_2O_2 yang dihasilkannya sendiri. Bakteri katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen sedangkan pada bakteri katalase negatif tidak menghasilkan gelembung-gelembung. Hal ini berarti H_2O_2 yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri tersebut sehingga tidak menghasilkan oksigen.

Uji enzim selanjutnya yaitu uji urease, pada isolat A, B dan C bersifat negatif karena setelah diuji dengan indikator *phenol red* warna pada medianya tidak berubah menjadi merah, sedangkan pada isolat D, E dan F bersifat positif karena setelah diuji dengan indikator *phenol red* warna pada medianya berubah menjadi merah karena bakteri pada isolat D, E dan F dapat menghidrolisis urea dan membentuk amonia. Hal ini sesuai dengan pendapat Usman (2015), Uji urea bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memiliki enzim urease. Bakteri tertentu dapat menghidrolisis urea dan membentuk amonia dengan menimbulkan warna merah karena indikator *phenol red*. Terbentuknya amonia menyebabkan nilai pH menjadi alkali sehingga jika uji urea terjadi warna merah muda pada media berarti tes positif.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji koagulase, bakteri pada isolat A, B dan C hasilnya negatif karena setelah dilakukan uji tabung tidak terbentuk jelly, sedangkan bakteri pada isolat D, E dan F tidak dilakukan pengujian. Hal ini sesuai dengan pendapat Lay (1994) dalam Dewi (2013), uji tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 μ l plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 koloni biakan yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur hati-

hati. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk *clot* atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung. Menurut Bruckler *et al.*, (1994) dalam Dewi (2013), uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Produksi koagulase adalah kriteria yang paling umum digunakan untuk identifikasi sementara *S. aureus*. Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *S. aureus* dengan spesies *staphylococcus* yang lain. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Oleh karena itu peran koagulase yang dihasilkan oleh *S. aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji *novobiocin resistance*, bakteri pada isolat B dan C hasilnya negatif karena setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan media *Muller Hinton* tidak menimbulkan zona bening disekitar disk, sedangkan pada isolat A, D, E dan F tidak dilakukan pengujian. Hal ini sesuai dengan pendapat Nazhifah *et al.*, (2013), uji novobiocin dilakukan dengan cara 1 ose suspensi bakteri ditanam pada media *Muller Hinton* kemudian diletakkan disk novobiocin diatas media *Muller Hinton*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Adanya daerah bening disekitar disk menunjukkan hasil positif. Menurut Hardjoeno (2007) dalam Raihana (2011), tes novobiocin, uji katalase dan uji koagulase digunakan untuk identifikasi bakteri kokus. Tes novobiocin digunakan untuk sensitifitas terhadap bakteri *Staphylococcus* dengan membentuk zona bening disekitar agar dan tes ini dilakukan dengan cara difusi pada agar.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji *O-Nitro-Phenyl-β-D-Galactopyranose* (ONPG), bakteri pada semua isolat (isolat A, B, C, D, E dan F) hasilnya positif karena setelah dilakukan pengujian hasilnya bakteri pada semua isolat mempunyai enzim β -galaktosidase yang dapat menghidrolisis ONPG. Hal ini sesuai dengan pendapat Arrizal *et al.*, (2013), bakteri yang hasil uji ONPGnya positif maka bakteri tersebut mempunyai enzim β -galaktosidase sehingga mampu menghidrolisis ONPG.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji *Triptofan Deaminase* (TDA), bakteri pada isolat A, B, C dan F hasilnya positif karena setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan *TDA reagent* menghasilkan warna coklat, yang berarti bakteri pada isolat A, B, C dan F termasuk bakteri yang memiliki enzim *tryptophan deaminase*, sedangkan bakteri pada isolat D dan E hasilnya negatif karena setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan *TDA reagent* tidak menghasilkan warna coklat, yang berarti bakteri pada isolat D dan E termasuk bakteri yang tidak memiliki enzim *tryptophan deaminase*. Hal ini sesuai dengan pendapat Arrizal *et al.*, (2013), tes negatif pada uji TDA, karena bakteri tidak memiliki enzim *tryptophan deaminase*, sehingga tidak dapat membentuk asam *indolepyruvate* dari tryptophan yang menghasilkan warna coklat dengan adanya ion *ferric* dari *TDA reagent*, ini merupakan suatu reaksi negatif.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji motilitas, bakteri pada isolat A, B, D dan E bersifat motil, sedangkan bakteri pada isolat C dan F bersifat non motil karena bakteri pada isolat A, B, D dan E dapat bergerak atau berpindah dan bakteri pada isolat C dan F tidak dapat bergerak atau berpindah. Bakteri dapat bergerak atau berpindah karena mempunyai flagel. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (1986) dalam Litaay *et al.*, (2007), uji motilitas bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan bakteri, yang dimungkinkan oleh adanya flagel. Sifat motilitas atau pergerakan bakteri dapat

diketahui dengan melihat adanya pertumbuhan bakteri yang merambat disekitar tusukan ose dalam medium. Motilitas bakteri disebabkan oleh perpindahan yang disebut taksis yang dipicu oleh adanya stimulus dan faktor lingkungan tertentu (Singleton, 1992 *dalam* Litaay *et al.*, 2007).

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji indole, bakteri pada semua isolat (isolat A, B, C, D, E dan F) tidak memproduksi indole karena pada permukaan biakan setelah ditetesi dengan reagen Kovac's permukaan biakan atau mediumnya tidak berwarna merah yang berarti bakteri tidak dapat membentuk indole dari asam amino triptofan sebagai sumber energi. Hal ini sesuai dengan pendapat Lay (1994) *dalam* Litaay *et al.*, (2007), hasil uji indole yang ditandai dengan lapisan warna merah pada permukaan medium setelah ditetesi dengan reagen Kovac's, menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut mampu menggunakan senyawa triptofan sebagai sumber karbon. Asam amino triptofan merupakan asam amino yang lazim terdapat pada protein sehingga mudah digunakan oleh mikroorganisme. Kemampuan untuk menghidrolisis triptofan menjadi indol tidak dapat dilakukan oleh semua bakteri dan karenanya dapat dijadikan ciri fisiologis. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan penambahan reagen Kovac's yang mengandung amil alkohol, akan bereaksi dengan indol yang terbentuk dari triptofan, sehingga menyebabkan terbentuknya lapisan merah pada permukaan medium.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji nitrat, bakteri pada semua isolat (isolat A, B, C, D, E dan F) bersifat positif karena setelah ditetesi dengan reagen uji warnanya menjadi merah atau merah muda dan terbentuk gelembung gas. Hal ini sesuai dengan pendapat Lazuardi *et al.*, (2013), nitrat dapat berfungsi sebagai akseptor hidrogen terminal untuk proses transport elektron yang menghasilkan energi. Reaksi nitrit dapat tertimbun dalam larutan biak dan tidak terjadi pembentukan N_2 . Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah

atau merah muda setelah penambahan reagen uji, yang menunjukkan nitrat telah tereduksi menjadi nitrit. Dan jika terbentuk gelembung gas, hal ini menunjukkan nitrit tereduksi menjadi gas nitrogen. Sedangkan uji negatif memberikan hasil uji yang sebaliknya yakni tidak terjadi perubahan warna dan tidak terbentuk gas.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji lysin, bakteri pada isolat B, C dan F hasilnya positif karena setelah diuji terjadi perubahan warna menjadi warna lembayung, sedangkan bakteri pada isolat A, D dan E hasilnya negatif karena setelah diuji hasilnya ditandai dengan warna kuning pada media. Hal ini sesuai dengan pendapat Sarapi *et al.*, (2014), prosedur kerja uji *lysine dekarboksilas*, disiapkan media *Lysin Iron Agar* (LIA) sebanyak 6 ml, lalu media dimasukkan ke dalam tabung Hach. Media disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilkan, media dibuat menjadi media miring. Kemudian bakteri diinokulasikan dengan cara ditusukkan dan digoreskan pada media LIA miring. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bila terjadi perubahan warna pada media menjadi lembayung, sedangkan negatif ditandai dengan warna kuning pada media. Menurut Usman (2015), *Lysin Iron Agar* (LIA) mengandung glukosa, asam amino lisin, dan brom kresol ungu sebagai pH indikator, serta natrium tiosulfat. LIA dapat digunakan untuk identifikasi mikroba penghasil enzim yang mampu mendekarboksilasi asam amino lisin dan memproduksi gas H₂S.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji ornithin, bakteri pada isolat B,C dan D hasilnya positif karena setelah diuji medianya berwarna ungu, sedangkan bakteri pada isolat A, E dan F hasilnya negatif karena warna pada medianya berubah menjadi kekuningan. Hal ini sesuai dengan pendapat Usman (2015), uji ornithin bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengurai ornithin

(asam amino) menjadi amine. Hasil positif jika media berwarna ungu dan hasil negatif jika warna berubah menjadi kuning atau kekuningan.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji gelatin, bakteri pada isolat A, B dan C hasilnya negatif karena bakteri pada isolat A, B dan C tidak mampu menghidrolisis gelatin, sedangkan bakteri pada isolat D, E dan F tidak dilakukan pengujian. Hal ini sesuai dengan pendapat Usman (2015), uji gelatin dimana protein diperoleh dari hidrolisis kalogen. Gelatin akan terurai oleh mikrobia yang mensintesis enzim proteolisis. Larutan gelatin bersifat cair pada suhu ruang atau suhu kamar dan padat apabila berada di dalam refrigerator, apabila gelatin sudah dihidrolisis oleh mikroba maka akan tetap bersifat cair.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji H₂S, bakteri pada semua isolat (isolat A, B, C, D, E dan F) hasilnya negatif karena setelah diuji dengan menggunakan media *Triple Sugar Ion* (TSI) tidak terbentuk endapan warna hitam pada dasar media yang berarti tidak mampu membentuk H₂S. Hal ini sesuai dengan pendapat Sarapi *et al.*, (2014), prosedur kerja H₂S sebagai berikut, disiapkan media TSI, inokulasi bakteri dengan cara digores lalu ditusuk pada media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif bila terbentuk endapan warna hitam pada dasar media yang berarti bakteri mampu membentuk H₂S dan hasilnya negatif jika sebaliknya.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji *Triple Sugar Ion Agar* (TSIA), bakteri pada isolat A hasilnya Alk/Alk yang artinya bakteri pada isolat A tidak mampu memfermentasikan gula (glukosa, laktosa dan sukrosa), bakteri pada isolat B, D, E dan F hasilnya As/As yang artinya bakteri pada isolat B, D, E dan F mampu memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa, sedangkan pada isolat C tidak dilakukan uji TSIA karena tergolong bakteri gram positif. Hal ini sesuai dengan pendapat Kismiyati *et al.*, (2009), uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) bertujuan untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuan

memecahkan dextrose, laktosa, sukrosa dan pembebasan sulfida, selain itu uji TSIA berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri tersebut menghasilkan gas, H₂S atau tidak. Menurut Usman (2015), uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berasal dari kelas enterobacteriaceae. Uji ini biasa juga digunakan untuk membedakan bakteri gram negatif antara yang mampu mengkatabolisme glukosa, laktosa, sukrosa, dan mampu membebaskan asam sulfat.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji *Voges-Proskauer* (V-P), bakteri pada isolat D dan E hasilnya positif karena setelah diuji dengan cara ditetesi menggunakan *reagen* barrit A dan barrit B warna pada medianya berubah menjadi merah, sedangkan bakteri pada isolat A, B, C dan F hasilnya negatif karena setelah diuji dengan cara ditetesi menggunakan *reagen* barrit A dan barrit B warna pada medianya berubah menjadi kuning. Hal ini sesuai dengan pendapat Silalahi *et al.*, (2012), uji *voges prosekauer* dilakukan untuk mengetahui apakah dalam proses pertumbuhan organisme terbentuk asetilmetil karbinol sebagai produk antara dari proses metabolisme karbohidrat. Jika terbentuk warna merah pada medium maka akan bernilai positif dan bernilai negatif jika warna kuning.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji sitrat, bakteri pada isolat A, D dan E hasilnya positif karena setelah diuji dengan menggunakan media *Simmon's Citrate Agar* (SCA) hasilnya pada media warnanya berubah dari hijau menjadi merah keunguan, sedangkan bakteri pada isolat B, C dan F hasilnya negatif karena setelah diuji dengan menggunakan media *Simmon's Citrate Agar* (SCA) hasilnya pada media warnanya tidak berubah. Hal ini sesuai dengan pendapat Silalahi *et al.*, (2012), uji *citrat* dilakukan untuk melihat apakah mikroorganisme mampu menggunakan *citrat* sebagai satu-satunya sumber karbon. Reaksi positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah keunguan setelah inkubasi, hal ini

merupakan indikasi bahwa isolat bakteri mampu menggunakan urea dan mengubah pH menjadi media basa.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji malonat, bakteri pada isolat A, B dan C hasilnya negatif karena setelah dilakukan pengujian tidak terjadi perubahan warna, sedangkan bakteri pada isolat D, E dan F tidak dilakukan pengujian. Hal ini sesuai dengan pendapat Usman (2015), uji *malonate* ini dilakukan untuk melihat perubahan *malonate*. Jika terjadi perubahan warna dari hijau kebiru, maka uji *malonate* positif, sedangkan apabila tidak terjadi perubahan warna maka uji *malonate* negatif.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji arginin, bakteri pada isolat A, B dan C hasilnya negatif karena setelah dilakukan pengujian tidak terjadi perubahan warna, sedangkan bakteri pada isolat D, E dan F tidak dilakukan pengujian. Hal ini sesuai dengan pendapat Usman (2015), prosedur uji arginin yaitu, sampel bakteri diambil menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah muda berarti uji arginin positif, sedangkan apabila tidak terjadi perubahan warna maka uji arginin negatif.

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji fermentasi karbohidrat atau uji gula-gula meliputi uji glukosa, manitol, xylosa, inositol, rhamnosa, sukrosa, lactosa, arabinosa, adonitol, raffinosa dan salicin. Pada uji glukosa, manitol dan xylosa, bakteri pada isolat A, B, C dan D hasilnya negatif karena setelah dilakukan pengujian dan setelah diinkubasi hasil pada medianya tidak terjadi perubahan warna, sedangkan bakteri pada isolat E dan F hasilnya positif karena setelah dilakukan pengujian dan setelah diinkubasi hasil pada media warnanya berubah menjadi kuning. Pada uji inositol, rhamnosa, sukrosa, lactosa, arabinosa, adonitol, raffinosa dan salicin, bakteri pada isolat A, B dan C hasilnya negatif karena setelah dilakukan pengujian dan setelah diinkubasi hasil pada

mediannya tidak terjadi perubahan warna, sedangkan bakteri pada isolat D, E dan F tidak dilakukan pengujian. Hal ini sesuai dengan pendapat Silalahi *et al.*, (2012), uji fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis karbohidrat. Reaksi positif bila adanya perubahan warna kekuningan yang menunjukkan pembentukan asam. Menurut Kismiyati *et al.*, (2009), uji gula bertujuan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri dalam mendegradasi gula dan menghasilkan asam organik yang berasal dari tiap-tiap jenis gula, yaitu glukosa, sukrosa, maltosa, arabinosa, manitol dan inositol. Uji *Sukrosa, D-Xylose, Laktose, Maltosa, Rhamnosa, Trehalose, D-Mannitol, L-Arabinose, Dextrose, Dulcitol, Tryptose, DL-Phenylalanine, Sorbitol, Inositol, Inulin, Esculin* dan *Raffinose* (uji gula-gula) dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri melakukan fermentasi karbohidrat (Usman, 2015).

Hasil pengamatan uji biokimia pada uji hemolisis, bakteri pada isolat A dan B tidak dilakukan pengujian, bakteri pada isolat C hasilnya α yang artinya setelah dilakukan pengujian di sekitar pertumbuhan koloni terlihat zona yang tidak terlalu jernih dan disertai dengan terjadinya perubahan warna menjadi kehijauan sampai kecoklatan karena bakteri pada isolat C hanya mampu melisis eritrosit sebagian saja, sedangkan bakteri pada isolat D, E dan F hasilnya β yang artinya setelah dilakukan pengujian di sekitar pertumbuhan koloni terlihat zona bening karena bakteri pada isolat D, E dan F mampu melisis eritrosit secara sempurna. Hal ini sesuai dengan pendapat Mc Kane dan Kandel (1998) dalam Suardana *et al.*, (2014), menyatakan bahwa bakteri yang memiliki kemampuan melisis eritrosit secara sempurna sehingga membentuk zona bening di sekitar tempat pertumbuhan kuman digolongkan ke dalam β -hemolisis. Jika kerusakan yang terjadi tidak sempurna dan hanya terjadi kebocoran pada eritrosit sehingga terlihat zona yang tidak terlalu jernih dan

sering disertai dengan terjadinya perubahan warna sehingga media menjadi kehijauan sampai kecoklatan dikelompokkan sebagai α -hemolisis.

4.6 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Pada Jaringan Pengolahan Limbah Pabrik Gula

Berdasarkan serangkaian uji biokimia yang dilakukan, didapatkan beberapa jenis bakteri. Hasil identifikasi isolat bakteri pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Pada Jaringan Pengolahan Limbah Pabrik Gula

| Stasiun | Isolat | Hasil identifikasi | Pewarnaan Gram | Kebutuhan Oksigen |
|---------|--------|---------------------------------|----------------|--------------------|
| 1 | A | <i>Pseudomonas stutzeri</i> | gram negatif | aerob obligat |
| | B | <i>Vibrio alginolyticus</i> | gram negatif | anaerob fakultatif |
| | C | <i>Bacillus mycoides</i> | gram positif | aerob obligat |
| 2 | D | <i>Enterobacter cloaceae</i> | gram negatif | anaerob fakultatif |
| | E | <i>Enterobacter agglomerans</i> | gram negatif | anaerob fakultatif |
| | F | <i>Klebsiella ozaenae</i> | gram negatif | aerob obligat |

Spesies bakteri yang diperoleh dari hasil identifikasi pada sampel stasiun 1 adalah:

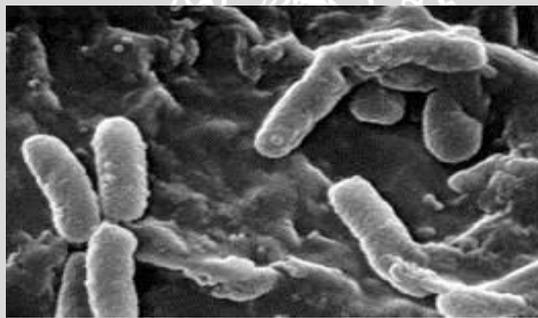
A. *Pseudomonas stutzeri*

Pseudomonas stutzeri merupakan bakteri gram negatif yang selnya berbentuk batang, koloninya berwarna kuning, ukuran diameter koloninya 3,52 mm yang bersifat motil dan oksidase positif serta tidak memproduksi indol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Grimaldi *et al.*, (2009), *Pseudomonas stutzeri* merupakan bakteri gram negatif yang dapat ditemukan di dalam tanah dan air.

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas stutzeri* menurut Sijderius (1946), adalah sebagai berikut:

| | | |
|---------|---|-----------------------------|
| Domain | : | Bacteria |
| Phylum | : | Proteobacteria |
| Class | : | Gammaproteobacteria |
| Order | : | Pseudomonadales |
| Family | : | Pseudomonadaceae |
| Genus | : | <i>Pseudomonas</i> |
| Species | : | <i>Pseudomonas stutzeri</i> |

Gambar bakteri *Pseudomonas stutzeri* dapat dilihat pada Gambar 6.



(Wishart, 2011)

Gambar 6. *Pseudomonas stutzeri*

Berdasarkan kebutuhan oksigennya, bakteri *Pseudomonas stutzeri* tergolong bakteri aerob obligat, yaitu kelompok bakteri yang memerlukan gas oksigen dalam proses respirasinya. Menurut Yahya *et al.*, (2014), *Pseudomonas stutzeri* bersifat motil dengan flagella *monotrichous*. Pada beberapa strain, flagella lateral juga diproduksi, terutama dalam kultur yang masih baru. Koloni yang baru berwarna coklat kemerahan tetapi tidak berwarna kuning. Setelah dikultur ulang, koloni berwarna pucat. Kebanyakan strain mampu menghidrolisis pati, hidrolisis kuning telur negatif. Bersifat *obligat aerobica* kecuali dalam media nitrat. Sebagian besar tumbuh pada 40°C dan 41°C, beberapa di 43°C. Tidak

dapat tumbuh pada suhu 4°C. Pertumbuhan optimum bakteri pada 35°C. Ditemukan di dalam tanah dan air, dari yang dapat diisolasi setelah pengayaan dalam media dengan nitrat dalam kondisi anaerobik pada 30°C, dengan menggunakan berbagai sumber karbon, misalnya etanol.

Pseudomonas stutzeri termasuk bakteri yang berpotensi merombak bahan cemaran organik. Hal ini sesuai dengan pendapat Anggraeni (2014), pseudomonas merupakan bakteri yang penting dalam dekomposisi secara aerobik dan biodegradasi karena memegang peranan penting dalam siklus karbon. Pseudomonas berpotensi mendegradasi bahan organik yang terdiri dari protein, lemak dan karbohidrat. *Pseudomonas stutzeri* yang mampu menghasilkan enzim amilolitik. Biodegradasi protein dilakukan oleh bakteri *Pseudomonas stutzeri* atau *Pseudomonas aeruginosa* atau *Serratia liquefaciens* dengan mengeluarkan enzim proteolitik.

B. *Vibrio alginolyticus*

Klasifikasi bakteri *Vibrio alginolyticus* menurut Miyamoto *et al.*, (1961) dalam NCBI (2004), yaitu:

| | | |
|---------|---|-----------------------------|
| Kingdom | : | Bacteria |
| Phylum | : | Proteobacteria |
| Class | : | Gammaproteobacteria |
| Order | : | Vibrionales |
| Family | : | Vibrionaceae |
| Genus | : | Vibrio |
| Species | : | <i>Vibrio alginolyticus</i> |

Gambar bakteri *Vibrio alginolyticus* dapat dilihat pada Gambar 7.



(Marry, 2014)

Gambar 7. *Vibrio alginolyticus*

Vibrio alginolyticus merupakan bakteri gram negatif, bersifat anaerob fakultatif yang selnya berbentuk batang, ukuran diameter koloninya 1,12 mm, koloninya berwarna putih, bersifat motil dan oksidase positif serta tidak memproduksi indol. Menurut Lutumas dan Pattinasarany (2010), bakteri *Vibrio alginolyticus* merupakan gram negatif yang dapat menggunakan sejumlah komponen seperti satu-satunya sumber karbon dan energi tanpa membutuhkan vitamin atau *growth factor*. Banyak juga yang hidup pada kisaran suhu 4 – 42°C dan dapat menetap selama berminggu-minggu di dalam lingkungan basah dengan sedikit atau tanpa makanan. Spesies ini bersifat fermentatif, mampu menghasilkan enzim oksidase dan katalase, sistem respirasinya secara anaerob, indol terdapat cincin merah pada batasan reagen ini menunjukkan bahwa bakteri ini bersifat positif, hasil pengujian gula dapat dilihat bahwa bakteri ini mampu memfermentasikan sebagian media gula diantaranya (glukosa, sukrosa dan manitol) sedangkan pada pengujian MR hasilnya positif dan VP hasil yang terlihat bersifat negatif.

Khususnya serangan penyakit bakterial yang sering menyerang ikan baik ditingkat pembenihan maupun pembesaran yang paling serius dan sering menyebabkan kematian pada ikan baik secara parsial ataupun massal adalah serangan bakteri *Vibrio alginolyticus*. Sampai sekarang belum ditemukan solusi

untuk mengatasi persoalan ini dengan baik. *Vibrio* diketahui terdistribusi sangat luas di lingkungan, mulai dari manusia, mamalia lainnya, sampai-sampai dijumpai pada sebagian besar vertebrata, termasuk disini menyerang berbagai organ ikan air tawar maupun ikan air laut. Habitatnya yang paling banyak pada ikan terdapat pada saluran pencernaan, kulit dan insang. Kemampuannya untuk berkolonisasi pada lingkungan yang bervariasi tergantung pada ketersediaan makanannya (Lutumas dan Pattinasarany, 2010). Menurut Nasikhin dan Shovitri (2013), *vibrio* ditemukan pada daerah perairan, baik itu air laut, payau atau tawar. Beberapa diantaranya menyebabkan gangguan klinis. Selain diketahui memiliki efek klinis, genus *Vibrio* juga dilaporkan mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon.

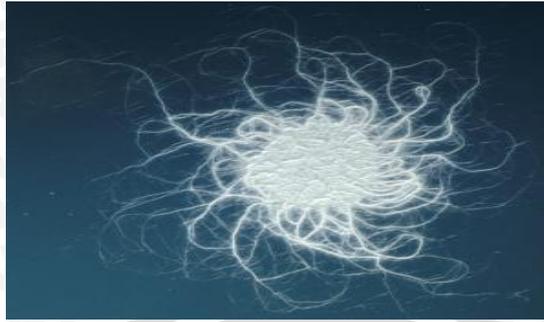
C. *Bacillus mycooides*

Klasifikasi bakteri *Bacillus mycooides* menurut Claus dan Berkeley (1986) dalam Goodwin *et al.*, (1994), adalah sebagai berikut:

| | | |
|----------|---|---------------------------|
| Kingdom | : | Bacteria |
| Division | : | Firmicutes |
| Class | : | Bacilli |
| Order | : | Bacillales |
| Family | : | Bacillaceae |
| Genus | : | Bacillus |
| Species | : | <i>Bacillus mycooides</i> |

Gambar bakteri *Bacillus mycooides* dapat dilihat pada Gambar 8.





(John, 2013)

Gambar 8. *Bacillus mycoides*

Bacillus mycoides merupakan bakteri gram positif yang bersifat aerob obligat. Sel dari bakteri ini berbentuk batang dengan diameter koloni 5,15 mm yang bersifat non motil, oksidase dan katalase positif serta tidak memproduksi indol. Hal ini sesuai dengan pendapat Holt *et al.*, (1994) dalam Yahya *et al.*, (2014), bentuk sel *Bacillus mycoides* adalah batang, dengan ukuran diameter 3,0-4,5 μm , memiliki sel tunggal, motil, pada selnya memiliki flagella, tidak ada pembentukan spora, dan termasuk gram positif serta bersifat *aerobic*.

Bacillus sp. mampu memanfaatkan bahan organik yang terkandung di dalam limbah dengan cara melepaskan enzim untuk menguraikan senyawa organik untuk menghasilkan produk sampingan berupa gas karbondioksida (CO_2), metana (CH_4), hidrogen (H_2) dan air (H_2O), serta energi sebagai penunjang aktivitas metabolisme (Retnosari dan Shovitri, 2013). Menurut Dwipayana dan Ariesyady (2009), pengolahan limbah secara biologi sering dipilih karena membutuhkan biaya yang relatif sedikit dan menghasilkan lumpur hasil pengolahan yang tidak terlalu banyak bila dibandingkan dengan pengolahan secara kimia atau fisik. Proses biodegradasi yang umum dilakukan adalah lumpur aktif, yang didefinisikan sebagai suatu proses biologi dalam pengolahan limbah cair, dimana pencampuran antara limbah cair dengan lumpur aktif diaerasi pada suatu tangki aerasi. Beberapa penelitian memperlihatkan bahwa

bakteri *Pseudomonas* sp. dan bakteri *Bacillus* sp. dapat mendegradasi zat warna.

Spesies bakteri yang diperoleh dari hasil identifikasi pada sampel stasiun 2 adalah:

D. *Enterobacter cloaceae*

Klasifikasi bakteri *Enterobacter cloaceae* menurut Humann *et al.*, (2011), adalah sebagai berikut:

| | | |
|---------|---|------------------------------|
| Domain | : | Bacteria |
| Phylum | : | Proteobacteria |
| Class | : | Gammaproteobacteria |
| Order | : | Enterobacteriales |
| Family | : | Enterobacteriaceae |
| Genus | : | Enterobacter |
| Species | : | <i>Enterobacter cloaceae</i> |

Gambar bakteri *Enterobacter cloaceae* dapat dilihat pada Gambar 9.



(John, 2015)

Gambar 9. *Enterobacter cloaceae*

Enterobacter cloaceae merupakan bakteri gram negatif dengan proses respirasinya secara anaerob fakultatif. Bakteri ini mempunyai sel yang berbentuk batang dengan diameter koloni 1,02 mm yang bersifat motil, oksidase negatif dan katalase negatif serta tidak memproduksi indol. Hal ini sesuai dengan pendapat

Humann *et al.*, (2011), *Enterobacter cloaceae* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang dan bersifat motil yang berasal dari famili "Enterobacteriaceae". *Enterobacter cloaceae* dapat hidup pada suhu 25°C – 40°C dan bersifat *facultative anaerobe* serta habitatnya yaitu di tanah. Menurut Porotu'o *et al.*, (2015), *Enterobacter cloaceae* merupakan bakteri golongan famili *Enterobacteriaceae* yang hidup di lingkungan mesofilik dengan suhu optimal 37°C. *Enterobacter cloaceae* merupakan bakteri patogen yang menyebabkan infeksi intra abdominal, *nausea*, *vomiting*, dan diare.

Menurut Dwi (1992) dalam Cahyonugroho dan Hidayah (2011), penyisihan logam khrom disebabkan oleh kedua bakteri ini (*Enterobacter cloaceae* dan *Pseudomonas fluorescens*) termasuk jenis gram negatif yang mempunyai daya toleransi terhadap logam berat lebih baik daripada bakteri yang mempunyai jenis gram positif. Prosentase penyisihan khrom pada bakteri *Enterobacter cloaceae* mempunyai kecenderungan yang hampir sama dengan bakteri yang dikonsorsium yaitu semakin besar kadar logam khrom yang digunakan semakin besar pula penyisihannya. Menurut Purwaningsih (2003) dalam Ilham *et al.*, (2014), bakteri yang berperan sebagai pelarut fosfat pada tanah telah banyak ditemukan, diantaranya berasal dari genus *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azetobacter*, *Mycrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Flovobacterium*.

E. *Enterobacter agglomerans*

Klasifikasi bakteri *Enterobacter agglomerans* menurut Ewing dan Fife (1972) dalam Young (2000), yaitu:

| | | |
|---------|---|---------------------|
| Kingdom | : | Bacteria |
| Phylum | : | Proteobacteria |
| Class | : | Gammaproteobacteria |
| Order | : | Enterobacteriales |

Family : Enterobacteriaceae
Genus : Enterobacter
Species : *Enterobacter agglomerans*

Gambar bakteri *Enterobacter agglomerans* dapat dilihat pada Gambar 10.



(John, 2010)

Gambar 10. *Enterobacter agglomerans*

Enterobacter agglomerans merupakan bakteri gram negatif yang bersifat anaerob fakultatif dengan diameter koloni 3,13 mm dan selnya berbentuk batang. *Enterobacter agglomerans* bersifat motil, oksidase negatif dan katalase negatif serta tidak memproduksi indol. *Enterobacter agglomerans* atau dikenal dengan *Pantoea agglomerans* adalah bakteri golongan famili *Enterobacteriaceae* biasanya ditemukan dan terisolasi di bahan makanan, sayuran, dan biji-bijian serta *Enterobacter agglomerans* dapat menyebabkan diare, mual, dan muntah (Porotu'o *et al.*, 2015). Menurut Mardaneh dan Dallal (2013), *Pantoea agglomerans* adalah bakteri yang berbentuk batang, bersifat motil dan tergolong bakteri gram negatif dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini biasa ditemukan di air, tanah, limbah, sayuran, bahan keruh dan bahan makanan.

Menurut Kurniasari (2005), *Enterobacter agglomerans* merupakan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, fakultatif anaerobik, memiliki ukuran lebar 0.6-1 um dan panjang 1.2-3.0 um. Sel bersifat motil, dapat tumbuh pada suhu antara 20-30°C, bundar bewarna putih kekuningan. *Enterobacter agglomerans* telah diketahui kemampuannya dalam mengkonversi gliserol menjadi 1,3

propanadiol (PPD) sebagai produk utama dan juga asam asetat, format, laktat, suksinat dan etanol sebagai produk sampingan. *Enterobacter agglomerans* juga telah diketahui kemampuannya dalam memanfaatkan substrat minyak diesel, bensin, pelumas dan minyak mentah (*crude oil*), sebagai sumber karbonnya. *Enterobacter agglomerans* mempunyai toleransi terhadap kehadiran logam berat, dalam hal ini logam seng (Zn), timbal (Pb), besi (Fe) dan merkuri (Hg).

F. *Klebsiella ozaenae*

Klasifikasi bakteri *Klebsiella ozaenae* menurut Bergey *et al.*, (1925) dalam Brisse *et al.*, (2006), yaitu:

- Kingdom : Bacteria
- Phylum : Proteobacteria
- Class : Gammaproteobacteria
- Order : Enterobacteriales
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : Klebsiella
- Species : *Klebsiella pneumonia*
- Sub species : *Klebsiella pneumonia ozaenae*

Gambar bakteri *Klebsiella pneumonia ozaenae* dapat dilihat pada Gambar 11.



(Viraguna, 2013)

Gambar 11. *Klebsiella pneumonia ozaenae*

Klebsiella ozaenae termasuk bakteri gram negatif yang bersifat aerob obligat dengan sel yang berbentuk batang dan diameter koloni 2,02 mm serta bersifat non motil. Bakteri ini tidak memproduksi indol. Hal ini sesuai dengan pendapat Kumar *et al.*, (2013), *Klebsiella ozaenae* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang bersifat non motil dan *aerobic* yang dapat ditemui di dalam air, tanah, tanaman, serangga dan manusia. Menurut Wijaya (2013), Bakteri *Klebsiella ozaenae* termasuk dalam familia *Enterobacteriaceae*, berbentuk batang dan bersifat gram negatif. Ukuran panjang 0,5-1,5 μm dan diameter 1-2 μm , tidak berspora, dan tidak berflagela. Bakteri *Klebsiella ozaenae* dapat menguraikan laktosa, dapat membentuk kapsul koloni berlendir (mukoid).

Menurut Elfidasari *et al.*, (2013), beberapa bakteri dapat mengganggu beberapa sistem organ dalam tubuh manusia terutama pada pernapasan seperti halnya bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan bakteri patogen penyebab gangguan pernapasan. *Klebsiella pneumoniae* terdapat dalam feces dan saluran napas sebanyak 5% pada orang normal. *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri gram negatif, bakteri yang non motil (tidak melakukan pergerakan secara sel), merupakan bakteri fakultatif anaerob, bakteri ini dapat memfermentasikan laktosa. *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan pneumonia. Pneumonia adalah proses infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli). Pneumonia yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* dapat berupa pneumonia komunitas (*community acquired pneumonia*). *Klebsiella pneumoniae* merupakan jenis bakteri golongan *Klebsiella* yang banyak menginfeksi manusia. Merupakan organisme *oportunis* yang ditemukan pada lapisan mukosa mamalia, terutama paru-paru. Memiliki penyebaran yang sangat cepat, terutama diantara orang-orang yang sedang terinfeksi bakteri ini dengan gejala berupa pendarahan dan penebalan lapisan mukosa organ. Bakteri ini juga merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan penyakit *bronchitis*.

4.7 Hasil Pengamatan Kualitas Air Pada Jaringan Pengolahan Limbah Pabrik Gula

Parameter kualitas air yang diukur pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang meliputi: parameter fisika (suhu) dan parameter kimia (pH, BOD serta COD). Data hasil pengamatan kualitas air pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Data Hasil Pengamatan Kualitas Air Pada Jaringan Pengolahan Limbah Pabrik Gula PT. Tlogo Kelang

| Parameter | | Satuan | Stasiun | |
|-----------|------|--------|-------------|----------------|
| | | | 1 (selokan) | 2 (bak aerasi) |
| Fisika | Suhu | °C | 28,8 | 30,5 |
| | pH | - | 7,1 | 7,9 |
| Kimia | BOD | mg/L | 2.102 | 3.627 |
| | COD | mg/L | 10.700 | 15.500 |

4.7.1 Parameter Fisika

A. Suhu

Hasil pengukuran suhu di pabrik gula PT. Tlogo Kelang pada stasiun 1 sebesar 23,8°C dan pada stasiun 2 sebesar 30,5°C. Kisaran suhu di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 maupun stasiun 2 masih kisaran yang normal bagi proses pengolahan limbah. Hal ini sesuai dengan pendapat Siregar (2009), suhu air limbah di negara-negara tropis biasanya berada dalam kisaran yang menguntungkan bagi proses pengolahan biologi, yaitu antara 20°C – 30°C.

Suhu sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kisaran suhu di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 (23,8°C) maupun stasiun 2 (30,5°C) masih kisaran yang normal untuk pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Suriani *et al.*, (2013), suhu sangat memengaruhi kecepatan

pertumbuhan mikrobia. Pertumbuhan mikrobia terjadi pada suhu dengan kisaran kira-kira 30°C. Kecepatan pertumbuhan mikrobia meningkat lambat dengan naiknya suhu mencapai kecepatan pertumbuhan maksimum. Di atas suhu maksimum kecepatan pertumbuhan mikrobia menurun dengan cepat dengan naiknya suhu.

4.7.2 Parameter Kimia

A. *Power of Hydrogen* (pH)

Hasil pengukuran pH di pabrik gula PT. Tlogo Kelang pada stasiun 1 sebesar 7,1 dan pada stasiun 2 sebesar 7,9. Kisaran pH di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 maupun stasiun 2 masih tergolong kisaran yang sesuai baku mutu air limbah dan normal bagi proses pengolahan limbah. Hal ini sesuai dengan pendapat Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, baku mutu air limbah untuk parameter pH bagi industri gula dengan kapasitas kurang dari 2.500 ton tebu yang diolah per hari yaitu 6,0 – 9,0. Menurut Siregar (2009), kisaran nilai pH yang lebih disukai dalam proses aerobik berkisar antara 6,5 – 8,0. Nilai pH dapat dipengaruhi dan diubah oleh proses pengolahan itu sendiri.

pH juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kisaran pH di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 (7,1) maupun stasiun 2 (7,9) masih tergolong kisaran yang normal untuk pertumbuhan bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Pelczar dan Chan (1986) dalam Suriani *et al.*, (2013), salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri adalah nilai pH. Bakteri memerlukan suatu pH optimum (6,5 - 7,5) untuk tumbuh optimal. Nilai pH minimum dan maksimum untuk pertumbuhan kebanyakan spesies bakteri adalah 4 dan 9. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri ini berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim ini dibutuhkan oleh beberapa bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang

berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri.

B. Biochemical Oxygen Demand (BOD)

Hasil pengukuran BOD di pabrik gula PT. Tlogo Kelang pada stasiun 1 sebesar 2.102 mg/L dan pada stasiun 2 sebesar 3.627 mg/L. Kisaran nilai BOD di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 maupun stasiun 2 tergolong kisaran yang melebihi kadar maksimum pada baku mutu air limbah industri gula. Menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, baku mutu air limbah untuk parameter BOD bagi industri gula dengan kapasitas kurang dari 2.500 ton tebu yang diolah per hari yaitu sebesar 60 mg/L.

Nilai BOD di stasiun 2 (3.627 mg/L) lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai BOD di stasiun 1 (2.102 mg/L), hal ini dikarenakan di stasiun 2 kandungan oksigen terlarutnya dan kandungan bahan organiknya lebih banyak dan lebih tercemar daripada di stasiun 1. Hal ini sesuai dengan pendapat Paramita *et al.*, (2012), angka BOD adalah jumlah oksigen yang dibutuhkan bakteri untuk menguraikan (mengoksidasi) hampir semua zat organik yang terlarut dan sebagian zat-zat organik yang tersuspensi dalam air. Penentuan BOD diperlukan untuk menentukan beban pencemaran akibat air buangan penduduk atau industri. Dasar uji BOD adalah kemampuan metabolik mikroorganisme yang ditambahkan sebagai agen pendegradasi. Semakin tinggi BOD, maka semakin banyak bahan organik yang terkandung dalam air. Menurut Rahmawati (2011), semakin besar kadar BOD, maka merupakan indikasi bahwa perairan tersebut telah tercemar.

C. **Chemical Oxygen Demand (COD)**

Hasil pengukuran COD di pabrik gula PT. Tlogo Kelang pada stasiun 1 sebesar 10.700 mg/L dan pada stasiun 2 sebesar 15.500 mg/L. Kisaran nilai COD di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 maupun stasiun 2 tergolong kisaran yang melebihi kadar maksimum pada baku mutu air limbah industri gula. Menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010, baku mutu air limbah untuk parameter COD bagi industri gula dengan kapasitas kurang dari 2.500 ton tebu yang diolah per hari yaitu sebesar 100 mg/L.

Nilai COD di stasiun 2 (15.500 mg/L) lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai COD di stasiun 1 (10.700 mg/L), hal ini dikarenakan nilai BOD di stasiun 2 lebih tinggi daripada nilai BOD di stasiun 1. Semakin besar nilai pengukuran BOD, nilai COD juga akan semakin besar. Uji COD digunakan untuk menghitung kadar bahan organik yang dapat dioksidasi secara kimia dalam media asam. Hal ini sesuai dengan pendapat Paramita *et al.*, (2012), *Chemical Oxygen Demand (COD)* adalah banyaknya oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi senyawa organik secara kimiawi. COD merupakan uji yang dilakukan untuk menentukan kandungan senyawa organik *biodegradable* (mudah terurai) dan *non-biodegradable* (tidak mudah terurai). Tes COD digunakan untuk menghitung kadar bahan organik yang dapat dioksidasi secara kimia dengan menggunakan dikromat dalam media asam. Menurut Hanim (2008), hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas limbah gula Tjoekir meliputi kandungan TSS sebesar 10 mg/L, BOD sebesar 159 mg/L dan COD sebesar 56.378 mg/L. Menurut Rahmawati (2011), secara umum nilai COD yang diperoleh dari hasil pengukuran lebih besar dari nilai BOD karena jumlah senyawa kimia yang bisa dioksidasi secara kimiawi lebih besar dibandingkan oksidasi secara biologis.

Level degradasi untuk suatu limbah menggunakan rasio BOD/COD. Hal ini sesuai dengan pendapat Samudro dan Mangkoedihardjo (2010), rasio BOD/COD tidak lebih dari sebuah indikator untuk dampak output dari zat organik yang berada pada air, limbah, lindi, kompos dan lain-lain baik dari alam maupun buatan. Ketika suatu limbah tingkat degradasinya semakin tinggi, maka rasio BOD/COD tersebut akan berbanding lurus menjadi semakin besar. Nilai rasio BOD/COD di pabrik gula PT. Tlogo Kelang di stasiun 1 sebesar 0,19 dan di stasiun 2 sebesar 0,24. Perhitungan nilai rasio BOD/COD adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{➤ Rasio BOD/COD di stasiun 1} &= \frac{2.102 \text{ mg/L}}{10.700 \text{ mg/L}} = 0,19 \\ \text{➤ Rasio BOD/COD di stasiun 2} &= \frac{3.627 \text{ mg/L}}{15.500 \text{ mg/L}} = 0,24 \end{aligned}$$

Baik di stasiun 1 maupun stasiun 2 jika dilihat dari nilai rasio BOD/COD yang mendekati nol, masih ada kemungkinan air limbah di stasiun tersebut mengandung substansi yang bersifat toksik dan masih relatif sulit untuk diolah. Hal ini sesuai dengan pendapat Siregar (2009), rasio BOD dan COD air limbah domestik yang berkisar antara 0,5 – 0,6 menandakan bahwa air limbah tersebut mudah diolah. Rasio BOD dan COD yang mendekati nol menunjukkan bahwa air limbah tersebut mengandung substansi yang bersifat toksik.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Jumlah koloni bakteri yang ditemukan di stasiun 1 (selokan) pada tingkat pengenceran 10^{-5} (63×10^5 koloni/ml) lebih banyak jika dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri yang ditemukan di stasiun 2 (bak aerasi) pada tingkat pengenceran 10^{-5} ($56,5 \times 10^5$ koloni/ml).
- Spesies bakteri yang diperoleh dari hasil identifikasi pada sampel stasiun 1 (selokan), yaitu: *Pseudomonas stutzeri*, *Vibrio alginolyticus* dan *Bacillus mycoides*, sedangkan spesies bakteri yang diperoleh dari hasil identifikasi pada sampel stasiun 2 (bak aerasi), antara lain: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans* dan *Klebsiella ozaenae*.
- Bakteri yang diperoleh dari hasil identifikasi dari biofilm pada jaringan pengolahan limbah pabrik gula PT. Tlogo Kelang tergolong bakteri gram negatif (kecuali bakteri *Bacillus mycoides*).
- Jenis bakteri yang ditemukan dari biofilm baik di stasiun 1 dan stasiun 2 adalah jenis bakteri yang mempunyai kemampuan mendegradasi bahan organik, sehingga diduga biofilm bisa digunakan dalam pengolahan limbah organik seperti limbah pabrik gula.
- Kisaran suhu dan pH di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 maupun stasiun 2 masih termasuk kisaran yang normal untuk pertumbuhan bakteri dan menguntungkan bagi proses pengolahan limbah, suhunya yaitu berkisar antara $28,8^{\circ}\text{C}$ - $30,5^{\circ}\text{C}$ dan pHnya berkisar antara 7 - 8.

- Kisaran nilai BOD dan COD di pabrik gula PT. Tlogo Kelang baik pada stasiun 1 maupun stasiun 2 tergolong kisaran yang melebihi kadar maksimum pada baku mutu air limbah industri gula, nilai BOD yaitu berkisar antara 2.102 mg/L - 3.627 mg/L dan nilai COD berkisar antara 10.700 mg/L - 15.500 mg/L.
- Nilai rasio BOD/COD di stasiun 1 sebesar 0,19 dan di stasiun 2 sebesar 0,24 yang artinya masih ada kemungkinan air limbah di stasiun 1 dan di stasiun 2 tersebut mengandung substansi yang bersifat toksik dan masih relatif sulit untuk diolah.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat disampaikan berdasarkan hasil penelitian yaitu:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengolahan limbah untuk mengurangi polutan dari limbah yang dihasilkan oleh pabrik gula PT. Tlogo Kelang, Malang (misalnya : bioremediasi dan biodegradasi) sehingga dapat diaplikasikan secara langsung di lapangan.
- Dalam penelitian ini kultur bakteri dilakukan dalam kondisi aerobik sehingga jenis bakteri anaerob obligatif tidak bisa ditemukan, maka perlu dilakukan penelitian tentang ini juga.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, M. R. P. dan F. Oktafriyanto. 2010. Pembuatan Gula Merah Dengan Bahan Dasar Tebu (*Sacharum officianarum*). Tugas Akhir. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Adityanto, B. N. 2007. *Aktivitas Isolat Bakteri Aerob Dari Lumpur Aktif Pengolahan Limbah Cair Dalam Mendegradasi Limbah Organik*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Agustinus, E. T. S., H. Sembiring dan Effendi. 2014. Aplikasi Material Preservasi Mikroorganisme (MPMO) Dalam Pemrosesan Limbah Cair Organik Pada Instalasi Pengolahan Air Limbah. *Jurnal Riset Geologi dan Pertambangan* **24** (1) : 65 - 76.
- Anggraeni, P. N. 2014. *Potensi Konsorsium Mikroba Dalam Meningkatkan Efektivitas Proses Pengolahan Limbah Cair Bir*. Tesis. Program Studi Ilmu Biologi. Program Pascasarjana. Universitas Udayana. Denpasar.
- Arrizal, S., F. Rachmadiarti dan Yuliani. 2013. Identifikasi Rhizobakteri pada Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang Terpapar Logam Berat Timbal (Pb). *Lentera Bio* **2** (1) : 165 - 169.
- Brise, S., F. Grimont dan P. A. D. Grimont. 2006. The Genus Klebsiella. *Journal Prokaryotes* **6** : 159 - 196.
- Buana, E. O. G. H. N. Dan A. K. Wardani. 2014. Isolasi Bakteriofag Litik Sebagai Agen Biosanitasi Pada Proses Pelisisan Bakteri Pembentuk Biofilm. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* **2** (2) : 36 - 42.
- Buku Teknik Pengambilan Contoh Kurikulum 2013. 2013. *Teknik Pengambilan Contoh Kelas XI Semester 3*. Halaman : 107 - 108.
- Cahyonugroho O. H. dan E. N. Hidayah. 2011. Penyisihan Logam Chrom Menggunakan Konsorsium Mikroorganisme. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan* **1** (1) : 16 - 22.
- Chasanah, A. N. 2007. *Efektivitas Biofilm Pseudomonas putida Dengan Medium Pendukung Pipa PVC Dan Tempurung Kelapa Untuk Menurunkan Kadar Kromium (Cr) Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit*. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Dachliani, D. M. 2006. Permintaan Impor Gula Indonesia Tahun 1980 - 2003. Tesis. Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner (jsv)* **31** (2) : 138 - 150.



- Dwidjoseputro, D. 1985. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djembatan. Malang.
- Dwipayana dan H. D. Ariesydy. 2009. Identifikasi Keberagaman Bakteri Pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat Dengan Teknik Konvensional. Program Studi Teknik Lingkungan. Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan. Institut Teknologi Bandung. WW7 : 1 - 12.
- Einstein, I. 2011. *Pengolahan Limbah Cair*. Pengolahan Limbah Cair Industri, Halaman : 1.
- Ekawati, E. R., Ni'matuzahroh, T. Surtiningsih dan A. Supriyanto. 2012. Eksplorasi Dan Identifikasi Bakteri Selulolitik Pada Limbah Daduk Tebu (*Saccharum Officinarum* L). *Jurnal Penelitian Hayati* **18** : 31 - 34.
- Elfidasari D., N. Noriko, A. Mirasaraswati, A. Feroza dan S. F. Canadianti. 2013. Deteksi Bakteri *Klebsiella Pneumonia* Pada Beberapa Jenis Rokok Konsumsi Masyarakat. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. **2** (1) : 41 - 47.
- Goodwin, A. E., J. S. Roy, J. M. Grizzle dan M. T. Goldsby. 1994. *Bacillus mycoides*: a bacterial pathogen of channel catfish. *Journal Diseases of Aquatic Organism* **18** : 173 - 179.
- Google Earth. 2015. Lokasi PT. Tlogo Kelang, Bululawang, Malang. <http://www.googleearth-pt-tlogo-kelang-bululawang-malang.htm>. Diakses pada Hari Senin Tanggal 2 Januari 2015 pada pukul 10.00 WIB.
- Grimaldi, D., I. Podglajen, A. Aubrt, A. Buu-Hoj, B. Diebold dan J. Mainardi. 2009. Case of Indolent Endocarditis Due to *Pseudomonas stutzeri* with Genetic Evidence of Relapse after 4 Years. *Journal of Clinical Microbiology* **47** (2) : 503 - 504.
- Handayani, N. I., S. B. Sasongko dan A. Hadiyanto. 2012. Kajian Parameter Suhu dan Baku Mutu Air Limbah Industri Gula Jenis Air Limbah Kondensor di Jawa Tengah. Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. Semarang.
- Hanim, F. 2008. *Pengaruh Pembuangan Limbah Industri Gula Tjoekir Terhadap Kualitas Air Tanah Dangkal Di Kecamatan Diwek Kabupaten Jombang*. Skripsi. Jurusan Geografi. Fakultas Ilmu Sosial. Universitas Negeri Malang, Malang.
- Harniza, Y. 2009. *Pola Resistensi Bakteri Yang Diisolasi Dari Bangsal Bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo Pada Tahun 2003 - 2006*. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Humann, J. L., M. Wildung, C. Cheng, T. Lee, J. E. Stewart, J. C. Drew, E. W. Triplett, D. Main dan B. K. Schroeder. 2011. Complete genome of the onion pathogen *Enterobacter cloacae* EcWSU1. *Standards in Genomic Sciences* **5** : 279 - 286.

- Ilham, I. B. G. Darmayasa, I. G. M. O. Nurjaya dan R. Kawuri. 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat Potensial pada Tanah Konvensional dan Tanah Organik. *Jurnal Simbiosis II* (1) : 173 - 183.
- Imam, F. 2013. *Tingkat Toksisitas Limbah Cair Industri Gula Tebu Tanpa Melalui Proses IPAL Terhadap Daphnia magna*. Skripsi. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia.
- Indriyati dan J. K. Susanto. 2009. Pengolahan Limbah Cair Industri Minuman Ringan. *Jurnal Teknologi Lingkungan* 10 (1) : 85 - 89.
- Istianto, R. 2012. Alat–Alat Praktikum Ekologi. <http://www.rafiistianto-alat-alat-ekologi.blogspot.com>. Diakses pada Hari Senin, 23 Maret 2015 pada pukul 09.00 WIB.
- Istiqomah, N. dan R. Rahayu. 2012. Pabrik Gula Kristal Dari Nira Siwalan Dengan Proses Fosfatasi-Flotasi. Paper. Jurusan Teknik Kimia D3. Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Isyuniarto, W. Usada dan A. Purwadi. 2007. Proses Ozonisasi pada Limbah Cair Industri Gula. *Jurnal Kimia Indonesia* 2 (1) : 1 - 5.
- Jamilah, I., N. Priyani dan K. Nurcahya. 2004. Pemeriksaan Biofilm Pada Alat Pengolahan Makanan Laut Di Beberapa Tahap Pemrosesan. Digital Library. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Jasa Tirta. 2014. Pengelola Sumberdaya Air Secara Profesional. <http://www.jasatirta1.go.id>. Diakses pada Hari Jum'at Tanggal 26 Desember 2014 pada pukul 10.00 WIB.
- John. 2010. <http://www.jlindquist.net/generalmicro/102bactid2.html> Diakses pada Hari Senin Tanggal 29 Desember 2014 pada pukul 14.00 WIB.
- John. 2013. <http://exploringtheinvisible.com/tag/coloured-bacteria/> Diakses pada Hari Senin Tanggal 29 Desember 2014 pada pukul 14.00 WIB.
- John. 2015. <http://www.bacteriainphotos.com/Enterobacter%20cloacae%20light%20microscopy.html> Diakses pada Hari Senin Tanggal 29 Desember 2014 pada pukul 14.00 WIB.
- Keputusan Kepala Badan Karantina Pertanian Nomor 2897 Tahun 2007. Pedoman Pengambilan Sampel dalam Rangka Monitoring Hama dan Penyakit Hewan Karantina pada Hewan dan Bahan Asal Hewan serta Hasil Bahan Asal Hewan di Daerah Pemasukan/Pengeluaran dan Daerah Penyebaran Eks Pemasukan.
- Kismiyati, S. Subekti, R. W. N. Yusuf dan R. Kusdarwati. 2009. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif Pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* sp. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 1 (2) : 129 - 134.

- Kokare, C. R., S. Chakraborty, A. N. Khopade dan K. R. Mahadik. 2009. Biofilm: Importance and Applications. *Indian Journal of Biotechnology* **8** : 159 - 168.
- Kristiawan, D., N. Widyorini dan Haeruddin. 2014. Hubungan Total Bakteri Dengan Kandungan Bahan Organik Total Di Muara Kali Wisu, Jepara. *Diponegoro Journal of Maquares* **3** (4) : 24 - 33.
- Kumar, S., T. Alfaadhel dan M. M. Al-Bugami. 2013. *Klebsiella ozaenae* Bacteremia in a Kidney Transplant Recipient. *Case Report in Transplantation* : 1 - 3.
- Kurniasari, R. M. 2005. *Pengaruh Logam Berat Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Pendegradasi Minyak Diesel*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lazuardi, W., A. W. Wicaksono dan F. N. Utama. 2013. Identifikasi Uji Biokimia Bakteri Bacillus sp. Sebagai Bakteri Petrofilik Pendegradasi Kontaminan Pada Proses Bioremediasi. Departemen Teknik Sipil dan Lingkungan. Institut Pertanian Bogor.
- Lestariyanti, E. 2014. *Studi Komparasi Diversitas Makrozoobenthos pada Sungai dengan Pola Pendekatan Ekohidrolik dan Hidrolik Murni di Perairan Sungai Kabupaten Kendal Jawa Tengah Bulan November 2013*. Skripsi. Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan. Institut Agama Islam Negeri Walisongo. Semarang.
- Litaay, M., R. B. Gobel, A. Abdullah, K. Alie dan S. Lejab. 2007. Kualitas Media Pemeliharaan Larva Lola Merah dan Kima Sisik Hasil Filtrasi Bertingkat di Hatchery. *Jurnal Ilmu Kelautan* **12** (1) : 24 - 30.
- Lumaela, A. K., B. W. Otok dan Sutikno. 2013. Pemodelan *Chemical Oxygen Demand* (COD) Sungai di Surabaya Dengan Metode *Mixed Geographically Weighted Regression*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* **2** (1) : 100 - 104.
- Lutumas, A. dan A. Y. Pattinasarany. 2010. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri *Vibrio alginolyticus* Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Sebagai Faktor Virulensi Bakteri Patogen. Seminar Nasional Basic Science II : 36 - 42.
- Mardaneh, J. dan M. M. S. Dallal. 2013. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pantoea (Enterobacter) agglomerans* isolated from consumed powdered infant formula milk (PIF) in NICU ward: First report from Iran. *Iranian Journal of Microbiology* **5** (3) : 263 - 267.
- Marry. 2014. http://www.lookfordiagnosis.com/mesh_info.php?_term=Vibrio+alginolyticus&lang=1. Diakses pada Hari Senin Tanggal 29 Desember 2014 pada pukul 14.00 WIB.

- Megasari, R., D. Biyatmoko, W. Ilham Dan J. Hadie. 2012. Identifikasi Keragaman Jenis Bakteri Pada Proses Pengolahan Limbah Cair Industri Minuman Dengan Lumpur Aktif Limbah Tahu. *Jurnal Enviro Scienteeae* **8** : 89 - 101.
- Moerdokusumo, A. 1993. Pengawasan Kualitas dan Teknologi Pembuatan Gula di Indonesia. Penerbit ITB, Bandung.
- Mulyanto. 2008. Metode Sampling. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Musdalifah. 2013. *Distribusi Dan Kelimpahan Bakteri Enterococcus Spp. Di Perairan Terumbu Karang Kepulauan Spermonde Makassar*. Skripsi. Jurusan Ilmu Kelautan. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nasikhin, R. Dan M. Shovitri. 2013. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pendegradasi Solar dan Bensin dari Perairan Pelabuhan Gresik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* **2** (2) : 84 - 88.
- Nasution, F. S. 2012. *Identifikasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Pada Kotoran Ayam Broiler Sebagai Agensi Probiotik*. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Medan.
- Nazhifah, Rustini dan D. Darwin. 2013. Uji Sensitivitas Isolat Bakteri Dari Psien Luka Bakar Di Bangsal Luka Bakar RSUP DR. M. Djamil Padang. Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas.
- NCBI. 2004. *Vibrio alginolyticus*. National Center for Biotechnology. U.S. National Library of Medicine. USA.
- Novendra. 2013. Mikrobiologi Isolasi dan Inokulasi. Mikrobiologi. Bontang, Kalimantan.
- Nugraha, S. 2012. Pembuatan Reagen Garam Fisiologis/Physiologis Zoid (NaCl 0,85 %). Praktikum III. <http://www.scribd.com/doc/117229920/Pembuatan-Reagen-Garam-Fisiologis#scribd>. Diakses pada Hari Rabu Tanggal 25 Maret 2015 pada pukul 10.00 WIB.
- Oliveira, M., R. Bexiga, S. F. Nunes, C. Carneiro, L. M. Cavaco, F. Bernardo dan C. L. Vilela. 2006. Biofilm-forming ability profiling of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* mastitis isolates. *Veterinary Microbiology* **118** (1-2) : 133 - 140.
- Paramita, P., M. Shovitri dan N. D. Kuswyasari. 2012. Biodegradasi Limbah Organik Pasar dengan Menggunakan Mikroorganisme Alami Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS* **1** : 23 - 26.
- Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2010. Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Industri Gula. Jakarta.

- Piatek, B. M. Z., S. I. Wilkanowicz, R. J. Piatek dan J. W. Kur. 2009. Biofilm Formation as a Virulence Determinant of Uropathogenic *Escherichia coli* Dr Strains. *Polish Journal of Microbiology* **58** (3) : 223 - 229.
- Porotu'o, A. C., V. Buntuan dan F. Rares. 2015. Identifikasi Bakteri Aerob Pada Makanan Jajanan Jagung Bakar Di Pinggiran Jalan Ring Road Manado. *Jurnal e-Biomedik* **3** (1) : 1 - 8.
- Profil Tlogo Kelang. 2011. PT. Tlogo Kelang. <http://www.pt-tlogo-kelang.htm>. Diakses pada Hari Jum'at Tanggal 26 Desember 2014 pada pukul 08.00 WIB.
- Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. 1999. Tebu: Budidaya, Pengolahan Menjadi Gula serta Produk Sampingnya. Prosiding Teknologi Pengolahan Hasil Tanaman Perkebunan. P3GI, Pasuruan.
- Putero, S. H. Dan D. Astuti. 2009. Peran Sertifikasi ISO 9000 Dalam Pengelolaan Limbah Industri Kulit. *Jurnal Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi* **VI** : 236 - 239.
- Rahmawati, D. 2011. *Pengaruh Kegiatan Industri Terhadap Kualitas Air Sungai Diwak Di Bergas Kabupaten Semarang Dan Upaya Pengendalian Pencemaran Air Sungai*. Tesis. Program Magister Ilmu Lingkungan. Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Raihana, N. 2011. Profil Kultur dan Uji Sensitivitas Bakteri Aerob dari Infeksi Luka Operasi Laparatomi di Bangsal Bedah RSUP DR. M. Djamil Padang. Artikel. Program Pascasarjana. Universitas Andalas. Padang.
- Retnosari, A. A. dan M. Shovitri. 2013. Kemampuan Isolat *Bacillus sp.* dalam Mendegradasi Limbah Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Semi Pomits* **2** (1) : 7 - 11.
- Samina, O. Setiani dan Purwanto. 2013. Efektivitas Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) Domestik Di Kota Cirebon Terhadap Penurunan Pencemar Organik dan *E-coli*. *Jurnal Ilmu Lingkungan* **11** (1) : 36 - 42.
- Samudro, G. dan S. Mangkoedihardjo. 2010. Review on BOD, COD and BOD/COD Ratio: A Triangle Zone for Toxic, Biodegradable and Stable Levels. *International Journal of Academic Research* **2** (4) : 235 - 239.
- Sarah, S. R. Putra dan H. S. Putro. 2010. Isolasi α -Amilase Termostabil Dari Bakteri Termofilik *Bacillus stearothermophilus*. Prosiding Kimia-MIPA. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Sarapi, D., Fatimawali dan F. Budiarmo. 2014. Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri Dalam Urine, Feses, Dan Karang Gigi Pada Individu Di Daerah Pesisir Pantai Desa Pulisan Kecamatan Likupang Timur Kabupaten Minahasa Utara. *Jurnal e-Biomedik* **2** (2) : 476 - 480.

- Sastrawidana, D. K. Dan I. N. Sukarta. 2013. Uji Coba Teknologi Biofilm Konsorsium Bakteri Pada Reaktor Semianaerob-Aerob Untuk Pengolahan Air Limbah Di Industri Pencelupan Tekstil Skala Rumah Tangga. *Jurnal Sains dan Teknologi* **2** (1) : 193 - 203.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari Molase Secara Fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses* **5** (2) : 75 - 80.
- Setyanto, A. E. 2012. Memperkenalkan Kembali Metode Eksperimen dalam Kajian Komunikasi. *Jurnal Ilmu Komunikasi* **3** (1) : 37 - 48.
- Sijderius. 1946. Name and Taxonomic classification *Pseudomonas stutzeri*. Bac Dive : 1 - 4.
- Silalahi, E. F., Melki dan H. Surbakti. Karakteristik Bakteri Penghasil Gas Metana Pada Rumput Laut Jenis *Gracilaria sp.* *Maspari Journal* **4** (1) : 83 - 91.
- Siregar, S. A. 2009. Instalasi Pengolahan Air Limbah. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Suardana, I. W., I. H. Utama dan M. H. Wibowo. 2014. Identifikasi *Escherichia coli* O157 dari Feses Ayam dan Uji Profil Hemolisinya pada Media Agar Darah. *Jurnal Kedokteran Hewan* **8** (1) : 1 - 5.
- Suriani, S., Soemarmo dan Suharjono. 2013. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Laju Pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di Sekitar Kampus Universitas Brawijaya. *J-PAL* **3** (2) : 58 - 62.
- Tugiyono, N. Nurcahyani, R. Supriyanto dan M. Kurniati. 2009. Biomonitoring Pengolahan Air Limbah Pabrik Gula Pt Gunung Madu Plantation Lampung Dengan Analisis Biomarker: Indeks Fisiologi Dan Perubahan Histologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn). *Jurnal Sains MIPA* **15** (1) : 42 - 50.
- Undang Undang Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 1984. Tentang Perindustrian. Jakarta.
- Untung, M. 2012. Modul 4 Perhitungan Koloni Bakteri. Buku Praktikum Mikrobiologi Laut Tahun Ajaran 2012.
- Usman, W. S. 2015. *Bakteri Asosiasi Karang Yang Terinfeksi Penyakit Brown Band (BRB) Di Perairan Pulau Barranglompo Kota Makassar*. Skripsi. Jurusan Ilmu Kelautan. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Viraguna. 2013. <http://viraguna.blogspot.com/2013/05/makalah-osteosarkoma.html> Diakses pada Hari Senin Tanggal 29 Desember 2014 pada pukul 14.00 WIB.
- Waluyo, L. 2005. Mikrobiologi Lingkungan. UMM Pr. Malang.

Widyanti, E. M. 2010. *Produksi Asam Sitrat dari Substrat Molase pada Pengaruh Penambahan VCO (Virgin Coconut Oil) Terhadap Produktivitas Aspergillus niger ITBCC L₇₄ Terimobilisasi*. Tesis. Magister Teknik Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro. Semarang.

Wijaya, V. P. 2013. Daya Antibakteri Albumen Telur Ayam Kampung (*Gallus Domesticus*) dan Ayam Kate (*Gallus Bantam*) terhadap Spesies Bakteri Coliform Fekal pada Cangkang Telur. *Jurnal Pendidikan Sains* 1 (4) : 365 - 374.

Wishart. 2011. <http://bacmap.wishartlab.com/organisms/1418#biography>. Diakses pada Hari Senin Tanggal 29 Desember 2014 pada pukul 14.00 WIB.

Yahya, H. Nursyam, Y. Risjani dan Soemarno. 2014. Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Jurnal Ilmu Kelautan* 19 (1) : 35 - 42.

Young, J. M. 2000. On the need for and utility of depositing reference strains to authenticate microbiological studies (and a list of reference strains for bacteria in New Zealand). *New Zealand Microbiology* 5 (1) : 23 - 28.

Yusma. 1999. Pemanfaatan Limbah Molase dalam Pembuatan Etanol Secara Fermentasi. *Media Litbang Kesehatan* IX (3) : 3 - 7.

Yuwono. 2013. Buku Mikrobiologi Kedokteran. Fakultas Kedokteran. Universitas Sriwijaya, Palembang.

