
ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI HETEROTROFIK PADA PERAIRAN LAUT PANIPAHAN KECAMATAN PASIR LIMAU KAPAS KABUPATEN ROKAN HILIR PROVINSI RIAU**Khairul Abdi¹, Rasyidah², Ulfayani Mayasari³**^{1,2,3}Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medankhairulabdipnp@gmail.com¹, rasyidah@uinsu.ac.id², ulfayani.mayasari@uinsu.ac.id³**Abstrak**

Bakteri heterotrofik ialah golongan bakteri yang dapat hidup di perairan maupun daratan. Pada ekosistem yang berada di lautan, bakteri yang tergolong kedalam kelompok heterotrofik berperan sebagai dekomposer. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri heterotrofik di perairan laut Panipahan serta karakteristik bakteri heterotrofik yang ditemukan di perairan laut Panipahan. Prosedur kerja dalam penelitian ini dengan karakterisasi morfologi bakteri, pewarnaan gram dan juga karakterisasi berdasarkan uji biokimia. Proses analisis data dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif. Identifikasi bakteri menggunakan panduan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Edition, Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology 2nd Edition dan jurnal. Hasil dari penelitian ini diperoleh 12 isolat bakteri murni, dimana 7 isolat bakteri T1P5A, T1P5B, T1P5C, T3P4B, T3P5A, T3P5B dan T3P6 tergolong genus *Bacillus* dan 3 isolat bakteri T1P4B, T1P4C dan T3P4A tergolong genus *Micrococcus*. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa perairan laut Panipahan terdapat bakteri heterotrofik dengan genus *Bacillus* dan genus *Micrococcus*.

Kata Kunci: Isolasi Dan Karakterisasi, Heterotrofik, Dekomposer, Perairan Laut Panipahan.

Abstract

*Heterotrophic bacteria are a group of bacteria that can live in both water and land. In ecosystems in the oceans, bacteria belonging to heterotrophic groups act as decomposers. The purpose of this study was to determine the presence of heterotrophic bacteria in the Panipahan sea waters and the characteristics of the heterotrophic bacteria found in the Panipahan sea waters. The working procedure in this study was to characterize the morphology of bacteria, gram stain, and also to characterize it based on biochemical tests. The process of data analysis will be carried out using a descriptive method. Identification bacteria using Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Edition, Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology 2nd Edition and Journal. The results of this study obtained 12 bacterial isolates, of which 7 bacterial isolates T1P5A, T1P5B, T1P5C, T3P4B, T3P5A, T3P5B and T3P6 belonged to the genus *Bacillus* and 3 bacterial isolates T1P4B, T1P4C and T3P4A belonged to the genus *Micrococcus*. The results showed that Panipahan sea waters contained heterotrophic bacteria with the genus *Bacillus* and genus *Micrococcus*.*

Keywords: Isolation And Characterization, Heterotrophic, Decomposer, Sea Waters Panipahan.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kabupaten Rokan Hilir adalah salah satu kabupaten yang terletak di Provinsi Riau. Wilayah ini terletak pada bagian pesisir timur pulau Sumatera antara 1°14'-2°14' LU dan 100°16'-101°21'BT. Luas wilayah kabupaten Rokan Hilir sekitar 8.881.59 km². Sebagian besar wilayah kabupaten Rokan Hilir adalah perairan laut yang merupakan bagian teritorial selat Malaka (Widjaya, dkk. 2020). Pada pesisir perairan ditemukan berbagai jenis bahan organik yang mengakibatkan degradasi lingkungan pesisir dan menyebabkan penurunan kualitas air secara fisika, kimia, dan biologis (Saputri & Makhfud E., 2020). Kualitas dilihat secara fisika yaitu meliputi suhu dan kecerahan. Parameter kimia meliputi salinitas air, pH, kadar posfat, kadar nitrat dan kadar sulfida (Hamuna, dkk, 2018). Sedangkan parameter kualitas air secara biologis ditandai dengan ditemukannya mikroorganisme yang terdapat dalam air laut yang dapat digunakan sebagai informasi kondisi lingkungan dan sebagai indikator pencemaran lingkungan seperti mikroba pencemar dapat dijadikan sebagai indikator dan kualitas perairan, kelimpahan dari bakteri-bakteri pencemar seperti coliform, parameter mikroba patogen juga parameter mikroba pengurai senyawa organik serta parameter fisika berupa intensitas cahaya. Dengan demikian, eksplorasi mikroba di suatu perairan akan memberi tahu kondisi dari perairan tersebut (Saputri dan Efendi. 2020). Mikroba yang ada di perairan salah satunya adalah bakteri heterotrofik. Bakteri heterotrofik merupakan jenis bakteri yang jarang sekali diperhatikan walaupun bakteri ini memegang peranan yang sangat penting pada ekosistem laut. 2 Bakteri heterotrofik memiliki peran sebagai dekomposer atau pengurai bahan organik. Semakin tinggi kandungan bahan organik seperti, sisa pakan atau feses makhluk hidup laut dan ditambah dengan organisme yang mati didasar perairan maka, semakin maksimal kinerja yang dilakukan oleh bakteri heterotrofik yang ada (Santi dkk, 2017). Isolat bakteri heterotrofik memiliki karakteristik yang berbeda. Terutama pada karakteristik warna yang terdapat pada tiap koloni isolat bakteri yang ditemukan. Selbihnya pada karakteristik berupa bentuk koloni, 3 tepian bakteri, elevasi bakteri dan ukuran bakteri umumnya akan menunjukkan karakteristik morfologi yang serupa yaitu, batang (*basil*), rata (*entire*), datar (*flat*) dan kecil (*small*) (Junaedi dkk. 2020). Bakteri heterotrofik di perairan laut umumnya para peneliti hanya fokus mencari keberadaan bakteri heterotrofik pada perairan laut yang di destinasi pariwisata yang cukup terkenal saja namun, perairan laut yang jarang diketahui oleh sebagian masyarakat Indonesia seperti perairan laut Panipahan Kabupaten Rokan Hilir sering sekali diabaikan. Oleh karena itu, berdasarkan kondisi yang ada maka,

peneliti ingin melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui keberadaan dan keragaman dari bakteri heterotrofik yang terdapat di perairan laut Panipahan Kabupaten Rokan Hilir.

Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah terdapat jenis bakteri heterotrofik di perairan laut Panipahan dan bagaimana karakteristik bakteri heterotrofik yang terdapat pada perairan laut Panipahan.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya jenis bakteri heterotrofik di perairan laut desa Panipahan dan mengetahui karakteristik bakteri heterotrofik yang ditemukan pada perairan laut Panipahan.

Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini sebagai pengembangan serta pengaplikasian ilmu mikrobiologi yang didapatkan selama proses pembelajaran berlangsung. Penelitian ini dapat dijadikan data acuan untuk mengetahui keberadaan bakteri heterotrofik di kawasan perairan laut Panipahan bagi peneliti yang ingin mengembangkan penelitian yang sama. Sebagai informasi dan bahan pertimbangan mengenai peran dari bakteri heterotrofik dan juga keragaman bakteri heterotrofik didalam suatu perairan

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dan pengambilan sampel dilakukan di kawasan laut, Desa Panipahan, Kecamatan Pasir Limau Kapas, Kabupaten Rokan Hilir. Kegiatan analisis dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 sampai dengan Januari 2023.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian laboratorium adalah botol sampel, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, object glass, cover glass, spatula, penjepit tabung, autoklaf, jarum ose, pipet tetes, pipet ukur, gelas beker, bunsen, rak tabung, tabung reaksi, inkubator, mikroskop, neraca analitik, hot plate, hockey stick, cooler box, ice pack, secchi disk, tali, meteran, lemari pendingin, spet 1 ml dan 10 ml. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air

laut Desa Panipahan sebanyak 1 ml untuk masing-masing titik, larutan fisiologis (NaCl 0,9%), alkohol 70%, alkohol 96%, cairan kristal violet, cairan lugol iodine, pewarna safranin, minyak imersi, aluminium foil, kapas, plastik wrap, kertas pembungkus, H₂O₂ 3%, reagen kocack's, akuades, media Nutrien Agar (NA), media Sulfid Indol Motility (SIM), dan media Triple Sugar Iron Agar (TSIA).

Sampel

Teknik yang akan digunakan dalam proses pengambilan sampel air laut Desa Panipahan adalah teknik Purposive sampling, dimana masing-masing sampel akan diambil dengan maksud dan tujuan tertentu. Perairan laut Panipahan akan dibagi 3 titik sampling, kemudian ketiga titik sampling akan diberi jarak masing-masing 50 meter. Setelah di dapatkan sampel ketiga titik sampling lalu akan dilanjutkan dengan uji karakteristik morfologi, uji pewarnaan gram, uji potensi terhadap pencemaran dan uji biokimia untuk mengetahui jenis bakteri heterotrofik yang terkandung didalam perairan laut Panipahan (Sari dkk. 2016).

1. Prosedur Kerja

A. Sterilisasi

Alat-alat yang terbuat dari kaca dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas koran dan mulut wadah ditutup dengan kapas. Sterilisasi alat dan media dilakukan dengan cara menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Untuk sterilisasi jarum ose dan pinset dilakukan dengan cara mencelupkan ke dalam alkohol 70% dan dilakukan pemijaran menggunakan api bunsen (Armaleni,dkk, 2019).

B. Pengambilan Sampel

Seluruh sampel yang digunakan dalam penelitian berasal dari perairan laut Desa Panipahan. Perairan laut Desa Panipahan akan dibagi menjadi 3 titik sampling dimana penetapan titik sampling yaitu, titik sampling 1 di tengah laut, titik sampling 2 di tepi laut, dan titik sampling 3 di bagian mangrove. Pembagian titik sampling ini dilakukan dengan cara menarik tali kedepan dengan panjang 50 meter dari 1 titik ke titik lainnya. Kemudian dari masing-masing titik diukur kedalaman airnya dengan menggunakan meteran dan diukur tingkat kecerahan dengan menggunakan secchi disk. Penggunaan 3 titik sampling dengan kedalaman dan tingkat kecerahan yang berbeda-beda bertujuan untuk menemukan isolat murni yang lebih baik dengan sifat isolat yang juga berbeda-beda. Kemudian, ketiga sampel diambil secara aseptik dan dimasukkan kedalam 3 botol sampel yang sebelumnya sudah di sterilkan terlebih

dahulu dan kemudian ketiga botol berisi sampel disimpan didalam *cooler box* yang telah berisi *ice pack*.

C. Pembuatan Media

Media Nutrient Agar (NA)

Salah satu jenis medium umum yang digunakan dalam proses isolasi bakteri adalah media Nutrient Agar (NA). media ini memiliki perpaduan antara bahan alami dan juga senyawa-senyawa sintesis. Medium Nutrient Agar mampu didapatkan dengan cara mengambil 2,8 gram NA kemudian dilarutkan dengan menggunakan akuades 100 ml didalam erlenmeyer lalu dipanaskan dengan bantuan *hot plate* kemudian aduk sampai semuanya terlarut secara sempurna dan larutan media menjadi berwarna bening, kemudian tutup erlenmeyer dengan menggunakan kapas. Proses sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf selama kurang lebih 15 menit dengan suhu 121°C. setelah suhu turun menjadi 60°C tuangkan secara aseptis kedalam cawan petri yang sebelumnya sudah disterilkan sebanyak kurang lebih 20 ml.

Media Sulfid Indol Motility (SIM)

Media Sulfid Indol Motility (SIM) merupakan suatu media yang umumnya dimanfaatkan dalam mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan indol maupun alat gerak. Media Sulfid Indol Motility mampu didapatkan dengan cara mengambil 3 gram SIM kemudian dilarutkan dengan menggunakan akuades 100 ml lalu dipanaskan dengan bantuan *hot plate* kemudian aduk sampai semuanya terlarut secara sempurna, kemudian tutup erlenmeyer dengan menggunakan kapas. Proses sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf selama kurang lebih 15 menit dengan suhu 121°C (Isnaeni, 2016).

Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) adalah media padat yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah suatu organisme memiliki kemampuan dalam memfermentasi gula, umumnya media TSIA ini menggunakan 3 jenis gula, yaitu, glukosa, sukrosa dan laktosa. Media TSIA mampu didapatkan dengan cara mengambil 6,5 gram medium TSIA, kemudian dilarutkan dengan menggunakan 20 akuades 100 ml lalu dipanaskan dengan menggunakan bantuan *hot plate*, setelah itu diaduk sampai semuanya terlarut secara sempurna, setelah itu tutup mulut erlenmeyer dengan menggunakan kapas. Proses sterilisasi dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf selama kurang lebih 15 menit dengan suhu 121°C (Isnaeni dan Rahmawati. 2016).

D. Isolasi Bakteri dari Air Laut

Isolasi merupakan suatu proses yang akan dilakukan agar mendapatkan isolat murni berupa koloni bakteri yang nantinya akan tumbuh secara terpisah dengan bentuk koloni yang seragam. Isolasi bakteri juga dikatakan sebagai proses untuk memisahkan bakteri yang didapat dari lingkungan asalnya atau habitatnya di alam kemudian bakteri-bakteri itu akan ditumbuhkan dalam media baru sebagai biakan murni. Isolat yang dimurnikan nantinya akan melalui proses inokulasi untuk hasil akhir yang akan didapatkan berupa koloni-koloni murni disetiap biakannya (Yulitasary dkk. 2017).

Pembuatan Suspensi Sampel

Proses pembuatan suspensi sampel dapat menggunakan 1 ml sampel air laut Desa Panipahan pada masing-masing titik untuk dilakukan pengenceran bersama dengan larutan fisiologi (NaCl 0,9%). Kemudian 10 ml larutan yang didapatkan dari hasil pencampuran 1 ml sampel dan 9 ml larutan fisiologi akan digunakan pada proses pengenceran bertingkat. Pengenceran bertingkat yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah pengenceran 10^{-1} sampai dengan pengenceran 10^{-6} (Abdullah. 2010).

Isolasi dan Pemurnian Mikroba

Dari pengenceran 10^{-1} sampai dengan pengenceran 10^{-6} hanya pengenceran 10^{-4} , pengenceran 10^{-5} , dan pengenceran 10^{-6} saja yang digunakan dalam proses isolasi mikroba. Hal ini dikarenakan pada tingkat pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-6} sudah cukup mengalami penurunan jumlah koloni bakteri. Pada pengenceran 10^{-4} , pengenceran 10^{-5} dan pengenceran 10^{-6} hanya diambil masing-masing 1 ml untuk ditumbuhkan pada masing-masing media Nutrient Agar (NA) dengan metode sebar agar (spread plate) dan diratakan dengan menggunakan Lglass lalu diletakkan didalam incubator dengan posisi cawan diletakkan secara terbalik menggunakan suhu 37°C sekitar kurang lebih 24 jam. Ketika bakteri telah timbul dengan cara berkoloni-koloni maka, harus diinokulasi secara terus menerus agar didapatkan isolat murni yang diinginkan (Wondal dkk. 2019). Metode pemurnian bakteri dapat dilakukan dengan cara mengambil isolat bakteri yang telah tumbuh pada masing-masing media NA yang sebelumnya sudah diinkubasi selama 24 jam. Jika setelah inkubasi 24 jam sudah timbul beberapa koloni bakteri dengan menunjukkan karakteristik morfologinya maka, metode goresan (*streak plate*) dapat dilakukan dengan menggunakan media Nutrient Agar. Setelah itu media Nutrient Agar tersebut kembali diinkubasi selama kurang lebih 24 jam. Jika proses tersebut belum juga

ditemukan adanya pertumbuhan bakteri maka, metode goresan dapat dilakukan kembali (Istiqfarin. 2017).

E. Karakterisasi Morfologi Bakteri

Proses karakterisasi morfologi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan isolat bakteri yang didapatkan setelah proses pemurnian. Uji karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengetahui bentuk, warna, ukuran, tepian koloni, dan elevasi. Dalam penentuan karakterisasi morfologi bakteri heterotrofik mengacu pada lampiran 1 yang bersumber dari putri (2017).

F. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram digunakan untuk mengetahui karakteristik mikroskopis dengan mengetahui sifat gramnya. Uji pewarnaan ini dilakukan dengan cara memanfaatkan isolat bakteri yang ada kemudian diatas kaca preparat dan difiksasi dengan menggunakan api bunsen. Setelah itu kaca preparat ditetesi oleh 3 tetes cairan kristal violet dan didiamkan kembali selama 1 menit. Setelah 1 menit preparat dapat dicuci dengan menggunakan akuades. Setelah dicuci dengan menggunakan akuades langkah selanjutnya yaitu, pemberian 3 tetes cairan Iodine dan setelah diberi 3 tetes cairan Iodine kemudian preparat didiamkan kembali selama 1 menit. Setelah didiamkan selama 1 menit preparat kembali dicuci dengan menggunakan akuades. Setelah dicuci proses selanjutnya adalah pelunturan warna dengan menggunakan alkohol 96% selama 20 detik. Setelah dilunturkan dengan menggunakan alkohol 96% selanjutnya preparat kembali dicuci dengan menggunakan akuades. Setelah itu preparat kembali ditetesi oleh 3 tetes pewarna safranin dan didiamkan selama 1 menit, setelah 1 menit preparat kembali dicuci dengan menggunakan akuades. Proses terakhir dari proses pewarnaan gram ini adalah pengamatan preparat dibawah mikroskop dengan menggunakan bantuan minyak imersi agar hasil yang didapatkan lebih jelas. Jika hasil yang didapatkan dibawah mikroskop adalah berwarna ungu menandakan isolat bakteri memiliki sifat gram positif namun jika hasil yang didapatkan dibawah mikroskop berwarna merah menandakan isolat bakteri memiliki sifat gram negatif (Hamidah dkk. 2019).

G. Karakteristik Berdasarkan Uji Biokimia

Terdapat beberapa karakterisasi berdasarkan uji biokimia untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis yang ditunjukkan oleh isolat bakteri, seperti uji katalase, uji motilitas, uji indol dan uji TSIA.

Uji Motilitas

Uji motilitas bertujuan untuk mengonfirmasi apakah isolat bakteri yang diuji termasuk dalam kelompok bakteri yang memiliki flagel sebagai alat gerak. Media yang digunakan dalam proses pengujian ini adalah media SIM (Sulfit Indol Motility), pengujian motilitas hanya dapat menggunakan media semi solid (Ulfa dkk. 2016). Untuk melakukan uji motilitas dapat dimulai dengan menanamkan 1 ose jarum bakteri yang nantinya akan diletakkan secara tegak lurus pada media SIM. Setelah itu dilanjutkan dengan menginkubasikan media yang telah ditanamkan jarum ose berisi bakteri dengan menggunakan suhu 37°C selama 24 jam. Jika bakteri memiliki flagel sebagai alat gerak ditandai dengan adanya 23 pertumbuhan koloni bakteri yang akan menyebar dan kemudian medium akan keruh seperti kabut (Damayanti dkk. 2018).

Uji Indol

Pengujian indol bertujuan untuk mendeteksi apakah isolat bakteri yang ditemukan mampu untuk memecahkan triptofan asam amino yang membentuk senyawa indol. Untuk melakukan uji indol dapat dilakukan dengan cara menanamkan bakteri pada media SIM (Sulfit Indol Motility) kemudian dilanjutkan dengan proses inkubasi, dimana media tersebut akan diinkubasi dengan menggunakan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam diinkubasi lalu media ditetsi dengan menggunakan reagen covack melalui dinding tabung reaksi secara perlahan sampai nantinya akan terlihat sebuah garis pemisah diantara reagen dan juga media. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya sebuah cincin berwarna merah pada garis pemisah antara reagen dan juga media, namun jika hasil yang didapatkan adalah negatif maka, tidak akan menimbulkan garis pemisah antara reagen dan media (Ulfa dkk. 2016).

Uji Katalase

Uji katalase bertujuan untuk mengkonfirmasi apakah isolat yang diuji termasuk dalam kelompok bakteri yang dapat memecah H₂O₂ menjadi oksigen atau tidak. Uji katalase ini dilakukan dengan cara membuat asupan diatas gelas objek yang kemudian akan ditetsi oleh 2 tetes H₂O₂ 3%. Jika hasil akhirnya terbentuk gelembung gas hasil degradasi H₂O₂ oleh enzim katalase maka, percobaan bersifat positif dan begitu juga sebaliknya (Lindawati dan Suardana. 2006).

Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Pengujian Triple Sugar Iron Agar (TSIA) bertujuan untuk menginformasikan apakah

suatu organisme memiliki kemampuan dalam memfermentasi gula, umumnya pengujian ini menggunakan media TSIA dengan 3 jenis gula yaitu, glukosa, sukrosa dan laktosa. Untuk melakukan uji TSIA ini dapat dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat bakteri dan kemudian ditusuk secara tegak lurus pada bagian tengah media TSIA miring setelah itu diambil kembali 1 ose isolat bakteri dan digores secara zig-zag pada permukaan media TSIA miring. Kemudian dilanjutkan dengan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit (Isnaeni dan Rahmawati, 2016). Hasil akhir yang diberikan oleh pengujian ini yaitu, adanya perubahan warna pada media TSIA menjadi warna merah (basa) jika isolat bakteri merupakan mikroorganisme yang mampu memfermentasi produk gula, namun jika isolat bakteri tidak mampu dalam memfermentasi produk gula maka, media TSIA akan tetap berwarna kuning (asam) (Ulfa dkk 2016).

H. Analisis Data

Proses analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode deskriptif. Dimana seluruh data yang telah terkumpul akan dideskriptifkan dengan menggunakan tabel dan juga gambar didukung menggunakan panduan buku *Bergey's Manual of determinative bacteriology 8th Edition*, *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriologi 2nd Edition* dan jurnal-jurnal ilmiah

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Parameter Kualitas Perairan

Proses pengambilan sampel dilakukan pada 1 stasiun dengan titik sampling diambil pada 3 titik sampling dengan jarak 50 m dan dilakukan pengukuran kualitas air untuk mengetahui kondisi lingkungan stasiun pada saat pengambilan sampel. Hasil pengukuran kualitas air, sampel air diambil pada siang hari dengan suhu tertinggi di perairan 30,9°C, derajat keasaman (pH) diperoleh 7,2, kecerahan 23,5 cm. Hasil pengukuran tersebut dapat disimpulkan bahwa perairan tersebut memenuhi baku mutu lingkungan hidup. Salinitas perairan sebesar 25 ppt tergolong kedalam perairan muara, dimana bakteri heterotrofik mampu tumbuh secara maksimal. Menurut Pelczar dan Chan (2008), pH optimum untuk bakteri berkisar antara 6,5-7,5. Beberapa spesies dapat tumbuh dalam keadaan sangat asam atau sangat alkalin, hal ini diperkuat pula oleh pernyataan dari Isyuniarto dan Purwadi, (2007), bakteri dapat hidup pada pH 6-9, namun pH yang optimum untuk pertumbuhan bakteri berkisar antara 6,5-7,5.

2. Isolasi Bakteri dari sampe dan Pemurnian Bakteri

Tabel 1. Jumlah dan Gambar Isolat Bakteri

| No | Titik Sampling | Jumlah Isolat Pada Pengenceran | | |
|----|----------------|--|---|--|
| | | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁶ |
| 1 | Titik 1 |  3 Isolat |  3 Isolat |  0 |
| 2 | Titik 2 |  1 Isolat |  1 Isolat |  0 |
| 3 | Titik 3 |  2 Isolat |  2 Isolat |  1 Isolat |

Melalui proses isolasi bakteri dari perairan laut panipahan kecamatan Pasir Limau Kapas Kabupaten Rokan Hilir Riau dengan metode pengenceran dan pembiakan murni atau sering juga disebut isolasi murni bakteri. Ditemukan 13 isolat bakteri (Tabel 1.) yang dimurnikan dengan menggunakan metode goresan (streak plate) lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam, seluruhnya mendapatkan isolat murni berupa koloni-koloni tunggal.

3. Karakterisasi Morfologi Bakteri

Dari ke-13 isolat bakteri yang telah dimurnikan 8 isolat memiliki bentuk *irregular* dan tepian *lobate*, bentuk *spindle* dan *circular* masing masing 2 isolat yang mana memiliki tepian *undulate* dan *entire*. 1 isolat memiliki bentuk *filamentus* dengan tepian *filamentus*. 8 isolat memiliki elevasi *flat* sedangkan 5 isolat lainnya memiliki elevasi *raised*. 2 isolat ukurannya *large* dan isolate lainnya ukurannya *small*. 5 isolat bakteri warnanya *white*, sedangkan isolate lainnya berwarna *cream* (Tabel 2.)

Tabel 2. Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri

| NO | Karakteristik Morfologi Bakteri |
|----|---------------------------------|
|----|---------------------------------|

| | Kode Isolat | Bentuk | Tepian | Elevasi | Ukuran | Warna |
|----|--------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|--------------|
| 1 | T1P4A | Filamentus | Filamentus | Flat | Small | White |
| 2 | T1P4B | Irregular | Lobate | Raised | Small | Cream |
| 3 | T1P4C | Irregular | Lobate | Flat | Small | White |
| 4 | T1P5A | Irregular | Lobate | Flat | Small | White |
| 5 | T1P5B | Spindle | Undulate | Raised | Small | White |
| 6 | T1P5C | Irregular | Lobate | Flat | Small | White |
| 7 | T2P4 | Circular | Entire | Flat | Small | Cream |
| 8 | T2P5 | Spindle | Undulate | Raised | Small | Cream |
| 9 | T3P4A | Irregular | Lobate | Raised | Large | Cream |
| 10 | T3P4B | Irregular | Lobate | Flat | Small | Cream |
| 11 | T3P5A | Circular | Entire | Flat | Small | Cream |
| 12 | T3P5B | Irregular | Undulate | Flat | Small | Cream |
| 13 | T3P6 | Irregular | Undulate | Raised | Large | Cream |

4. Pewarnaan Gram

Pada pengamatan mikroskop terhadap 12 isolat bakteri yang ditemukan dari ketiga titik sampel yang berasal dari perairan laut Panipahan dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 100x ditemukan semua isolat bakteri yang menghasilkan warna ungu atau memiliki sifat *gram positif* dengan bentuk koloni menunjukkan bentuk basil (batang) dan bentuk kokus (Tabel 3.). Pewarnaan gram ialah jenis pengamatan makroskopis yang dilakukan untuk memperjelas susunan atau struktur dalam yang ada pada bakteri, seperti dinding sel dan juga vakuola. Melalui proses pewarnaan gram juga dapat terlihat sifat-sifat fisik serta sifat-sifat kimia khas yang dimiliki oleh isolat bakteri dengan menggunakan zat warna. Dimana bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah (Bulele dkk, 2019).

Tabel 3. Hasil Pewarnaan Gram

| NO | Kode Isolat | Pewarnaan Gram Bakteri | | |
|----|-------------|------------------------|-------|------------|
| | | Bentuk Koloni | Warna | Keterangan |
| 1 | T1P4B | <i>Coccus</i> | Ungu | Positif |
| 2 | T1P4C | <i>Coccus</i> | Ungu | Positif |
| 3 | T1P5A | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |
| 4 | T1P5B | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |
| 5 | T1P5C | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |
| 6 | T2P4 | <i>Coccus</i> | Ungu | Positif |
| 7 | T2P5 | <i>Coccus</i> | Ungu | Positif |
| 8 | T3P4A | <i>Coccus</i> | Ungu | Positif |
| 9 | T3P4B | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |
| 10 | T3P5A | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |
| 11 | T3P5B | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |
| 12 | T3P6 | <i>Basil</i> | Ungu | Positif |

5. Karakteristik Berdasarkan Uji Biokimia

Berdasarkan hasil uji kimia dapat dilihat (Tabel 4.) bahwa seluruh isolat bakteri dengan kode isolat T1P4B, T1P4C, T1P5A, T1P5B, T1P5C, T2P4, T2P5, T3P4A, T3P4B, T3P5A, T3P5B dan T3P6 menunjukkan hasil positif atau mampu memecah H₂O menjadi oksigen, hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya gelembung gas hasil degradasi H₂O₂ 3% (Gambar 1.)

Diketahui bahwa tidak seluruh isolat bakteri yang didapatkan memiliki flagel sebagai alat gerak. Dari 12 isolat yang di dapatkan, 10 isolat menunjukkan hasil *positif* atau termasuk kelompok bakteri yang memiliki flagel sebagai alat gerak dengan kode isolate T1P4B, T1P4C, T1P5A, T1P5B, T1P5C, T3P4A, T3P4B, T3P5A, T3P5B dan T3P6, hal tersebut dibuktikan dengan adanya pertumbuhan koloni yang menyebar serta media menjadi keruh seperti kabut setelah ditanamkan 1 isolat bakteri secara tegak lurus pada media. Sedangkan 2 isolat bakteri lainnya menunjukkan hasil *negatif* atau tidak termasuk kelompok bakteri yang memiliki flagel sebagai alat geraknya dengan kode isolat T2P4 dan T2P5, hal tersebut dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni yang menyebar serta media menjadi keruh seperti kabut setelah ditanamkan 1 isolat secara tegak lurus pada media, hanya bertumbuh lurus didaerah penusukan.

Diketahui bahwa tidak seluruh isolat bakteri yang ditemukan mampu memecahkan triptofan asam amino yang membentuk senyawa indol. Dari 12 isolat bakteri yang didapatkan, 1 isolat bakteri menunjukkan hasil *positif* atau termasuk kedalam kelompok bakteri yang memiliki kemampuan dalam memecahkan triptofan asam amino yang membentuk senyawa indol dengan kode isolat T1P5A, hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya cincin berwarna merah pada bagian atas media setelah ditetesi 3-5 tetes *reagen kovac's*. Sedangkan 11 isolat bakteri lainnya menunjukkan hasil *negatif* atau tidak tergolong kedalam kelompok bakteri yang memiliki kemampuan dalam memecahkan triptofan asam amino yang membentuk senyawa indol dengan kode isolat T1P4B, T1P5A, T1P4C, T1P5B, T2P4, T2P5, T3P4A, T3P4B, T3P5B dan T3P6, hal tersebut dibuktikan dengan tidak terbentuknya cincin berwarna merah pada bagian atas media setelah ditetesi 3-5 tetes *reagen kovac's*.

Diketahui bahwa tidak seluruh isolat termasuk kedalam kelompok bakteri yang bersifat asam, basa maupun memproduksi gas. Dari 12 isolat bakteri yang didapatkan, 9 isolat bakteri termasuk kedalam kelompok bakteri yang bersifat basa, dimana bagian atas dan bawah media tidak mengalami perubahan warna atau tetap berwarna merah (*K/K*) dengan kode isolat T1P4B, T1P4C, T2P4, T2P5, T3P4A, T3P4B, T3P5A, T3P5B dan T3P6. 1 isolat bakteri termasuk kedalam kelompok bakteri yang bersifat basa/asam (*K/A*), dimana bagian atas media tetap berwarna merah namun bagian bawah media berubah menjadi berwarna kuning dengan kode

isolat T1P5C. 1 isolat bakteri termasuk kedalam kelompok bakteri yang bersifat basa/asam dan memiliki warna hitam pada bagian tengah (*K/A H₂S*), dimana bagian atas media tetap berwarna merah, bagian bawah media berubah menjadi kuning namun terdapat berwarna hitam pada bagian tengah dengan kode isolat T1P5B. kemudian 1 isolat bakteri termasuk kedalam kelompok bakteri bersifat basa/asam dan memiliki warna hitam pada bagian tengah dan mampu memproduksi gas (*K/A, H₂S Gas*), dimana bagian atas media tetap berwarna merah, sedangkan bagian bawah berubah menjadi kuning dan terdapat warna hitam bagian tengah serta terbentuk gas pada media dengan kode isolat T1P5A.

Tabel 4. Karakterisasi Berdasarkan Uji Biokimia

| NO | Kode Isolat | Karakterisasi Berdasarkan Uji Biokimia | | | | |
|----|-------------|--|---------------|-----------|---------------------------|------------|
| | | Uji Katalase | Uji Motilitas | Uji Indol | Uji TSIA | Keterangan |
| 1 | T1P4B | + | + | - | K/K | Hetero |
| 2 | T1P4C | + | + | - | K/K | Hetero |
| 3 | T1P5A | + | + | + | K/A H ₂ S, Gas | Hetero |
| 4 | T1P5B | + | + | - | K/A, H ₂ S | Hetero |
| 5 | T1P5C | + | + | - | K/A | Hetero |
| 6 | T2P4 | + | - | - | K/K | - |
| 7 | T2P5 | + | - | - | K/K | - |
| 8 | T3P4A | + | + | - | K/K | Hetero |
| 9 | T3P4B | + | + | - | K/K | Hetero |
| 10 | T3P5A | + | + | - | K/K | Hetero |
| 11 | T3P5B | + | + | - | K/K | Hetero |
| 12 | T3P6 | + | + | - | K/K | Hetero |

Keterangan :

- +
 -
 - K/A
 - K/A, H₂S
 - K/A, H₂S, Gas
 - K/K
- : Uji Bersifat Positif
 - : Uji Bersifat Negatif
 - : Basa/Asam
 - : Basa/Asam Berwarna Hitam
 - : Basa/Asam Berwarna Hitam + Menghasilkan Gas
 - : Basa/Basa

Isolat bakteri heterotrofik dinilai mampu menghasilkan enzim katalase untuk kelangsungan hidupnya, dimana enzim katalase akan memecah H₂O₂ yang bersifat toksis menjadi molekul air dan oksigen sehingga toksisnya hilang . Isolat bakteri dapat mengalami kematian jika tidak dapat memecah *hydrogen peroksida* menjadi senyawa lain yang umumnya tidak berbahaya, dikarenakan *hydrogen peroksida* bersifat toksis terhadap sel bakteri dan mampu menonaktifkan enzim yang ada didalam sel dan hal itu akan berbahaya bagi sel

bakteri itu sendiri, pemecahan senyawa *hydrogen peroksida* tersebut dapat terjadi jika terdapat enzim katalase (Pulungan dan Tumangger, 2018).

Uji motilitas adalah salah satu uji biokimia yang bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang didapatkan termasuk kedalam kelompok bakteri yang memiliki flagel sebagai alat geraknya, dengan cara mengambil 1 ose penuh isolat bakteri dan ditusuk secara tegak lurus pada media SIM (*Sulfit Indol Motility*) kemudian media diinkubasi dengan menggunakan suhu 37°C selama 24 jam (Rahmawati dan Isnaeni, 2016).

Prinsip uji indol ialah menentukan kemampuan suatu organisme dalam menghasilkan senyawa indol dari triptofan. Asam amino triptofan sendiri adalah komponen asam amino yang umumnya digunakan oleh mikroorganisme akibat adanya penguraian senyawa organik. Hasil positif pada uji indol menandakan bahwasannya isolat bakteri memiliki enzim triptofanase yang merupakan katalis pengurai gugus indol yang terkandung didalam asam amino triptofan. Didalam media biakan umumnya indol akan terbentuk sebagai produk buangan, penumpukan indol didalam media biakan dapat diketahui dengan adanya penambahan berbagai reagen dimana reagen akan bereaksi dengan indol dan menghasilkan suatu senyawa yang nantinya tidak akan larut didalam air dan juga berwarna merah pada permukaan media (Pattuju dkk, 2014).

Jika terdapat warna merah pada bagian slant dan kuning pada bagian butt menunjukkan adanya fermentasi glukosa tetapi tidak terdapat laktosa dan sukrosa, sedangkan warna merah pada slant dan butt media tabung menunjukkan bahwa ketiga gula tidak terfermentasi serta bagian butt media kadang terpecah akibat pembentukan gas ditandai dengan adanya rongga-rongga dibagian butt media oleh kelompok isolat bakteri yang mampu menghasilkan gas (Wahyuni dkk, 2018).

6. Identifikasi Bakteri Heterotrofik

Penentuan genus dari kelompok bakteri heterotrofik dilakukan berdasarkan pengamatan karakterisasi morfologi bakteri, uji pewarnaan gram dan uji biokimia. Pengamatan sifat-sifat yang ditunjukkan oleh masing-masing bakteri ini didasarkan pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Edition*, *Bergey's Of Systematic Bacteriology 2nd Edition* dan jurnal-jurnal ilmiah. Dari hasil pengamatan karakterisasi morfologi bakteri (Tabel 2.), uji pewarnaan gram (Tabel 3.) dan uji biokimia (Tabel 4.) didapatkan 7 isolat bakteri dengan genus *Bacillus* dan 3 isolat bakteri dengan genus *Micrococcus* (Tabel 5.).

Tabel 5. Hasil Pengamatan Bakteri

| No | Kode Isolat | Genus Bakteri | Keterangan |
|----|-------------|--------------------------|--------------|
| 1 | T1P4B | Genus <i>Micrococcus</i> | Heterotrofik |
| 2 | T1P4C | Genus <i>Micrococcus</i> | Heterotrofik |
| 3 | T1P5A | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |
| 4 | T1P5B | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |
| 5 | T1P5C | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |
| 6 | T3P4A | Genus <i>Micrococcus</i> | Heterotrofik |
| 7 | T3P4B | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |
| 8 | T3P5A | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |
| 9 | T3P5B | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |
| 10 | T3P6 | Genus <i>Bacillus</i> | Heterotrofik |

Berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th Edition* (Buchanan and Gibbon, 1974), beberapa genus bakteri yang umumnya tergolong kedalam kelompok bakteri heterotrofik antara lain: genus *Bacillus*, genus *Vibrio*, genus *Micrococcus*, genus *Pseudomonas* dan genus *Escherichia*. Namun, dalam penelitian hanya ditemukan 2 genus saja yang dapat dikategorikan kedalam kelompok bakteri heterotrofik yaitu, genus *Bacillus* dan genus *Micrococcus*. Hal tersebut dikarenakan pada hasil penelitian yang tergolong kedalam kelompok bakteri heterotrofik memiliki bentuk sel yang basil dan bulat.

Pada genus *Pseudomonas* umumnya memiliki habitat di tanah. Selain itu, kelompok *Pseudomonas* termasuk kelompok bakteri yang tidak dapat memfermentasikan gula, sedangkan pada penelitian didapatkan hasil uji TSIA yang terfermentasi atau seluruh isolat bakteri dapat memfermentasikan gula. Pada genus *Escherichia* memiliki habitat disaluran pencernaan manusia dan dapat bertahan hidup diluar tubuh manusia yang penyebarannya melalui feses. Selain itu, hasil pewarnaan gram genus *Escherichia* bersifat gram negatif dengan hasil uji indol bersifat positif, sedangkan pada hasil penelitian seluruh isolat yang bersifat gram negatif memiliki hasil uji indol bersifat negatif juga.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat jenis bakteri heterotrofik tergolong kedalam genus *Bacillus* dan genus *Micrococcus* di kawasan perairan laut Desa Panipahan. Kawasan perairan laut Desa Panipahan terdapat bakteri heterotrofik tergolong kedalam genus *Bacillus* dengan karakteristik berwarna putih susu, bentuk koloni bulat, bentuk sel batang, berukuran kecil, dan termasuk bakteri gram positif. serta genus *Micrococcus* dengan karakteristik berwarna putih susu, berkoloni bulat, bentuk sel bulat dan termasuk kedalam bakteri gram positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, M. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Mikroba Penghasil Antibiotika Dari Air Laut Perairan Pantai Solor. Skripsi. Program Sarjana UIN Alauddin. Makassar.
- Armaleni., Nasril Nasir., dan Anthoni Agustien, 2019, Antagonis *Pseudomonas Fluorescens* Indegenous Terhadap *Ralstonia Solanacearum* Pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum Esculentum*), *Jurnal Metamorfosa*, 6(1), 120.
- Buchanan, R. E, and N. E. Gibbon. 1974. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriologi. Eight Edition*. USA: The William and Wilkins Company.
- Damayanti, Sri Suci., Oom Komala., dan E.Mulyati Effendi. 2018. Identifikasi Bakteri Dari Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi. *Ekologia : Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 18(2). 63-71.
- Hamidah, Mukti Nur., Laras Rianingsih., dan Romadhon. 2019. Aktivitas Antibakteri isolate Bakteri Asam Laktat dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E.coli* dan *S.aureus*. *jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*. 1(2). 11-21.
- Isnaeni, D dan Rahmawati, 2016, Isolasi Dan Karakterisasi Mikriosimbion Dari Spons *Callyspongia Vaginalis* Dan Uji Daya Hambat Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dan *Salmonella Thypi*, *Jurnal Farmasi*, 13(2), 11.
- Istiqfarin, N. 2017. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Gelatinasi dari Sedimen Pantai Mandranrejo Pasuruan. Skripsi. Program Sarjana Universitas Brawijaya. Malang.
- Nurhidayati, Sri., Faturrahman., dan Mursal Ghazali, 2015. Deteksi Bakteri Patogen Yang Berasosiasi Dengan *Kappaphicus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice, *Jurnal Sains Teknologi Dan Lingkungan*, 1(2), 25-26.
- Pattuju, Sarah Mariana., Fatimawali., Aaltje Manampiring, 2014, identifikasi bakteri resisten merkuri pada urine, feses dan kalkulus gigi pada individu di kecamatan malalayang, manado, sulawesi utara, *Jurnal E-Biomedik*, 2(2), 534.
- Pulungan, Ahmad Shafwan dan Diana Erawaty Tumangger. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna pubescens* Blume), *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 5(1), 72-80.
- Putri, Meganada Hiaranya., Sukini., dan Yodong, 2017, Mikrobiologi (Bahan Ajar Keperawatan Gigi), Kementrian Kesehatan RI : Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan Dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan. 16-18.

- Rahmawati dan Dewi Isnaeni. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Mikrosimbion Dari Spons *Callyspongia Vaginalis* dan Uji Daya Hambat Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*, *The National Journal Of Pharmacy*, 13(2), 8-19.
- Santi, Denita Irma., Norma Afiati., dan Pujiono W. Purnomo, 2017, Sebaran Bakteri Heterotrof, Bahan Organik Total, Nitrat Dan Klorofil-A Air Muara Sungai Cipasauran, Serang, *Journal Of Maquares*, 6(3), 223.
- Saputri, Endang dan Makhfud Efendy, 2020, Kepadatan Bakteri Coliform Sebagai Indikator Pencemaran Biologis Di Perairan Pesisir Sepuluh Kabupaten Bangkalan, *Jurnal Juvenil*, 1(2), 244.
- Ulfa, Atika., Endang Suarsini., Mimien Henie., dan Heni I. Almuhdhar, 2016, Isolasi Dan Uji Sensivitas Merkuri Pada Bakteri Dari Limbah Penambangan Emas Di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan, *Prosiding Biology Education Conference*, 13(1), 796-797.
- Wahyuni, Renji Mailisa., Arman Sayuti., Mahdi Abrar., Erina., M. Hasan., dan Zainuddin. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen Pada Badak Sumatera (*Dicerorhinus Sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatera (Srs), Taman Nasional Way Kambas (Tnwk), Lampung, *JIMVET*, 2(4), 474-487.
- Widjaya, R.K., Nugroho, F., dan Arief, H. 2020. Tingkat Kesejahteraan Rumah Tangga Nelayan di Panipahan Darat Kecamatan Pasir Limau Kapas Kabupaten Rotan Hilir Provinsi Riau. *Jurnal Sosial Ekonomi Pesisir*. 1(4): 48-56.
- Wondal, Bella., Elvy Ginting., Viebe Warouw., Stenly Wullu., Sandra Olivia Tilaar., dan Ferdinand Frans Tilaar. 2019. Isolasi Bakteri Laut dari Perairan Malayang Sulawesi Utara. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 7(3). 183-189.
- Yulitasary, Aditya Tanjung., Iis Nur Aisyah., dan Mochammad Iqbal. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Azotobacter* dari Rhozofe Tanaman Kopi (*Coffea Canephora*) Yang Terserang Nematoda Parasit *Pratylenchus coffea*. *Saintifika*. 19(2). 12-23.