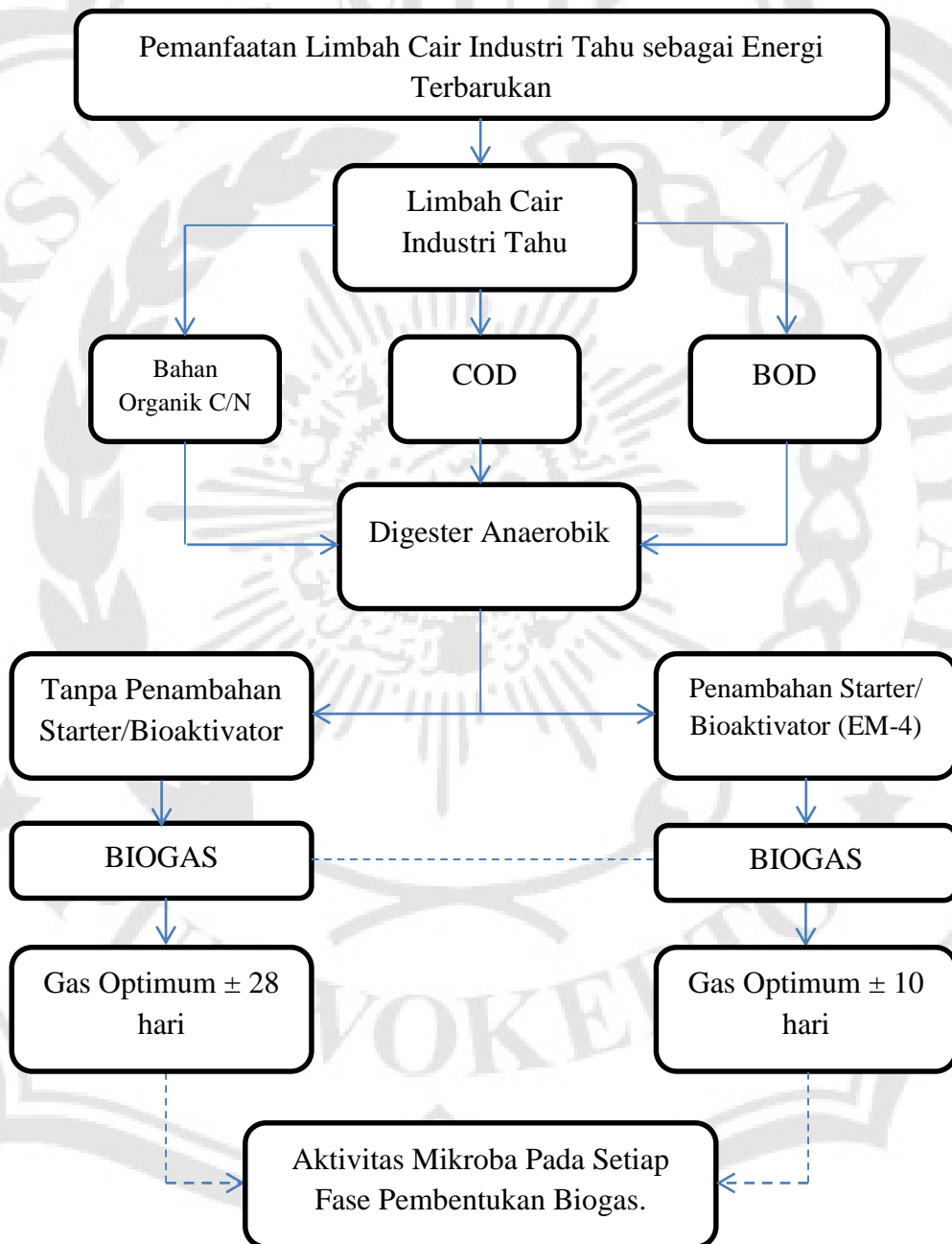


BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Kerangka Teori



Gambar 2.1. Bagan Kerangka Teori (Dinata *et al.*, 2014; Ridhuan, 2008; Subekti, 2011; Umesh *et al.*, 2013)

2.1.2. Limbah Cair Industri Tahu

Limbah industri tahu adalah limbah yang dihasilkan dalam proses pembuatan tahu maupun pada saat pencucian kedelai. Limbah yang dihasilkan berupa limbah padat dan cair. Limbah padat belum dirasakan dampaknya terhadap lingkungan karena dapat dimanfaatkan untuk makanan ternak, tetapi limbah cair akan mengakibatkan bau busuk dan bila dibuang langsung ke sungai akan menyebabkan tercemarnya sungai. Satu ton tahu atau tempe yang diproduksi dapat menghasilkan limbah sebanyak 3000 – 5000 Liter (Darma, 2015).

Proses pengolahan kedelai menjadi tahu menghasilkan 2 jenis limbah yaitu: limbah padat dan limbah cair. Limbah padat pada umumnya dimanfaatkan sebagai pakan ternak, sementara limbah cair akan dibuang langsung ke lingkungan (Ridhuan, 2008). Baku mutu air limbah cair tahu yang direkomendasikan berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia No. 5 tahun 2014 mencakup 4 parameter yaitu: BOD (150 mg/L), COD (300 mg/L), TSS (200 mg/L), dan pH (6-9). Dinata *et al.* (2014) menyatakan bahwa pada umumnya limbah cair tahu memiliki kadar COD sebesar 4150,2 mg/L; TSS sebesar 1115,5 mg/L; dan pH = 5. Limbah cair tahu dengan karakteristik mengandung bahan organik tinggi dan kadar cemaran yang cukup jika langsung dibuang ke badan air maka akan menurunkan daya dukung lingkungan. Oleh sebab itu, industri tahu memerlukan suatu pengolahan limbah yang bertujuan untuk mengurangi resiko beban pencemaran yang ada (Subekti, 2011).

Industri tahu yang berkembang kebanyakan merupakan industri rumahan yang tidak dilengkapi dengan unit pengolahan air limbah. Disisi lain limbah

tersebut justru baik jika dimanfaatkan untuk bahan baku pembuatan biogas. Limbah cair tahu mempunyai kandungan bahan organik yang tinggi sehingga menjadikan limbah tersebut potensial sebagai bahan baku atau substrat dalam pembuatan biogas (Hidayat *et al.*, 2012).

2.1.3. Energi Terbarukan Biogas

2.1.3.1. Definisi

Biogas merupakan gas yang dihasilkan dari proses penguraian bahan-bahan organik oleh mikroorganisme pada kondisi tanpa adanya oksigen (anaerob). Biogas merupakan campuran beberapa gas dengan komponen utama adalah gas metana (CH_4) dan karbondioksida (CO_2); dengan sejumlah kecil uap air, hidrogen sulfide (H_2S), karbonmonoksida (CO), dan nitrogen (N) (Hardoyo *et al.*, 2014). Lebih lanjut Rahayu *et al.* (2014), menjelaskan bahwa kandungan terbesar dalam biogas adalah gas metana (CH_4). Gas metana yang merupakan komponen utama biogas merupakan bahan bakar yang berguna karena mempunyai nilai kalor cukup tinggi, yaitu sekitar 8900 Kkal/m^3 . Karena nilai kalor yang cukup tinggi itulah biogas dapat dipergunakan untuk keperluan penerangan, memasak, menggerakkan mesin dan sebagainya. Kesetaraan biogas dengan sumber energi lain, yaitu 1 m^3 biogas setara dengan elpiji 0,46 Kg; 0,62 L minyak tanah; 0,52 L minyak solar; 0,80 L minyak bensin; $1,50 \text{ m}^3$ gas kota; dan 3,50 kg kayu bakar (Sunaryo, 2014).

Secara ilmiah, biogas yang dihasilkan dari sampah organik adalah gas yang mudah terbakar (*flammable*). Gas tersebut dihasilkan dari proses fermentasi bahan-bahan organik oleh bakteri anaerob (bakteri yang hidup dalam kondisi tanpa udara). Umumnya, semua jenis bahan organik bisa diproses untuk

menghasilkan biogas. Tetapi hanya bahan organik homogen, baik padat maupun cair yang cocok untuk sistem biogas sederhana. Bila sampah-sampah organik tersebut membusuk, akan dihasilkan gas metana (CH_4) dan karbondioksida (CO_2). Tapi, hanya CH_4 yang dimanfaatkan sebagai bahan bakar (Said, 2008 dalam Wiranata, 2014).

Biogas dihasilkan apabila bahan-bahan organik terurai menjadi senyawa-senyawa pembentuknya dalam keadaan tanpa oksigen (*anaerob*). Fermentasi *anaerob* ini biasa terjadi secara alami di tanah yang basah, seperti dasar danau dan di dalam tanah pada kedalaman tertentu. Proses fermentasi adalah penguraian bahan-bahan organik dengan bantuan mikroorganisme. Fermentasi *anaerob* dapat menghasilkan gas yang mengandung sedikitnya 50% metana. Gas inilah yang biasa disebut dengan biogas. Biogas dapat dihasilkan dari fermentasi sampah organik seperti sampah pasar, daun-daunan, dan kotoran hewan yang berasal dari sapi, babi, kambing, kuda, atau yang lainnya, bahkan kotoran manusia sekalipun. Gas yang dihasilkan memiliki komposisi yang berbeda tergantung dari jenis hewan yang menghasilkannya (Firdaus, U.I, 2009 dalam Harsono, 2013).

Hardoyo *et al.* (2014) menyebutkan bahwa terdapat manfaat dan kelebihan biogas antara lain:

- a. Dapat dimanfaatkan untuk keperluan memasak, penggerak generator untuk pembangkit listrik, dan selanjutnya dapat digunakan pada otomotif.
- b. Sebagai solusi penyediaan energi khususnya di pedesaan, serta mengurangi penggunaan kayu dari penebangan pohon-pohon sebagai bahan bakar.

- c. Biogas tidak menghasilkan asap, sehingga mengurangi resiko gangguan pernapasan.
- d. Biogas menjadi sumber energi terbarukan karena dihasilkan dari limbah biomassa serta kotoran manusia dan hewan yang ketersediaanya sangat melimpah dan kontinyu.

2.1.3.2. Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Biogas

Menurut Wiranata (2014), terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi produksi biogas antara lain sebagai berikut:

a. Laju Pembebanan (*Loading Rate*)

Laju pembebanan biasanya disebut *loading rate* adalah besaran yang menyatakan jumlah material organik dalam satu satuan volume yang diumpamakan pada reaktor. Substrat cair yang diumpamakan dapat didegradasi oleh mikroba, kemudian diubah menjadi metana melalui proses biogas oleh mikroba-mikroba pengurai di dalam reaktor. Perubahan laju pembebanan yang mendadak dapat mengakibatkan kenaikan yang setara dalam produksi asam, yang tidak dapat disesuaikan oleh kenaikan yang setara dalam pembentukan metana. Pembentukan produk asam asetat (asam lemak organik) akan mengakibatkan penurunan pH dan penghambatan lebih jauh dari produk metan akan terjadi. Satuan laju pembebanan adalah $\text{kg COD/m}^3\text{hari}$.

b. Konsentrasi Substrat (COD)

Konsentrasi bahan organik sangat berpengaruh terhadap perencanaan pembuatan dimensi reaktor dan juga bagi kelangsungan proses penguraian zat organik kompleks menjadi senyawa sederhana. Kelemahan perencanaan reaktor

dengan kandungan COD yang rendah adalah kebutuhan volume reaktor yang cukup besar untuk menampung umpan substrat.

c. Kandungan Asam Lemak Organik (*Volatile Fatty Acid*)

Asam lemak organik biasa disebut *volatile fatty acid* yang mempunyai rumus R-COOH. Asam lemak yang dibentuk dalam hidrolisa polisakarida umumnya adalah jenis rantai pendek seperti asetat, propionate dan butirat. Konsentrasi asam lemak yang tinggi akan menyebabkan turunnya pH reaktor dan akan membuat terbentuknya asam lemak rantai panjang. Batas konsentrasi asam asetat yang dapat ditoleransi adalah dibawah 10 mg/L; diatas batas tersebut menyebabkan rusaknya sistem biologi.

d. Alkalinitas.

Alkalinitas pada proses fermentasi anaerobik adalah kemampuan lumpur didalam reaktor untuk menetralkan asam. Hal ini diperlukan untuk mengimbangi fluktuasi konsentrasi asam didalam reaktor, sehingga fluktuasi pH tidak terlalu besar dan tidak sampai mengakibatkan gangguan pada stabilitas reaktor.

e. pH.

pH adalah besaran yang menyatakan banyaknya ion H^+ . Nilai pH ini dirumuskan sebagai $pH = -\log (H^+)$. Stabilitas proses fermentasi anaerobik sangat tergantung pada nilai pH didalam reaktor. pH yang rendah menyatakan adanya kelebihan proton (H^+) didalam reaktor sebab proton akan berubah menjadi H_2 yang merupakan senyawa dalam reaktor, pH yang baik untuk operasi adalah 6,0 – 7,5

Bakteri pada umumnya tumbuh dalam suatu rentang pH tiga unit dan mikroba juga menunjukkan nilai pertumbuhannya maksimum antara pH 6,0 – 7,5. Pada pH lebih rendah dari 5,0 dan lebih tinggi dari 8,5 pertumbuhannya sering terhambat meskipun untuk beberapa mikroba ada pengecualian, seperti sejumlah kecil *Acetobacter* sp. Pengaturan pH sangat penting untuk menjaga pertumbuhan mikroba yang terbaik dari proses pengubahan sistem mikroba anaerobik. Pada awal operasi atau pada saat inokulasi pH dalam bioreaktor dapat turun menjadi 6 atau lebih rendah. Hal tersebut disebabkan terbentuknya asam-asam lemak organik. Setelah beberapa saat pH akan naik kembali yang disebabkan terbentuknya gas metan dari asam-asam lemak tersebut.

f. Rasio perbandingan Karbon dan Nitrogen.

Rasio C/N adalah besaran yang menyatakan perbandingan jumlah atom karbon dibagi dengan atom nitrogen. Di dalam reaktor terdapat populasi mikroba yang memerlukan karbon dan nitrogen. Apabila nitrogen tidak tersedia dengan cukup, maka mikroba tidak dapat memproduksi enzim yang berguna untuk mencerna karbon. Apabila nitrogen terlalu banyak maka pertumbuhan mikroba akan terganggu, hal ini khususnya terjadi apabila kandungan ammonia didalam substrat terlalu tinggi. Kebutuhan atom karbon selama respirasi pembentukan sae untuk setiap 1 atom nitrogen adalah sebanyak 30 atom karbon. Oleh karena itu nilai C/N yang baik adalah sekitar 30.

g. Temperatur

Proses pengubahan zat organik polimer menjadi senyawa yang lebih sederhana didalam reaktor dipengaruhi oleh temperatur. Berdasarkan temperatur yang biasa pada pengoperasian reaktor, maka bakteri yang terdapat didalam reaktor dapat dibedakan atas dua golongan, yaitu: Termofilik yang hidup pada suhu antara 40 – 60°C, dan Mesofilik yang hidup pada suhu antara 25 – 40°C. Temperatur yang terbaik untuk pertumbuhan mikroba mesofilik adalah 30°C atau lebih tinggi sedikit. Bila reaktor anaerobik dioperasikan pada suhu yang lebih rendah, misalnya 20°C, pertumbuhan mikroba pada kondisi ini sangat lambat dan sulit pada awal operasi untuk beberapa bioreaktor. Inokulasi akan lebih baik jika dimulai pada suhu pada suhu 30°C.

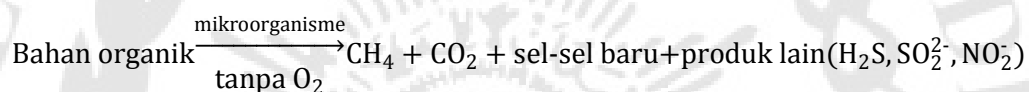
h. Senyawa Racun dan Penghambat

Senyawa penghambat atau inhibitor pada proses fermentasi anaerob dapat dibedakan atas 2 jenis yaitu penghambat fisik dan penghambat kimia. Penghambat fisik adalah temperatur dan penghambat kimia bisa disebut juga dengan racun diantaranya adalah logam berat, antibiotik dan *Volatile Fatty Acid* (VFA). Proses pengolahan yang dilakukan tidak hanya secara anaerobik akan tetapi dilakukan pula secara aerobik.

2.1.4. Proses Fermentasi Anaerobik Biogas

Teknologi biogas pada prinsipnya adalah teknologi yang memanfaatkan proses fermentasi (pembusukan) dari sampah organik secara anaerobik (bakteri yang hidup dalam kondisi kedap udara) (Bahrin *et al.*, 2011).

Fermentasi anaerobik adalah proses pengolahan senyawa-senyawa organik yang terkandung dalam limbah menjadi gas metana dan karbon dioksida tanpa memerlukan oksigen. Pada kondisi anaerobik, ruangan harus dalam keadaan tertutup dan tidak memerlukan oksigen. Hal ini dikarenakan pada fermentasi anaerobik digunakan bakteri *metanogen* yang pertumbuhannya akan terganggu (Fitria, 2011). Bakteri yang dimaksud adalah bakteri anaerobik seperti *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcinae*, dan *Desulfovibrio*. Keseluruhan reaksi yang terjadi sering disederhanakan, secara umum prinsip digesti anaerob adalah sebagai berikut (Hardoyo *et al.*, 2014):



Reaksi pembentukan gas metana melalui fermentasi anaerobik dilakukan oleh berbagai aktivitas mikroorganisme. Reaksi fermentasi ini memiliki jalur metabolik yang cukup kompleks, terutama pada tahap asidogenesis (Fitria, 2011). Secara lebih spesifik Umesh *et al.* (2013) menjelaskan fermentasi anaerobik adalah serangkaian proses dimana mikroorganisme memecah bahan *biodegradable* dalam keadaan tanpa oksigen, digunakan untuk keperluan industri maupun domestik serta mengelola limbah dan/atau untuk melepaskan energi. Keutamaan dari proses ini adalah pengurangan massa, produksi biogas dan peningkatan sifat pemecahan air pada *sludge* perlu ditingkatkan.

Prasetyo (2010) menjelaskan bahwa proses pembentukan biogas secara umum melalui tiga fase yaitu:

- a. Fase Hidrolisis, merupakan fase penguraian bahan-bahan organik yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan bahan ekstraktif seperti, protein, karbohidrat dan lemak menjadi senyawa dengan rantai yang lebih pendek. Sebagai contoh polisakarida terurai menjadi monosakarida, sedangkan protein terurai menjadi peptida dan asam amino. Pada tahap ini, mikroorganisme yang berperan mengeluarkan sejumlah enzim ekstraseluler seperti *selulose*, *amilase*, *protease*, dan *lipase*.
- b. Fase Pengasaman, merupakan fase bakteri akan menghasilkan asam yang berfungsi untuk mengubah senyawa hasil hidrolisis menjadi asam asetat (CH_3COOH), H_2 , dan CO_2 . Bakteri yang berperan merupakan bakteri anaerob yang dapat tumbuh pada keadaan asam dengan pH 5,5 - 6,5. Bakteri tersebut bekerja secara optimum pada temperatur sekitar 30°C . Selain itu, bakteri tersebut juga mengubah senyawa bermolekul rendah menjadi alkohol, asam organik, CO_2 , H_2S , dan CH_4 . Fase pengasaman sering disebut juga fase asidogenik.
- c. Fase Metanogenik, merupakan fase pembentukan gas CH_4 oleh bakteri *methanogenesis* (bakteri metana), yaitu dari jenis *Methanobacterium*, *Methanobacillus*, *Methanosacaria*, dan *Methanococcus*. Bakteri tersebut memerlukan kondisi digester yang benar-benar kedap udara dan gelap. Temperatur optimum bagi bakteri tersebut adalah 35°C dengan kisaran pH

6,5 – 7,5. Hasil akhir metabolisme adalah CH_4 dan CO_2 yang berasal dari gas H_2 , CO_2 , dan asam asetat yang dihasilkan pada fase pengasaman.

2.1.5. Starter EM-4 (*Effective Microorganism-4*)

Effective Microorganism-4 (EM-4) merupakan salah satu bioaktivator yang efektif untuk menginokulasi sampah seperti sampah organik untuk mempercepat proses penguraian. Mikroorganisme yang terdapat dalam EM-4 adalah bakteri asam laktat, ragi, *Actinomycetes*, dan bakteri fotosintesis yang mampu bersimbiosis satu dengan yang lain sehingga efektif dalam menguraikan sampah. Berbagai penelitian terkait penggunaan EM-4 dalam menguraikan materi organik telah banyak dilakukan. Suatu proses pembentukan biogas di dalam digester yang memanfaatkan bakteri sebagai sarana untuk memecah senyawa polimer (dalam hal ini adalah karbohidrat, lemak, dan protein) diperlukan media tambahan untuk membantu mempercepat proses, dan salah satu media yang dapat digunakan untuk membantu mempercepat proses tersebut adalah EM-4 (*Effective Microorganism-4*) (Sundari *et al.*, 2012).

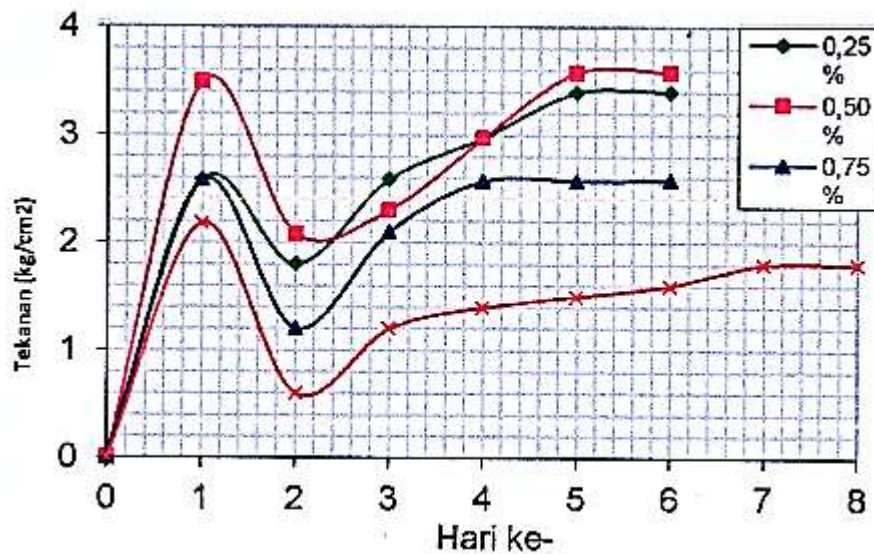
EM-4 merupakan media berupa cairan yang berisi mikroorganisme yang dapat memecah senyawa polimer (dalam hal ini adalah karbohidrat, lemak, dan protein) menjadi senyawa monomernya. Semakin banyak sumber energi yang dihasilkan, sehingga produksi biogas akan semakin tinggi. Hal tersebut akan sangat menguntungkan bagi masyarakat karena semakin tinggi produksi biogas, maka kebutuhan bahan bakar minyak sebagai sumber energi dapat diminimalisir (Megawati & Aji, 2015).

2.1.6. Pengaruh Konsentrasi Penambahan Starter EM-4 pada Laju Pembentukan Biogas Limbah Cair Tahu

Effective Microorganisms-4 (EM-4) adalah salah satu biokatalis yang berpotensi sebagai sumber mikroorganisme dalam pembuatan biogas. Bahan organik difermentasikan dengan bantuan EM-4 untuk kemudian melepaskan hasil-hasil fermentasi berupa gula, alkohol, vitamin, asam laktat, asam amino dan senyawa organik lainnya (Wididana *et al.*, 1996 dalam Hidayat *et al.*, 2012).

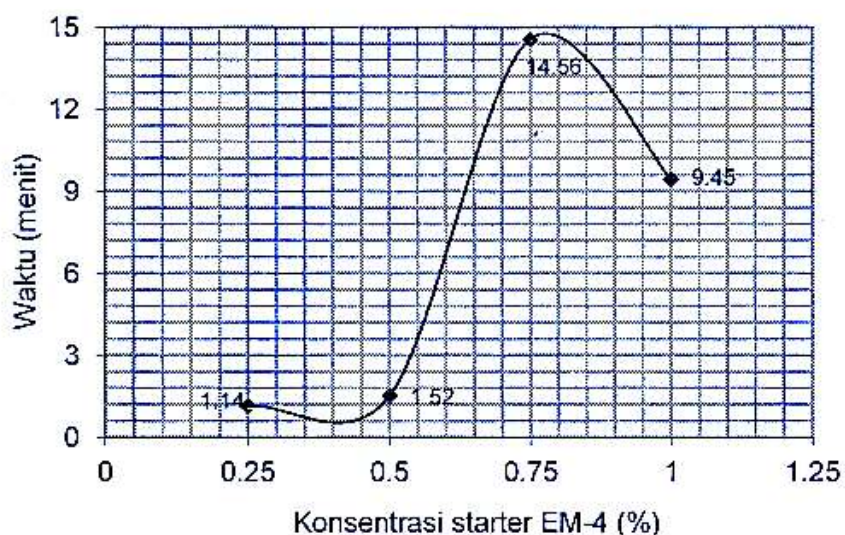
Penambahan EM-4 bertujuan untuk memperpendek fase adaptasi atau fase lag dari mikroorganisme saat permulaan proses degradasi, sehingga dari segi waktu proses pendegradasian akan semakin cepat dan efisien. Disamping itu, penambahan EM-4 secara teknis mudah didapatkan di pasaran dan harganya relatif murah (Paturohman, 2009 dalam Hidayat *et al.*, 2012).

Hidayat *et al.* (2012), menjelaskan bahwa produksi biogas dari limbah cair industri tahu dengan biokatalisator EM-4 dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan pada perbedaan konsentrasi EM-4. Konsentrasi EM-4 yang diujikan adalah 0,25%; 0,5%; 0,75%; dan 1%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali. Penambahan EM-4 sebagai starter untuk produksi biogas ternyata mempercepat pembentukan biogas secara signifikan (**Gambar 2.2.**).



Gambar 2.2. Grafik hubungan penambahan starter EM-4 terhadap pembentukan Biogas (Hidayat *et.al.*, 2012).

Banyaknya mikroorganisme yang bersaing mengakibatkan proses degradasi bahan organik menjadi kurang sempurna sehingga gas metana yang dihasilkan tidak optimal (Gambar 2.3.)



Gambar 2.3. Grafik hubungan antara penambahan starter EM-4 pada berbagai konsentrasi terhadap lama waktu pembakaran biogas. (Hidayat *et.al.*, 2012).

Pembakaran biogas tertinggi diperoleh pada penambahan konsentrasi starter EM-4 sebanyak 0,75% (Gambar 2.3). Nyala api berwarna biru yang dihasilkan menunjukkan bahwa proses pembakaran cukup sempurna. Grafik pembakaran biogas pada Gambar 2.3 konsisten jika dibandingkan dengan grafik pembentukan biogas pada Gambar 2.2. Terdapat dua kelompok, kelompok pertama adalah konsentrasi EM-4 0,25% dan 0,5% sedangkan kelompok kedua adalah konsentrasi EM-4 0,75% dan 1%. Pada kelompok pertama, meskipun tekanan gas yang dihasilkan tinggi tetapi waktu yang diperlukan untuk membakar habis biogas hanya sebentar yaitu 1 menit 14 detik untuk konsentrasi EM-4 0,25% dan 1 menit 52 detik untuk konsentrasi EM-4 0,50%. Masih banyaknya gas selain metana yang dihasilkan oleh mikroorganisme diduga menjadi penyebab tingginya tekanan yang dihasilkan. Proses pendegradasian bahan organik yang lambat mengakibatkan gas yang dihasilkan pun menjadi tidak seragam. Pada kelompok kedua, meskipun tekanan gas yang dihasilkan tampak lebih rendah tetapi menghasilkan waktu pembakaran yang cukup lama yaitu 14 menit 56 detik untuk konsentrasi EM-4 0,75% dan 9 menit 45 detik untuk konsentrasi EM-4 1%. Pada kelompok ini gas yang terbentuk di dalam digester sebagian besar adalah metana. Hal tersebut terlihat dari waktu pembakaran yang lebih lama dibandingkan kelompok pertama. Pada konsentrasi EM-4 1% terlihat tekanan gas dan waktu pembakaran menjadi menurun dibandingkan konsentrasi EM-4 0,75%. Kondisi ini disebabkan banyaknya mikroorganisme yang terlibat dalam degradasi bahan organik sehingga proses degradasi menjadi kurang sempurna. Hasil penelitian ini

menunjukkan bahwa produksi biogas optimum dengan volume substrat 20 liter terjadi pada perlakuan EM-4 konsentrasi 0,75%.

2.1.7. Uji Biokimia

Uji Biokimia merupakan pengujian yang dilakukan dengan berbagai metode uji agar mengetahui kemampuan mikroba secara fisiologis maupun biokimia dalam berbagai aktivitas metabolisme sebagai dasar indentifikasi. Sifat metabolisme mikroba dalam uji biokimia dapat dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen kimia yang digunakan (Waluyo, 2007 dalam Azizah, 2016).

Uji biokimia sebagai dasar identifikasi dapat meliputi: uji indol (mengetahui kemampuan mikroba menghasilkan indol dari *tryptophan*); uji fermentasi karbohidrat (mengetahui kemampuan mikroba dalam memanfaatkan karbohidrat meliputi: glukosa, laktosa, dan sukrosa); uji *methil red* (mengetahui kemampuan mikroba dalam mempertahankan produk akhir asam stabil dari hidrolisis glukosa); uji *voges proskuer* (mengetahui kemampuan mikroba dalam memproduksi senyawa non acidic); uji penggunaan sitrat (mengetahui kemampuan mikroba dalam memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon); uji katalase (mengetahui kemampuan mikroba dalam menghidrolisis senyawa H_2O_2); dan uji urease (mengetahui kemampuan mikroba dalam menghidrolisis urea) (Cappucino & Sherman, 1987).

2.1.8. Identifikasi dan Karakterisasi Mikroba

Identifikasi dan determinasi suatu biakan murni bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi dapat dilakukan melalui pengamatan ciri-ciri morfologi koloni serta pengujian fisiologi dan biokimianya. Mengidentifikasi suatu bakteri dapat dilakukan dengan mengamati karakteristik makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia bakteri tersebut. Karakteristik makroskopis yang dapat diamati meliputi bentuk koloni yaitu berbentuk bulat, titik, tidak teratur, seperti akar dan berfilamen atau berbenang serta kumbaran. Tepi koloni dapat berbentuk utuh, berombak, berbelah, bergerigi, berbenang dan keriting. Warna koloni terdiri dari keputihan, kekuningan, kemerahan, cokelat, jingga, orange, pink, hijau dan ungu. Elevasi koloni meliputi rata, timbul datar, melengkung dan cembung. Struktur koloninya halus mengkilat, kasar, berkerut atau kering seperti bubuk. Selain itu, ukurannya pun beragam dapat dilakukan dengan mengukur diameter dari koloni bakteri yang tumbuh (Irianto, 2012).

Karakteristik mikroskopis yang diamati meliputi bentuk sel, ukuran sel, dan pewarnaan. Bentuk sel bakteri seperti berbentuk batang (basil), bulat (kokus), dan spiral dengan masing-masing kombinasinya. Pengukuran sel bakteri secara mikroskopis dapat dilakukan dengan micrometer sedangkan pewarnaan yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora (Cappucino & Sherman, 1987).

a. Ukuran Bakteri

Ukuran bakteri sangat kecil, umumnya bentuk tubuh bakteri dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x atau lebih. Satuan ukuran tubuh bakteri adalah micrometer atau micron. Satu *micron* (μ) sama dengan 1/1000 milimeter (mm). panjang tubuh bakteri antara 1-2 μ sedangkan lebarnya antara 2-5 μ (Pelczar & Chan, 2013). Bakteri yang berumur 2-6 jam umumnya lebih besar dari bakteri yang berumur lebih dari 24 jam (Waluyo, 2004). Bakteri berbentuk kokus mempunyai diameter 0,5 μ ada pula yang berdiameter 2,5 μ , sedangkan panjang 1-1,5 μ (Dwidjoseputro, 2010).

b. Bentuk Bakteri

Sel-sel individu bakteri mempunyai beragam variasi bentuk seperti bulat (kokus), batang (basil) dan spiral (spirillum). Masing-masing bentuk atau ciri dapat mencirikan morfologi suatu spesies (Pelczar & Chan, 2013).

1) Kokus

Bentuk sel bakteri yang berbentuk bulat seperti bola-bola kecil. Sel bakteri yang berbentuk kokus ini muncul dalam beberapa penataan yang khas bergantung pada spesiesnya (Pelczar & Chan, 2013). Kokus dibedakan menjadi beberapa kelompok, yaitu: monokokus yang berbentuk bola tunggal, diplokokus yang membentuk bola bergandengan dua-dua, sarkina berbentuk bola berkelompok empat-empat menyerupai kubus, *streptococcus* berbentuk bola berkelompok memanjang membentuk rantai dan

staphylococcus yang berbentuk bola berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur sehingga mirip dompolan buah anggur (Irianto, 2012).

2) Basil

Bentuk sel bakteri yang berbentuk seperti batang dinamakan basilus.

Ujung beberapa basilus ada yang tampak persegi, ada yang bundar dan ada pula yang meruncing atau lancip seperti cerutu. Basilus juga ada yang saling melekat satu dengan lainnya, ujung dengan ujung sehingga memberikan penampilan rantai (Pelczar & Chan, 2013). Basil dapat dibedakan menjadi beberapa kelompok berdasarkan jumlah koloni, yaitu: monobasil yakni sel bakteri yang berbentuk satu batang tunggal, diplobasil yakni sel bakteri berbentuk batang bergandeng dua-dua dan streptobasil yakni berbentuk batang yang bergandeng memanjang membentuk rantai (Irianto, 2012).

3) Spiral (Spirillum)

Bentuk sel bakteri yang berbentuk melilit atau berbengkok-bengkok dinamakan spirillum. Terdapat 3 macam bentuk spiral, yaitu: spiral yakni sel bakteri yang bentuknya seperti spiral dan tubuhnya kaku, vibrio berbentuk koma dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna, serta spirochaeta yakni sel bakteri yang berbentuk spiral dan tubuhnya bersifat lentur (Irianto, 2012).

c. Pewarnaan Gram

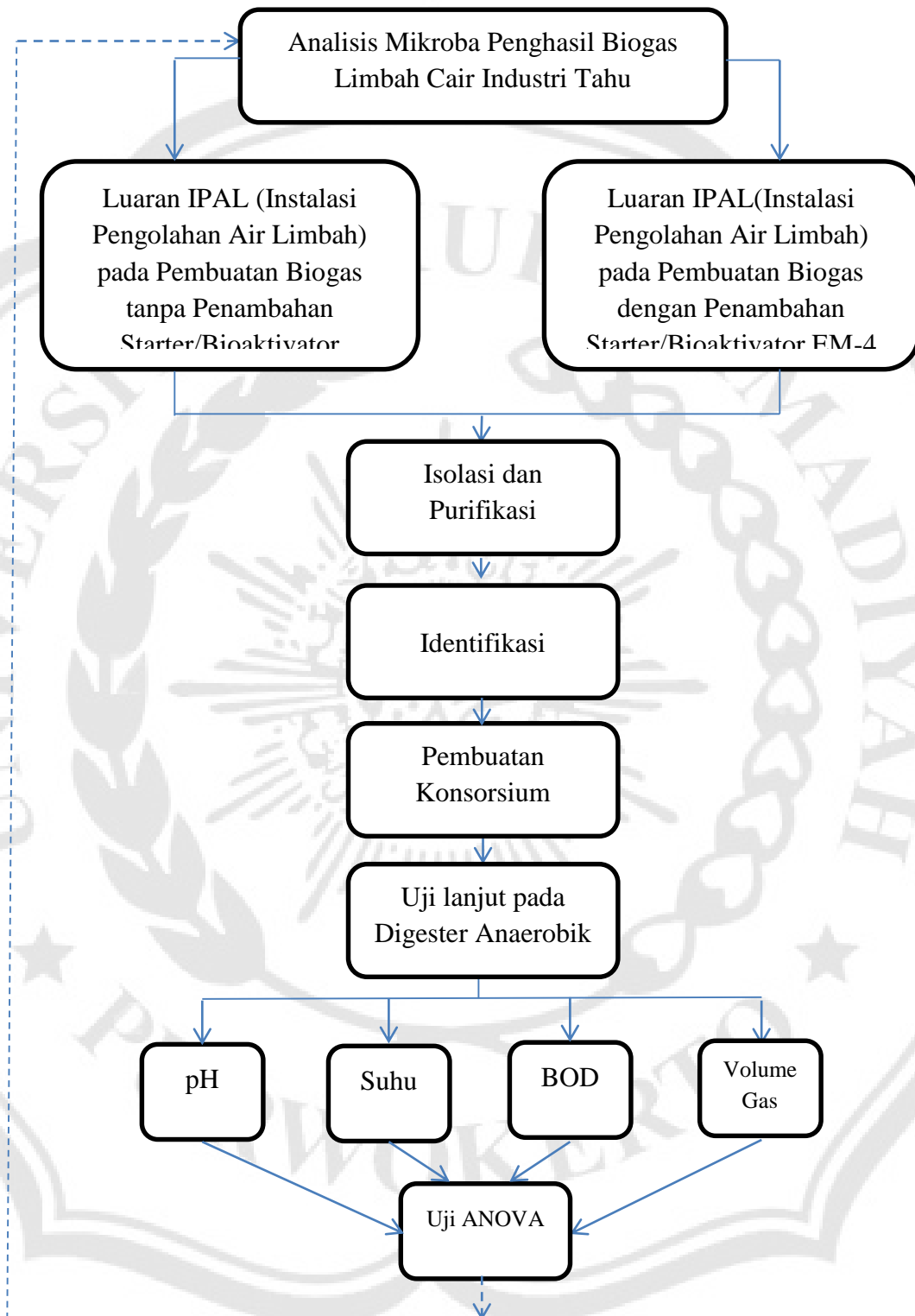
Sebagian besar mikroorganisme tidak berwarna, maka untuk dapat melakukan pengamatan di bawah mikroskop cahaya diperlukan pewarnaan mikroorganisme dengan menggunakan pewarna. Pewarnaan mikroorganisme

pada dasarnya adalah prosedur mewarnai mikroorganisme menggunakan zat warna yang dapat menonjolkan struktur tertentu dari mikroorganisme. Sebelum mikroorganisme dapat diwarnai, mikroorganisme tersebut harus terlebih dahulu difiksasi agar terikat pada kaca objek. Tanpa adanya fiksasi, maka pemberian zat warna pada mikroorganisme yang dilanjutkan dengan prosedur pencucian zat warna dengan air mengalir dapat menyebabkan mikroorganisme ikut tercuci (Brown, 2005).

Pewarnaan diferensial menggunakan lebih dari satu pewarna dan memiliki reaksi yang berbeda untuk setiap bakteri sehingga digunakan untuk membedakan bakteri. Pewarna differensial yang sering digunakan adalah pewarna Gram. Pewarna Gram mampu membedakan dua kelompok besar bakteri, yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pada pewarnaan Gram, bakteri yang telah difiksasi dengan panas dapat membentuk noda pada kaca objek yang diwarnai dengan pewarna basa yaitu kristal ungu. Warna ungu dari kristal ungu akan memenuhi semua sel maka pewarnaan ini disebut pewarnaan primer. Selanjutnya pewarna dicuci dan pada noda specimen ditetesi iodine yang merupakan mordant (penajam). Setelah iodin dicuci, baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif akan tampak berwarna ungu. Selanjutnya noda specimen dicuci dengan alkohol yang merupakan senyawa peluntur warna yang pada spesies bakteri tertentu dapat menghilangkan warna ungu dari sel. Setelah alkohol dicuci, noda spesiemen diwarnai kembali dengan safranin yang merupakan pewarna basa berwarna merah. Bakteri yang tetap berwarna ungu digolongkan dalam bakteri Gram positif sedangkan bakteri yang

berwarna merah digolongkan ke dalam bakteri Gram negatif. Perbedaan warna tersebut disebabkan oleh adanya perbedaan struktur pada dinding selnya. Dinding sel bakteri Gram positif lebih banyak mengandung peptidoglikan sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif banyak mengandung liposakarida. Kompleks Kristal ungu-iodin yang masuk ke dalam sel bakteri Gram positif tidak dapat tercuci oleh alkohol karena adanya lapisan peptidoglikan yang kokoh pada dinding sel, sedangkan pada bakteri Gram negatif, alkohol akan merusak lapisan lipopolisakarida. Komplek kristal ungu-iodin pada bakteri Gram negatif dapat tercuci dan menyebabkan sel bakteri tampak transparan yang akan bewarna merah setelah diberi safranin (Pratiwi, 2008). Lebih lanjut pewarnaan khusus digunakan untuk mewarnai dan mengisolasi bagian spesifik dari mikroorganisme misalnya endospora, kapsul dan flagella. Endospora bakteri tidak dapat diwarnai dengan metode pewarnaan sederhana seperti pada pewarnaan Gram. Hal ini disebabkan endospora memiliki selubung yang kompak sehingga zat warna sulit menembus dinding endospora dan diperlukan pemanasan serta mordant untuk mengikat zat warna.

2.2. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Bagan Kerangka Konsep.