

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

408 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan proses pengambilan bakteri dari medium atau lingkungan asalnya, dan menumbuhkan pada medium buatan sehingga diperoleh biakkan atau kultur murni hasil isolasi tersebut. Populasi bakteri dapat diisolasi menjadi biakkan atau kultur murni, terdiri dari satu jenis bakteri yang dapat dipelajari morfologi, sifat, dan kemampuan biokimianya. Dalam memindahkan bakteri dari satu tempat ke tempat lain harus menggunakan prosedur aseptik. Aseptik dalam hal ini berarti bebas dari sepsis, yaitu kondisi terkontaminasi karena terdapat mikroorganisme lain yang tidak dikehendaki. Teknik aseptik ini sangat penting apabila bekerja dengan bakteri, selain melindungi laboran juga menghindari kontaminasi mikroorganisme lain (Singleton & Sainsbury, 2006). Teknik kultur untuk mendapatkan biakkan murni terbagi menjadi tiga macam teknik, yaitu cara penuangan, cara penggoresan, dan cara penyebaran.

a. Cara penuangan

Isolasi bakteri dengan cara penuangan bertujuan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan. Hasil perhitungan jumlah bakteri pada cara penuangan dinyatakan dalam koloni (Irianto, 2012).

b. Cara penggoresan

Isolasi bakteri dengan cara penggoresan bertujuan membuat garis sebanyak mungkin pada permukaan medium pembiakkan, dengan jarum ose yang terlepas pada garis-garis tersebut semakin lama semakin sedikit, sehingga

pada garis terakhir koloni yang terbentuk akan terpisah agak jauh (Irianto, 2012).

Cara penggoresan dilakukan dengan menuangkan terlebih dahulu medium agar pada cawan petri steril. Jarum ose yang digunakan dipanaskan dahulu hingga memijar, setelah itu disentuh pada koloni bakteri yang akan diisolasi, kemudian digoreskan pada medium yang tersedia. Menginkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang, lalu melakukan pengamatan (Barrow & Feltham, 1993).

c. Cara penyebaran

Tujuan dari isolasi bakteri dengan penyebaran serupa dengan isolasi bakteri cara penuangan. Hal yang membedakan kedua teknik tersebut adalah teknik penuangan suspensi sampel dan medium.

Isolasi dengan cara penyebaran diawali dengan pengenceran sampel. Pengenceran sampel dilakukan sama seperti pada cara penuangan. Medium yang telah dipersiapkan dituangkan ke dlm cawan petri steril tunggu hingga memadat, setelah itu suspensi sampel dituangkan di atas permukaan agar. Penyebaran suspensi sampel dilakukan dengan menyebarkan suspensi dengan batang drugalsky yang telah dipanaskan terlebih dahulu (Waluyo, 2007).

2.2 Identifikasi Bakteri

Identifikasi dan determinasi suatu biakkan murni bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi dapat dilakukan melalui pengamatan ciri-ciri morfologi koloni tersebut serta pengujian fisiologi dan biokimianya. Bakteri dapat diidentifikasi

dengan mengetahui reaksi biokimia tersebut. Dengan menanam bakteri pada medium, maka akan diketahui sifat suatu koloni bakteri. Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia dapat dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen kimia yang digunakan (Waluyo, 2007).

Dalam 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 titik, bulat, tidak teratur, seperti akar, dan filamen atau berbenang, serta kumparan. Tepi koloninya dapat berbentuk utuh, berombak, berbelah, bergerigi, berbenang, dan keriting. Warna koloni terdiri dari keputihan, kekuningan, kemerahan, coklat, 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 dapat 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 mikrometer. Serta pewarnaan yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora (Cappuccino & Sherman, 1987).

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui karakteristik dan spesifik dari bakteri dengan melihat aktifitas enzimatisnya, serta memperkuat data-data yang

diperoleh sehingga mudah diidentifikasi. Beberapa uji biokimia yang diterapkan antara lain uji produksi indol, uji fermentasi karbohidrat, uji penggunaan sitrat, uji methyl red, uji voges proskauer, uji urease, katalase, dan uji H₂S (Cappuccino & Sherman, 1987).

2.3 Bakteri

Bakteri merupakan domain yang terdiri dari makhluk hidup yang tidak memiliki membran inti (prokarioa). Dahulu bakteri terbagi menjadi Bacteria dan Archaeobacteria. Namun sekarang Archaeobacteria memiliki domain sendiri yang disebut Archaea. Bakteri memiliki ciri-ciri antara lain tidak memiliki membran inti, tidak memiliki organel bermembran, memiliki dinding sel peptidoglikan, dan materi asam nukleatnya berupa plasmid (Postlethwait & Hopson, 2006).

Bakteri berkembang biak dengan membelah diri dan karena begitu kecil maka hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop. Bakteri mempunyai beberapa organel yang dapat melaksanakan beberapa fungsi hidup (Waluyo, 2007).

2.3.1 Ukuran Bakteri

Pada umumnya ukuran tubuh bakteri sangat kecil, sehingga memerlukan mikroskop untuk dapat mengamatinya. Ada juga bakteri yang ukuran tubuhnya agak besar yang dapat dilihat tanpa menggunakan mikroskop. Mengamati sifat morfologi bakteri tersebut agar lebih teliti tetap memerlukan mikroskop (Dwijoseputro, 2009). Satuan ukuran tubuh bakteri adalah mikron atau mikrometer. Satu mikron (μ) sama dengan 1/1000 milimeter (mm) atau 10^{-3} mm.

Panjang tubuh bakteri sekitar 1-2 μ , sedangkan lebarnya sekitar 2-5 μ (Pelczar & Chan, 2008).

Bakteri yang berbentuk kokus mempunyai diameter 0,5 μ ada pula yang diameternya 2,5 μ . Bakteri yang berbentuk basil (batang) mempunyai diameter 0,2-2,0 μ , sedangkan panjang 1-1,5 μ . Apabila terdapat ukuran bakteri yang menyimpang dari ketentuan ini, maka pengukuran besar kecilnya bakteri tersebut perlu didasarkan atas standar yang sama (Dwijoseputro, 2009).

2.3.2 Bentuk Bakteri

Sel-sel individu bakteri mempunyai beragam variasi bentuk seperti bola (kokus), batang (basil), dan spiral (spirillum). Masing-masing bentuk atau ciri ini penting dalam mencirikan morfologi suatu spesies (Pelczar & Chan, 2008).

a. Kokus (*Coccus*)

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, 2008). 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, streptokokus bentuk bola berkelompok memanjang membentuk rantai, dan stafilokokus yang berbentuk bola berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur sehingga mirip dompolan buah anggur (Irianto, 2012).

b. Basil (*Basilus*)

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, 2008).

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).

c. Spiral (*Spirillum*)

Bentuk sel bakteri yang berbentuk melilit atau berbengkok-bengkok dinamakan *spirillum*. Ada tiga 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).

2.4 Resistensi Bakteri

Efek toksik logam merupakan akibat dari reaksi antara logam dan komponen intrasel. Untuk menimbulkan efek toksik pada suatu sel logam harus memasuki sel. Setelah masuk ke dalam sel tersebut logam dapat mempengaruhi berbagai organel seperti retikulum endoplasma, yang mengandung berbagai jenis

enzim. Namun lisosom dapat mendegradasi ion logam ini. Organel subseluler dapat meningkatkan atau mengurangi pergerakan logam melintasi membran biologis tersebut, sehingga dapat mengurangi sifat toksisitas dari logam berat. Selain itu protein tertentu dalam sitosol, lisosom, dan nukleus, dapat mengikat logam toksik, misalnya Cd, Pb, dan Hg, serta dapat menurunkan ketersediaannya untuk melakukan efek toksik pada organel dan tempat metabolisme yang peka (Fowler *et al.*, 1984 dalam Frank, 1995).

Sel mikroorganisme mempunyai kemampuan dalam mengikat atau mendegradasi ion logam, sehingga mikroorganisme banyak dimanfaatkan di bidang lingkungan, yang berperan membantu memperbaiki kualitas lingkungan. Terutama untuk mengatasi masalah pencemaran lingkungan, baik di lingkungan tanah maupun perairan. Bahan pencemar dapat bermacam-macam mulai dari bahan yang berasal dari sumber-sumber alami, sampai bahan sintetik dengan sifat yang mudah dirombak (biodegradable), sampai yang tidak bisa dirombak (rekalsitran/ nonbiodegradable) maupun bersifat meracun bagi jasad hidup dengan bahan aktif tidak rusak dalam waktu lama (persisten).

Menurut Bontidean *et al.* (2000) umumnya daya tahan bakteri terhadap berbagai jenis logam berat disebabkan adanya faktor penentu memberikan resistensi terhadap satu atau sejumlah kecil logam berat. Mekanisme resistensi pada bakteri ini meliputi pengaliran logam ke luar sel bakteri (efluks logam), modifikasi spesies logam, pengurangan logam, atau kombinasi dari mekanisme tadi. Mayoritas faktor penentu resistensi logam bersifat terinduksi oleh ion logam.

Sistem metaloregulator yang telah diidentifikasi hingga saat ini adalah untuk kation Ag, As, Cd, Cr, Cu, Fe, dan Hg.

Adanya kemampuan bakteri dalam menetralkan atau mengendapkan logam ini menunjukkan bahwa terdapat bakteri yang dapat bertahan hidup dalam tanah yang mengandung logam berat. Bakteri dapat menghasilkan senyawa pengkhelat logam yang berupa ligan berberat molekul rendah yang disebut siderofor. Siderofor dapat membentuk kompleks dengan logam-logam termasuk logam berat. Pengkhelatan logam berat oleh bakteri, sebagai mekanisme untuk mempertahankan diri terhadap toksisitas logam. Bakteri yang tahan terhadap toksisitas logam berat tersebut mengalami perubahan sistem transport di membran selnya, sehingga terjadi penolakan atau pengurangan logam yang masuk ke dalam sitoplasma. Dengan demikian, logam yang tidak dapat melewati membran sel akan terakumulasi dan diendapkan di permukaan sel.

2.5 Logam Besi (Fe)

Besi merupakan logam berwarna putih keperakan yang berasal dari bijih besi atau tambang yang dapat dibentuk. Besi juga dapat digunakan untuk kehidupan manusia sehari-hari yang bermanfaat. Besi mempunyai simbol Fe di dalam susunan unsur berkala termasuk logam golongan VIII, dengan berat atom $55,85\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, nomor atom 26, berat jenis $7,86\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ dan umumnya mempunyai valensi 2 dan 3 (selain 1, 4, 6). Logam yang dihasilkan dari bijih besi tersebut jarang dijumpai dalam keadaan bebas, untuk mendapatkan unsur besi campuran lain harus dipisahkan melalui penguraian kimia. Besi digunakan dalam proses

produksi besi baja, bukan hanya unsur besi saja tetapi dalam bentuk alloy atau campuran beberapa logam, dan bukan logam terutama karbon (Eaton *et al.*, 2005; Rumapea, 2009 & Parulian, 2009).

Logam besi ini bersifat keras, rapuh, dan umumnya mudah dicampur, dan digunakan untuk menghasilkan alloy lainnya, termasuk baja. Pada besi tempa yang mengandung kurang dari 0.1% karbon, sangat kuat, dapat dibentuk, namun tidak mudah campur dan biasanya memiliki struktur berserat, sedangkan baja karbon merupakan alloy besi dengan sedikit Mn, S, P, dan Si. Alloy baja adalah baja karbon dengan tambahan seperti nikel, krom, vanadium dan lain-lain. Besi relatif murah, mudah didapat, serta dapat dimanfaatkan kembali dari besi rongsok yang tidak terpakai lagi untuk diolah menjadi barang yang dapat berguna bagi oleh manusia.

2.6 Tembaga (Cu)

Tembaga (Cu) merupakan logam merah muda yang lunak, dapat ditempa, dan liat yang melebur pada 1038°C (Panjaitan, 2009). Logam tersebut dapat digunakan pada pabrik yang memproduksi alat-alat listrik, gelas, dan zat warna yang biasanya bercampur dengan logam lain seperti alloy dengan perak, kadmium, timah putih, dan seng (Merian, 1994 *dalam* Panjaitan 2009).

Perpindahan Cu dengan konsentrasi relatif tinggi dari lapisan tanah bumi ditentukan oleh cuaca, proses pembentukan tanah, pengairan, potensial oksidasi reduksi, jumlah bahan organik di tanah dan pH. Kondisi tanah yang asam akan meningkatkan kelarutan Cu, sedangkan pada kondisi basa Cu cenderung

dipresipitasi oleh tanah sehingga akan larut dan terbawa air yang mengakibatkan defisiensi Cu pada tanaman (Merian, 1994 *dalam* Panjaitan 2009).

2.7 Seng (Zn)

Zinkum atau seng merupakan unsur kimia dengan lambang Zn nomor atom 30, dan massa atom relatif 65, 39. Seng tidak diperoleh dengan bebas di alam, melainkan dalam bentuk terikat. Mineral yang mengandung seng di alam bebas antara lain kalaminit, franklinit, smithsonit, willenit dan zinkit (Kacaribu, 2008).

Dalam industri seng digunakan sebagai: 1). pelapis besi atau baja untuk mencegah proses karat, 2). Untuk bahan baterai, 3). Seng dan aliasnya digunakan untuk cetakan logam, penyepuhan listrik dan metalurgi bubuk, 4). Seng dalam bentuk oksida digunakan untuk industri kosmetik, plastik, karet dan sabun, 5). Seng dalam bentuk sulfida digunakan untuk industri tabung, televisi dan lampu pendar, 6). Seng dalam bentuk klorida digunakan untuk pengawetan kayu (Kacaribu, 2008).