

# Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol dari Lingkungan Sungai, Muara, dan Perairan Pantai Banjir Kanal Timur Semarang pada Monsun Timur

Misbakhul Munir <sup>1,2,\*</sup>, Norma Afiati <sup>3</sup>, Ocky Karna Radjasa <sup>4,5</sup>,  
Agus Sabdono <sup>4,5</sup>, Tonny Bachtiar <sup>4,5</sup>

<sup>1)</sup> Magister Ilmu Lingkungan, Universitas Diponegoro, Semarang – 50241

<sup>2)</sup> Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, Semarang – 50241 Telp. 024-8319140, Fax 024-8319328

<sup>3)</sup> Jurusan Perikanan, FPIK, Universitas Diponegoro, Semarang – 50241

<sup>4)</sup> Jurusan Ilmu Kelautan, FPIK, Universitas Diponegoro, Semarang – 50277

<sup>5)</sup> Pusat Studi Pesisir dan Laut, Universitas Diponegoro, Semarang – 50277

## Abstrak

Aktivitas manusia yang terus meningkat di wilayah pesisir, telah menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan lingkungan yang berasal dari berbagai macam sumber pencemaran, antara lain limbah industri, pertanian, transportasi, dan limbah domestik. Salah satu sumber pencemar yang cukup dominan di lingkungan perairan pantai adalah pencemaran akibat limbah domestik. Selama ini yang dipakai untuk mengetahui pencemaran lingkungan oleh limbah domestik adalah menggunakan indikator biologi yaitu bakteri coliform. Namun penggunaan bakteri coliform sebagai indikator pencemaran limbah domestik mempunyai permasalahan antara lain tidak terdeteksinya bakteri coliform tersebut pada perairan pantai, sementara diduga kuat bahwa perairan tersebut tercemar oleh limbah domestik termasuk feces. Oleh karena itu indikator alternatif sangat diperlukan. Salah satu indikator alternatif pencemaran limbah domestik adalah koprostanol, yang mempunyai sifat cukup konservatif, dapat dikuantitatifkan dan dapat dihubungkan dengan sumber pencemar yang spesifik. Namun perlu diingat bahwa di alam, koprostanol mengalami proses degradasi oleh bakteri, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol pada lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai Banjir Kanal Timur Semarang pada monsun timur. Penelitian dilakukan pada bulan Juli s/d Agustus 2003 pada lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai Banjir Kanal Timur Semarang. Isolasi bakteri dari sampel air dan sedimen dilakukan di Laboratorium Mikrobiogenetika, FMIPA Jurusan Biologi UNDIP Semarang dan identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol terseleksi dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Hasil penelitian diperoleh bahwa bakteri pendegradasi koprostanol yang berasal dari lokasi Banjir Kanal Timur Semarang pada berbagai variasi lingkungan dan habitat diperoleh 69 isolat (83,13%) dari 83 isolat yang diuji. Sedangkan hasil identifikasi terhadap 6 isolat terbaik diperoleh 3 (tiga) genus bakteri mampu mendegradasi koprostanol, yaitu *Achromobacter*, *Bacillus*, dan *Branhamella*. Dari 3 genus bakteri pendegradasi koprostanol yang didapatkan, ada 2 (dua) genus yang selama ini belum dilaporkan, yaitu genus *Achromobacter*, dan *Branhamella*.

**Kata kunci :** Koprostanol, Limbah Domestik, Indikator Pencemar, Isolasi, Identifikasi, Bakteri

## Abstract

Increasing human activities in coastal areas have caused an increase of environmental pressures that come from various sources such as industrial disposal, agriculture, transportation, and domestic wastes. One of dominant sources in coastal waters is contamination by domestic wastes. So far to determine environmental contamination by domestic waste is by using biological indicator, coliform bacteria. However the use of coliform bacteria have problems for example, they cannot be detected in coastal waters contaminated by domestic waste including faeces. Therefore, an indicator alternative is urgently needed. Alternative indicator of domestic waste contamination is coprostanol, which is conservative, easy to quantity and related to specific pollutant source. It is important to note coprostanol is naturally degraded by indigenous bacteria. Therefore it is necessary to conduct a study on isolation and identification of coprostanol-degrading bacteria

in river, estuarine, and coastal environments of Banjir Kanal Timur Semarang during dry season. The research had been carried out from July to August 2003 at environmental of river, estuarine, and coastal of Banjir Kanal Timur Semarang. Isolation of bacteria from water and sediment samples were conducted at Microbiogenetics Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences Diponegoro University, meanwhile identifiaton of coprostanol-degrading bacteria selected was conducted by at Pest and Diseases Laboratory, Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. The result showed that coprostanol-degrading bacteria obtained from Banjir Kanal Timur Semarang at various environments and habitat were 69 bacterial isolates (83,13%) from 83 isolat tested. Identification revealed that (three) genus were found to degrade coprostanol, namely *Achromobacter*, *Bacillus*, and *Branhamella*. From 3 genus of coprostanol-degrading bacteria identified, 2 of them : *Achromobacter*, and *Branhamella* have not been reported so far.

**Key words** : Coprostanol, Domestic Waste, Pollution Indicator, Isolation, Identification, Bacteria

---

## Pendahuluan

Sungai Banjir Kanal Timur merupakan salah satu sungai yang melintasi kota Semarang dan beberapa wilayah yang berpenduduk cukup padat. Wilayah kecamatan yang dilewati sungai tersebut antara lain : Gayamsari seluas 587,98 ha dengan jumlah penduduk 71.827 jiwa; Semarang Timur seluas 911,20 ha dengan jumlah penduduk 97.944 jiwa; dan Semarang Utara seluas 1.420,59 ha dengan jumlah penduduk 155.674 jiwa. Keadaan semacam ini menyebabkan sungai Banjar Kanal Timur tercemar oleh adanya pembuangan limbah domestik, yang dibuang secara langsung ke badan sungai tanpa melalui pengolahan terlebih dahulu. Kondisi tersebut menyebabkan sungai Banjir Kanal Timur mengalami tekanan lingkungan yang tinggi (Sumber : Semarang Dalam Angka tahun 1997-2001).

Bentuk tekanan lingkungan yang dapat menyebabkan terjadinya pencemaran perairan pantai dapat berasal dari berbagai macam sumber antara lain limbah industri, pertanian, transportasi, dan limbah domestik. Salah satu sumber pencemar yang cukup dominan di lingkungan perairan pantai adalah pencemaran akibat limbah domestik dimana umumnya limbah domestik hanya langsung dibuang ke badan air sungai, yang kemudian terangkut dan sebagian terendapkan pada sedimen sepanjang aliran hingga sampai ke perairan pantai dan laut.

Selama ini yang dipakai untuk mengetahui pecemaran lingkungan oleh limbah domestik adalah menggunakan indikator biologi yaitu bakteri *coliform*. Namun penggunaan bakteri *coliform* sebagai indikator pencemaran limbah domestik mempunyai permasalahan antara lain tidak terdeteksinya bakteri *coliform* tersebut pada lingkungan perairan, sementara diduga kuat bahwa perairan tersebut tercemar oleh limbah domestik termasuk feces. Radjasa (2001) menyatakan bahwa perubahan suhu yang mendadak, sinar, umur fisiologi kultur, tingkat

kandungan nutrisi, kadar garam, xenobiotik, antibiotik, klorin, dan beberapa senyawa kimia lain, merupakan faktor-faktor yang dapat menyebabkan mikroba memasuki status "Viable But Nonculturable (VBNC)" sehingga tidak terdeteksi dengan prosedur analisa ntin.

Untuk perairan pantai, permasalahan utama penggunaan *coliform* sebagai organisme indikator adalah pengaruh perubahan salinitas. Perubahan salinitas berpengaruh terhadap tingkat kematian organisme indikator tersebut sehingga pada kondisi seperti ini, penggunaan *coliform* sebagai bioindikator mengalami banyak masalah (Walker *et al.* 1982, Bartlett 1987). Hal ini karena *coliform* mempunyai toleransi yang rendah terhadap tekanan lingkungan. Untuk itu maka perlu adanya indikator alternatif pencemaran limbah domestik.

Koprostanol pertama kali diisolasi dan diteliti karakteristiknya pada tahun 1896 oleh Bondzynski dan Humnicki (Walker *et al.*, 1982). Mereka mendapatkan bahwa koprostanol merupakan hasil reduksi kolesterol oleh bakteri. Pada suhu ruang, koprostanol merupakan padatan kristal berwarna putih yang mempunyai titik leleh 101°C. Konsentrasi kolesterol dan koprostanol dalam air limbah tidak terhambat oleh kelarutan dan adsorpsi keduanya pada material partikel.

Keberadaan *fecal sterol* koprostanol (5 $\beta$ -cholestan-3 $\beta$ -1 $\alpha$ ) di lingkungan perairan telah menunjukkan bahwa koprostanol merupakan indikator kimia untuk kontaminasi limbah domestik (Hatcher *et al.* 1977; Hatcher dan McGillivary 1979; Brown dan Wade 1984; Dureth *et al.* 1986; Holm dan Windsor 1990; Coakley dan Poulton 1991; Coakley *et al.* 1992; Bachtiar, 1993; Bachtiar *et al.* 1996; Jeng dan Han 1996; Jeng *et al.* 1996 dan Chan *et al.* 1998).

Salah satu indikator alternatif pencemaran limbah domestik adalah koprostanol, yang sifatnya cukup

konservatif, dapat dikuantitatifkan dan dapat dihubungkan dengan sumber pencemar yang spesifik (Coakley dan Long, 1990). Namun perlu diingat bahwa di alam, koprostanol mengalami proses degradasi yang dilakukan oleh bakteri. Penelitian mengenai bakteri pendegradasi koprostanol belum banyak dilakukan, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol.

## Materi dan Metode

### Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel di Banjir Kanal Timur Semarang dilakukan pada tanggal 19 Juli 2003 bertepatan dengan kondisi musim kemarau yang bersamaan dengan kondisi monsun timur. Pengambilan sampel ini dilakukan pada 3 (tiga) stasiun dengan kondisi lingkungan berbeda yaitu sungai, muara dan perairan pantai. Posisi titik sampling selanjutnya dibaca lintang dan bujurnya menggunakan Garmin GPS 12/12XL/12CX/48/II PLUS. Posisi stasiun sampling ditunjukkan pada Tabel 1

**Tabel 1.** Lokasi Sampling di Banjir Kanal Timur Semarang

No	Posisi Sampling	Posisi	
		°LS	°BT
1.	Sungai	6,935	106,83
2.	Muara	6°56'54"	110°26'4"
3.	Pantai	6°55'20,8"	110°26'18,3"

Sampel yang diambil dari 3 (tiga) stasiun tersebut adalah air dan sedimen. Sampel air diambil pada kedalaman 0,2 m dengan menggunakan *Water Sampler*. Sedangkan untuk sampel sedimen diambil dari permukaan dasar perairan dengan menggunakan *Grab Sampler*. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel dan diberi label serta disimpan dalam kondisi dingin dalam kotak pendingin.

### Pengukuran Parameter Lingkungan

Untuk mengetahui kondisi perairan pada stasiun pengamatan dilakukan pengukuran kualitas perairan (suhu, oksigen terlarut (DO), keasaman (pH), kecerahan, kekeruhan dan salinitas) dengan menggunakan *Water Quality Checker TOA WQC-22A*.

### Pembuatan Media Biakan

Media biakan yang digunakan untuk isolasi bakteri mempunyai komposisi sebagai berikut : yeast ekstrak 0,5 gram; pepton 2,5 gram; agar 15 gram

dilanjutkan dalam 1 liter akuades steril untuk stasiun sungai, sedangkan untuk stasiun muara dan laut menggunakan air laut steril. Setelah itu larutan disterilkan dengan menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dan selanjutnya media dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai memadat pada suhu ruang.

### Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri pendegradasi koprostanol dilakukan dengan metode cawan gores (Lay, 1994). Media yang digunakan untuk isolasi adalah air dan sedimen yang telah diambil, dilakukan seri pengenceran dengan menggunakan akuades dan air laut steril sesuai dengan stasiunnya. Sampel air atau sedimen diambil sebanyak 1 ml kemudian diencerkan menggunakan akuades / air laut steril sebanyak 9 ml atau diencerkan sebesar  $10^{-1}$ , dikocok sampai merata kemudian dari suspensi tadi diambil 1 ml diencerkan lagi ke dalam 9 ml akuades / air laut steril atau diencerkan sebesar  $10^{-2}$ , dikocok sampai merata, demikian seterusnya sampai pengenceran  $10^{-7}$ .

Hasil pengenceran yang dibiakkan pada media agar dengan metode sebaran adalah pengenceran dari  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  dan  $10^{-7}$ . Pembedakan dilakukan dalam inkubator pada suhu kamar selama 2 x 24 jam. Bakteri yang telah dibiak selama 2 x 24 jam kemudian dipindahkan / diisolasi dengan metode cawan gores menggunakan ose ke media biakan yang komposisinya sama seperti media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap koloni bakteri yang tumbuh berdasarkan karakteristik morfologi dengan teknik goresan (*spread method*) hingga diperoleh isolat murni. Kemudian isolat murni terseleksi tersebut dilakukan uji potensi bakteri pendegradasi koprostanol.

### Skrining Bakteri Pendegradasi Koprostanol dengan Media Indikator

Skrining terhadap isolat bakteri yang telah didapatkan dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Kemampuan degradasi koprostanol diuji dengan media indikator EMBA (Eosin Methylene Blue Agar). Uji ini dipakai untuk memisahkan bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol dan yang tidak mampu mendegradasi koprostanol. Bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol diindikasikan dengan koloni warna merah, sedangkan yang tidak mampu mendegradasi koprostanol, diindikasikan dengan koloni warna putih (Loos, 1975; Bhat et al., 1994). Media EMBA yang digunakan terbagi atas media EMBA dengan air laut dan EMBA dengan akuades yang masing-masing disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit baru kemudian dicampur dengan 25 ppm koprostanol.

Terhadap bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol, kemudian diambil 5 (lima) isolat dari masing-masing stasiun pada kolom air dan sedimen. Dari 30 (tiga puluh) isolat tersebut selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dengan cara mengukur pertumbuhan bakteri dengan menggunakan Spektrofotometer Spectronic 20 (Bausch and Lomb Optical, Co) dengan panjang gelombang 600 nm.

**Uji Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Koprostanol**

Sebelum dilakukan uji pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol, terlebih dahulu dilakukan pembiakan bakteri pada media cair. Komposisi media cair yang digunakan terdiri dari yeast ekstrak 0,5 gram dan pepton 2,5 gram yang dilarutkan dalam 1 liter akuades untuk sungai atau 1 liter air laut steril untuk muara dan laut, dicampur di tabung Erlenmeyer, kemudian dilakukan sterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Media cair yang telah siap selanjutnya ditambah isolat bakteri hasil seleksi dan diinkubasi selama 2 x 24 jam.

Untuk uji pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol, ada 2 (dua) jenis media yang disiapkan yaitu media cair dengan koprostanol 25 ppm dan tanpa koprostanol. Komposisi media cair terdiri dari yeast ekstrak 0,2 gram, pepton 1 gram dan 1 liter akuades untuk sungai atau 1 liter air laut steril untuk muara dan laut, dicampur di tabung Erlenmeyer, selanjutnya dilakukan sterilisasi dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah itu kedua jenis media cair tersebut yaitu dengan koprostanol dan tanpa koprostanol dituang dalam masing-masing tabung reaksi sebanyak 5 ml, kemudian ditambahkan 50 ml biakan bakteri hasil inkubasi selama 2 x 24 jam dan dishaker dengan kecepatan 300 rpm.

Pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan perubahan *optical density* menggunakan Spektrofotometer Spectronic 20 (Bausch and Lomb Optical, Co) pada panjang gelombang 600 nm. Pertumbuhan diukur pada hari ke 0, 1, 3, 5, dan 7. Data pengukuran dikonversi menjadi OD (Optical Density) dengan rumus "OD = 2 - log%T". Hasil dari konversi ini selanjutnya dianalisa secara statistik dengan ANOVA.

**Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol**

Identifikasi dilakukan untuk strain bakteri terseleksi dengan pertumbuhan yang paling bagus menggunakan metode *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* tahun 1984 untuk mengetahui apakah bakteri yang berpotensi mendegradasi koprostanol tersebut merupakan bakteri yang umum di alam atau bakteri spesifik. *Bergey's Manual* mendasarkan pada morfologi, sifat faali dan sifat biokimiawi bakteri menurut Lay, (1994).

**Hasil dan Pembahasan**

**Kondisi Fisika dan Kimia Perairan**

**Tabel 2.** Parameter Fisik Kualitas Air di Banjir Kanal Timur Semarang

Parameter	Sungai	Muara	Pantai
	6,935 °LS 106,83 °BT	6°56'5.4" LS 110°26'4" BT	6°55'20.8" LS 110°26'18.3" BT
Kedalaman (m)	0,85	0,88	5,13
Waktu (WIB)	12.00	18.40	17.19
DO (mg/l)	5,10	4,39	5,53
Suhu (°C)	28,90	27,93	28,20
PH	7,05	7,96	8,37
Salinitas (‰)	0,00	21,90	28,00
TOC (%)	23,54	9,89	15,64
Kecerahan (m)	0,12	0,25	2,65

**Total Koloni Bakteri dari Banjir Kanal Timur Semarang**

**Tabel 3.** Jumlah total koloni bakteri pada berbagai kondisi lingkungan dan habitat dari Banjir Kanal Timur Semarang

	Lingkungan			Total Koloni
	Sungai	Muara	Pantai	Habitat
Air	2,5 x 10 <sup>8</sup>	11,1 x 10 <sup>8</sup>	2,83 x 10 <sup>8</sup>	16,43 x 10 <sup>8</sup>
Sedimen	4,9 x 10 <sup>8</sup>	2,76 x 10 <sup>8</sup>	1,65 x 10 <sup>8</sup>	9,31 x 10 <sup>8</sup>
Jumlah	7,4 x 10 <sup>8</sup>	13,86 x 10 <sup>8</sup>	4,48 x 10 <sup>8</sup>	25,74 x 10 <sup>8</sup>

**Uji Bakteri Pendegradasi Koprostanol pada Media EMBA**

Uji bakteri pendegradasi koprostanol ditunjukkan dengan adanya perbedaan warna koloni bakteri. Warna merah menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mendegradasi koprostanol. Warna putih menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mendegradasi koprostanol (Loos, 1975; Bath et al, 1994). Semakin besar intensitas warna merahnya semakin besar tingkat degradasinya demikian pula sebaliknya.

**Tabel 4.** Hasil uji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi senyawa koprostanol dari lokasi Banjir Kanal Timur Semarang

		Jumlah Koloni dengan Kemampuan Mendegradasi			Total Unit Koloni
		+	-	0	
Air	Sungai	8	0	0	8
	Muara	16	0	0	16
	Pantai	8	0	0	8
Sedimen	Sungai	7	0	1	8
	Muara	19	6	2	27
	Pantai	11	3	2	16
Jumlah		69	9	5	83

Ket : + = bakteri mampu mendegradasi koprostanol  
 - = bakteri tidak mampu mendegradasi koprostanol  
 0 = bakteri tidak mampu tumbuh pada media koprostanol

**Tabel 5.** Bakteri Pendegradasi Koprostanol dari lokasi Banjir Kanal Timur Semarang

	Habitat			Total Koloni
	Sungai	Muara	Pantai	
Air	8	16	8	32
Sedimen	7	19	11	37
Jumlah	15	35	19	69

**Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Koprostanol Pada Media Cair**

Hasil pengamatan selama 7 hari terhadap pertumbuhan 30 isolat bakteri pendegradasi koprostanol, yang berasal dari hasil seleksi dari lokasi Banjir Kanal Timur Semarang berdasarkan intensitas perubahan warna yang terjadi pada bakteri yang diuji pada media EMBA, masing-masing stasiun diambil 5 isolat bakteri. Uji pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol dilakukan dengan menggunakan media cair ditambah koprostanol 25 ppm, dan hasilnya dibuat grafik pertumbuhan sehingga diketahui satu isolat bakteri dengan pertumbuhan terbaik sebagaimana Tabel 6 di bawah ini.

**Tabel 6.** Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik

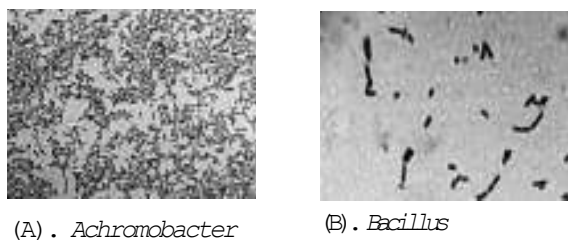
Habitat	Sungai	Muara	Pantai
Air	SSA 1.6	SMA 2.6	SLA 1.3
Sedimen	SSS 1.2	SMS 3.6	SLS 1.1

**Hasil Identifikasi Isolat Bakteri**

Identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol dilakukan terhadap 6 isolat bakteri yang mempunyai pertumbuhan terbaik. Tahapan kegiatan identifikasi yaitu uji biokimia dan pengamatan morfologi.

Uji biokimia untuk melakukan identifikasi bakteri terseleksi dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagaimana disajikan dalam Tabel 7.

Hasil pewarnaan Gram terhadap beberapa isolat bakteri disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil pewarnaan dua isolat bakteri

**Tabel 7.** Uji biokimia Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terseleksi

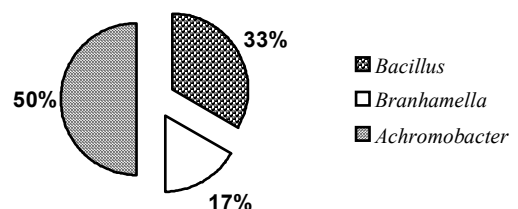
UJI BIOKIMIA	ISOLAT					
	SLS	SSA	SMS	SLA	SMA	SSS
Gram	-	+	+	-	-	-
Bentuk	Cc	Bpj	Bpj	Bpd	Bpd	Bpd
Katalase	+	+	+	*	*	*
Oksidase	-	*	*	+	+	+
TCBS	-	-	-	-	-	-
Motility	-	*	*	+	+	+
Irdbol	-	*	*	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	*	*	-	-	-
OF/Karbohidrat	-	*	*	*	*	*
Glukosa	NC	*	*	NC	NC	NC
Aerogenik Spora	+	+c	+c	+	-	+
Pigmen	+	*	*	-	-	-
ADC	*	*	*	-	-	-
NO <sub>3</sub>	+	*	*	*	*	*
Sitrat	*	*	*	*	*	*
<b>GENUS</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>

Keterangan :

1. *Branhamella* sp.
2. *Bacillus* sp.
3. *Bacillus* sp.
4. *Achromobacter* sp.
5. *Achromobacter* sp.
6. *Achromobacter* sp.

- Cc : Kokus
- Bpj : Batang Panjang
- Bpd : Batang Pendek
- Fer : Fermentatif (+)
- NC/NR : No change/No reaction (-)
- O : Oksidatif
- +c : letak spora di tengah (central)
- +t : letak spora di pinggir (terminal)
- : negatif
- +
- \*

Berdasarkan Tabel 7 di atas, komposisi genus bakteri pendegradasi koprostanol dari lokasi Semarang pada air dan sedimen dari sungai, muara, dan laut, dapat dijelaskan pada Gambar 2 berikut ini



**Gambar 2.** Komposisi Genus Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik

Untuk mengetahui adanya pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh limbah domestik, selama ini indikator yang sering digunakan adalah penentuan jumlah bakteri *fecal coliform* (Bartlett, 1987). Namun penggunaan bakteri *fecal coliform* sebagai indikator biologi untuk pencemaran limbah domestik memiliki beberapa kelemahan, antara lain bakteri *fecal coliform* tidak bertahan terhadap perubahan salinitas, rendahnya kandungan oksigen terlarut dalam air, dan adanya limbah yang bersifat toksik dan suhu tinggi.

Untuk mengatasi hal tersebut, maka perlu dicari indikator alternatif lain yang berkaitan dengan kelemahan bakteri *fecal coliform*, salah satunya adalah koprostanol. Untuk dapat dijadikan sebagai alternatif indikator pencemaran limbah domestik, tentu saja koprostanol harus mempunyai eksistensi dan persistensi di alam, sehingga dapat dirunut dari sumber mana limbah tersebut berasal. Namun menurut Walker et al. (1982) secara alamiah koprostanol mengalami degradasi di alam dengan melibatkan aktivitas bakteri.

Berdasarkan data pada Tabel 4 terlihat bahwa sebanyak 69 isolat dari keseluruhan 83 isolat yang dilakukan uji kualitatif pada media EMBA menunjukkan reaksi positif (+). Artinya bahwa sebanyak 83,13% dari keseluruhan jumlah isolat yang dilakukan uji merupakan bakteri pendegradasi koprostanol. Namun sejauh mana kemampuan dari tiap isolat dalam mendegradasi koprostanol secara kuantitatif belumlah diketahui lebih lanjut.

Hasil seleksi dari 69 isolat bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol didapatkan 30 isolat terbaik yang diwakili masing-masing 5 isolat terbaik dari tiap lingkungan dan habitat yang berbeda, berdasarkan perubahan intensitas warna yang terjadi pada saat diuji pada media EMBA koprostanol. Ke-30 isolat terbaik dari masing-masing lingkungan kemudian diukur pertumbuhannya untuk mendapatkan 1 isolat terbaik. Pertumbuhan yang tinggi menunjukkan bahwa bakteri terpilih mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam memanfaatkan kandungan senyawa dalam koprostanol sebagai sumber makanan dan energi untuk pertumbuhan setelah makanan pada media pertumbuhan habis (Pelczar and Chan, 1981).

Hasil uji degradasi koprostanol oleh 6 isolat terbaik pada Tabel 6, menunjukkan bahwa ke-6 isolat bakteri terseleksi tersebut mampu menggunakan koprostanol sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi dan material seluler bagi pertumbuhannya. Pemecahan koprostanol terjadi

karena isolat bakteri tersebut memiliki kemampuan menghasilkan enzim tertentu untuk mendegradasi koprostanol. Menurut Pelczar and Chan (1981), karbon berperan dalam menghasilkan energi dan pertumbuhan sel serta pembentukan material seluler.

Dari 83 isolat yang diuji didapatkan 69 (83,13%) isolat bakteri pendegradasi koprostanol. Hal ini menunjukkan distribusi bakteri pendegradasi koprostanol pada lingkungan tawar, payau, asin pada habitat air dan sedimen di daerah tropis.

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan terhadap isolat bakteri pendegradasi koprostanol terbaik di lokasi penelitian diperoleh 3 (tiga) genus bakteri pendegradasi koprostanol yaitu *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., dan *Branhamella* sp.. Berdasarkan Gambar 2, terlihat bahwa komposisi dari ketiga genus bakteri pendegradasi koprostanol tersebut adalah *Achromobacter* sp. (50%), *Bacillus* sp. (33%), dan *Branhamella* sp. (17%). Hasil identifikasi ini tentunya belum secara lengkap menggambarkan keberadaan bakteri pendegradasi koprostanol secara nyata di alam, karena isolat bakteri yang diidentifikasi hanya 6 isolat dari 30 isolat yang diuji atau sekitar 20%. Hal ini masih dimungkinkan adanya genus lain di alam yang mampu mendegradasi koprostanol.

Beberapa peneliti telah melakukan penelitian berkaitan dengan degradasi koprostanol oleh aktifitas bakteri. Switzer-House dan Dutka (1978) menunjukkan bahwa koprostanol dan kolesterol dapat terdegradasi secara alamiah sampai 90 % dalam 2 minggu oleh populasi *indigenous* mikroba. Mereka meyakini bahwa perombakan koprostanol merupakan rangkaian bertahap dan melibatkan bervariasi bakteri. Hasil identifikasi terhadap bakteri yang tumbuh secara baik pada media dengan penambahan koprostanol maupun kolesterol, didapatkan bakteri *Flavobacterium* spp. dan *Pseudomonas* spp.

Sementara itu Talalay (1965) dalam studi degradasi molekul steroid oleh mikroorganisme menyatakan bahwa genus *Mycobacteria*, *Nocardia*, *Practinomyces*, dan *Pseudomonas* mempunyai kemampuan untuk mendegradasi steroid, namun demikian tidak dijelaskan mengenai biodegradasi koprostanol (Walker et al 1982). Demikian juga belum ada informasi produk dari hasil biodegradasi koprostanol. Druilhet et al (1968) menyatakan bahwa isolasi dua strain *Pseudomonas* dan satu strain *Bacillus* mempunyai kemampuan menggunakan kolesterol sebagai sumber tunggal karbon (Walker et al. 1982). Sedangkan menurut Bachtiar (2002) menyatakan bahwa koprostanol mengalami biodegradasi secara

intensif di Banjir Kanal Timur Semarang oleh genus *Pseudomonas* sp., dan *Tatumella* sp.

Hasil identifikasi terhadap bakteri pendegradasi koprostanol yang dilakukan di daerah tropis (Indonesia) khususnya Banjir Kanal Timur Semarang, jika dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya, ternyata terdapat kesamaan dan perbedaan genus yang ditemukan. Genus bakteri pendegradasi koprostanol yang sama adalah *Bacillus* sp., sedangkan yang berbeda adalah *Achromobacter* sp., dan *Branhamella* sp.. Ini berarti bahwa ada 2 jenis genus bakteri pendegradasi koprostanol di daerah tropis yang selama ini belum dilaporkan yaitu *Achromobacter* sp., dan *Branhamella* sp..

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri pendegradasi koprostanol hasil isolasi yang berasal dari lokasi Semarang pada berbagai lingkungan dan habitat diperoleh sebanyak 69 isolat (83,13%) dari 83 isolat yang diuji.
2. Hasil identifikasi 6 isolat terbaik diperoleh 3 genus bakteri mampu mendegradasi koprostanol, yaitu *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., dan *Branhamella* sp..
3. Dari 3 genus bakteri pendegradasi koprostanol yang ditemukan, ada 2 genus yang selama ini belum dilaporkan, yaitu genus *Achromobacter* sp., dan *Branhamella* sp.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dinas Kehutanan Provinsi Jawa Tengah dan Badan Kepegawaian Daerah Provinsi Jawa Tengah yang telah memberikan kesempatan belajar serta Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) melalui Program Hibah Penelitian Terpadu Pasca Sarjana yang membiayai penelitian ini.

## Daftar Pustaka

- Bachtiar, T. 2002. Koprostanol sebagai Indikator Kontaminasi dan Perunut Alamiah Limbah Domestik di Perairan Pantai Banjir Kanal Timur Semarang, Disertasi ITB, 15-V: 110-123, Bandung.
- Artlett, P. D. 1987. Degradation of coprostanol in an experimental system, *Mar. Poll. Bull.* 18 (1): 27-29.
- Bhat, M.A, M. Tsuda, K. Horike, M. Nozaki, C.S. Vidyanathan, and T, Nakazama. 1994. Identification and Characterization of a new plasmid carrying genes for degradation 2,4-Dichlorophenoxy acetate from *Pseudomonas cepacia* CSV90, *Appl. Environ. Microbiol.* 60:3107-3112,
- Coakley, J. P., and B. F. N. Long. 1990. Tracing the Movement of Fine-Grained Sediment in Aquatic Systems : A Literatur Review, Inland Water Directorate, *Environ. Canada Scientific Series.* 174: 21p,
- Lay, B. W.. 1994. Analisa Mikroba di Laboratorium, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Loos, M. A. I., 1975. Indicator Media for Micro organisms Degradng Chlorinated Pesticides, *Can. J. Microbiol.* 21: 104-107.
- Radjasa, O. K., 2001. Viable But Non Culturable (VBNC), Modul Mata Kuliah Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Switzer-Howse, K. D. and Dutka, B. J., 1978. Fecal sterol studies : samples processing and microbial degradation, Scientific Series No. 89, National Water Research Institute. Canada Centre for Inland Waters, Burlington, Ontario.
- Walker, R.W., C.K. Wun, and W. Litsky, 1982. Coprostanol as an indicator of fecal pollution, Paper No. 2402, Massachusetts Agriculture Experiment Station, University of Massachusetts, Amherst.