

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PENDEGRADASI KOPROSTANOL
DARI LINGKUNGAN SUNGAI, MUARA, DAN PERAIRAN
PANTAI PADA MONSUN TIMUR
(Studi Kasus di Jakarta, Semarang, dan Jepara)**



Tesis

MISBAKHULMUNIR
L4K002015

**PROGRAM MAGISTER ILMU LINGKUNGAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2004**

TESIS

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PENDEGRADASI KOPROSTANOL
DARI LINGKUNGAN SUNGAI, MUARA, DAN PERAIRAN
PANTAI PADA MONSUN TIMUR
(Studi Kasus di Jakarta, Semarang, dan Jepara)**

Disusun oleh

Misbakhulmunir

L4K002015

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada tanggal 21 Mei 2004

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

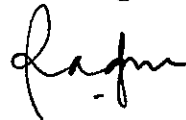
Menyetujui,

Pembimbing I



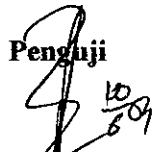
DR. Norma Afiati

Pembimbing II



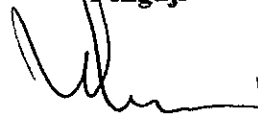
DR. Ocky Karna Radjasa, M.Sc

Penguji



Ir. Agus Hadiyanto, MT

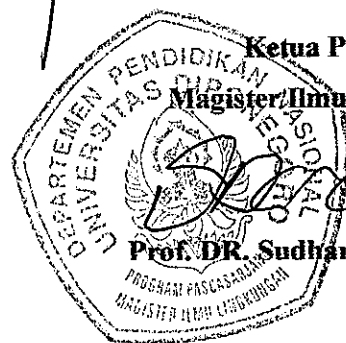
Penguji



Ir. Sumarno, MT

Ketua Program

Magister Ilmu Lingkungan,



Prof. DR. Sudharto P. Hadi, MES

P E R N Y A T A A N

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan Lembaga Pendidikan lainnya.

Semua informasi dan pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, dengan ataupun dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dimana sumbernya dijelaskan didalam tulisan dan daftar pustaka dan isi tesis ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Semarang , 2004

Penulis,

MISBAKHULMUNIR
NIM. L4K002015

Nasihat bagi Para Penuntut Ilmu

Seorang alim adalah orang yang besar walaupun ia muda usia.

Dan, seorang bodoh adalah orang yang kerdil walaupun ia telah beranjak tua.

Belajarliah, sebab tak ada seorang pun yang dilahirkan sebagai seorang alim.

Sebab, tak sama sang empunya ilmu dengan orang yang bodoh.

Sesungguhnya biarpun tinggi jabatan seseorang, jika tidak ada ilmu, kerdillah ia dipandang oleh manusia lain, dalam setiap kesempatan.

BIODATA PENULIS



Misbakhulmunir, S.Hut, lahir pada tanggal 5 April 1974 di Karanggede, Mirit, Kebumen, Jawa Tengah. Menamatkan SD sampai dengan SMA di kota kelahirannya mulai 1986 sampai dengan 1992. Gelar Sarjana Kehutanan (S.Hut) diperoleh dari Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada (UGM) Jurusan Budi Daya Hutan di Yogyakarta pada 1997.

Tahun 1998, penulis diterima sebagai Pegawai Negeri Sipil (PNS Pusat) Departemen Kehutanan dan ditempatkan di Kantor Wilayah Departemen Kehutanan Provinsi Daerah Istimewa Aceh. Kemudian tahun 2000 penulis pindah tugas ke Kantor Wilayah Departemen Kehutanan Provinsi Jawa Tengah. Sejalan dengan era otonomi daerah, tahun 2001 Kantor Wilayah Departemen Kehutanan Provinsi Jawa Tengah melebur ke dalam Pemerintah Provinsi Jawa Tengah dan berubah nama menjadi Dinas Kehutanan Provinsi Jawa Tengah.

Tahun 2002 penulis mendapat beasiswa dari Pemerintah Provinsi Jawa Tengah untuk melanjutkan studinya ke Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro Semarang. Judul tesis yang diajukan adalah "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol dari Lingkungan Sungai, Muara dan Perairan Pantai pada Monsun Timur (Studi Kasus di Jakarta, Semarang, dan Jepara)" yang merupakan program Hibah Penelitian Terpadu Pasca Sarjana (HPTP) dari Dirjen DIKTI. Publikasi dengan judul yang sama pada Majalah Pengembangan Ilmu-Ilmu Kelautan FPIK Universitas Diponegoro tahun 2004 dan Majalah Lingkungan Program Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro tahun 2004.

KATA PENGANTAR

Tesis ini disusun untuk memenuhi tugas akhir pada Program Pasca Sarjana Program Studi Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro Semarang. Tesis ini merupakan rangkaian akhir dari persyaratan dalam mencapai gelar kesarjanaan Program Pasca Sarjana (S2) yang telah diseminarkan dan mendapatkan tanggapan, koreksi, dan penyempurnaan.

Tesis yang berjudul **“Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol dari Lingkungan Sungai, Muara, dan Perairan Pantai pada Monsun Timur (Studi Kasus di Jakarta, Semarang, dan Jepara)”** merupakan Program Penelitian HPTP-I (Hibah Penelitian Terpadu Pasca Sarjana Tahun I) dibiayai oleh Ditjen DIKTI yang dimaksudkan untuk membantu percepatan masa studi bagi mahasiswa Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro Semarang. Penelitian ini telah mendapatkan bimbingan serta arahan guna penyempurnaan isi dan tulisan sekaligus persetujuan dari dosen pembimbing dan penguji.

Untuk itu pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Prof. DR. Sudharto P. Hadi, MES, sebagai Ketua Program Magister Ilmu Lingkungan;
2. DR. Norma Afiati, sebagai dosen pembimbing I;
3. DR. Ocky Karna Radjasa, M.Sc, sebagai dosen pembimbing II;
4. DR. Eng. Tonny Bactiar, M.Sc, sebagai Ketua Tim Hibah Penelitian Terpadu Pasca Sarjana Tahun I;
5. DR. Ir. Agus Sabdono, M.Sc, yang memberikan dukungan dan bantuan dalam penyelesaian tesis ini;
6. Kepala Dinas Kehutanan Provinsi Jawa Tengah, yang telah memberikan ijin tugas belajar dan sekaligus sebagai Instansi dimana saya bekerja dan mengabdikan kepada negara;

7. Kepala Badan Kepegawaian Daerah Provinsi Jawa Tengah, yang memberikan beasiswa untuk melanjutkan studi Program Pasca Sarjana;
8. Ditjen DIKTI melalui Program HPTP yang memberikan kesempatan untuk mengikuti penelitian dan bantuan biaya;
9. Isteri dan anak saya tercinta yang telah memberikan semangat dan merelakan waktunya tersita untuk mendukung selesainya tugas belajar ini;
10. Teman-teman program HPTP yang bersama-sama memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan penelitian ini;
11. Para Dosen, pengelola dan karyawan Program Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro Semarang, yang membimbing dan membantu penyelesaian tesis ini;
12. Teman-teman Magister Ilmu Lingkungan Angkatan 2002 kelas reguler yang selama perkuliahan memberikan banyak kenangan yang indah;
13. Serta rekan-rekan lainnya yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, telah memberikan semangat, dorongan, dan bantuannya dalam proses menyelesaikan tesis ini.

Semoga kebaikan dan ketulusan hati Bapak/Ibu/Saudara dalam membantu penyelesaian tesis ini mendapatkan imbalan dari Allah SWT. Amien.

Penulis,

Misbakhulmunir

Abstrak

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 yang tidak sesuai dengan kondisi ideal untuk pertumbuhan dan berkembang biaknya bakteri, sementara diduga kuat bahwa perairan tersebut tercemar oleh limbah domestik termasuk feces. Untuk perairan pantai, permasalahan utama penggunaan organisme indikator adalah pengaruh perubahan salinitas terhadap tingkat kematian organisme indikator tersebut. Oleh karena itu maka alternatif indikator 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. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol pada Lingkungan Sungai, Muara, dan Perairan Pantai pada Monsun Timur di berbagai kondisi kontaminasi yang bervariasi (Jakarta, Semarang, dan Jepara).

Metode penelitian yang digunakan adalah pengambilan sampel di lapangan dan uji laboratorium. Sampel penelitian adalah air dan sedimen dari 3 (tiga) lingkungan yang berbeda yaitu sungai, muara, dan perairan pantai dari 3 (tiga) lokasi yaitu Jakarta, Semarang, dan Jepara. Selain itu juga dilakukan pengukuran parameter kualitas perairan antara lain suhu, oksigen terlarut (DO), keasaman (pH), kecerahan, kekeruhan, dan salinitas. Sedangkan untuk uji laboratorium, kegiatan yang dilakukan antara lain pembuatan media biakan, isolasi bakteri, skrining bakteri pendegradasi koprostanol dengan media indikator, uji pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol, dan identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol.

Dari 359 isolat yang diuji, ditemukan 234 isolat yang mampu mendegradasi koprostanol. Skrining lebih lanjut terhadap 18 isolat terbaik digolongkan dalam 5 (lima) genera bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol, yaitu *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., *Branhamella* sp., *Neisseria* sp., dan *Pseudomonas* sp.. Dari kelima genera tersebut, tiga diantaranya yaitu *Achromobacter* sp., *Branhamella* sp., dan *Neisseria* sp. belum pernah dilaporkan kemampuannya dalam mendegradasi koprostanol.

Kata Kunci : Koprostanol, Limbah Domestik, Indikator Pencemar, Isolasi, Identifikasi, Bakteri Pendegradasi

Abstract

In this time being methods to study environmental contamination of domestic waste by means of biological indicator is usually coliform bacteria. However, the use of coliform bacteria as indicator of domestic waste contamination own some problems, for example it does not detected in territorial water which is agree with the ideal condition for the growth and multiplication of bacteria; whereas it is anticipated that the territorial water was contaminated by domestic waste such as faeces. In the Coastal water, special problems in using such an indicator organism is the changeable salinity which might reached the level of death for the indicator organism. Therefore, other alternative indicator is urgently needed.

One indicator alternative of domestic waste contamination is coprostanol. It showed having the conservative characteristics of being quantified and attributed to specific pollutant source. However it is important to understand that in the nature, natural coprostanol can be degraded by bacteria. Therefore it is necessary to conduct a study about Isolation and Identification of Coprostanol Degrading Bacteria in River, Estuarine, and Coastal Environments during Dry Season of East Monsoon (case study in Jakarta, Semarang, and Jepara).

The study was taken place in the field and laboratory. The samples were water and sediment from three different environment that is river, estuarine, and coastal waters. Some physical and chemical parameters were also taken, i.e temperature, dissolve oxygen (DO), pH, brightness, turbidity and salinity. The laboratory tests included preparing the media, insulation the bacteria, screening the coprostanol degrading bacteria by specific indicator media, testing the growth of Coprostanol Degrading Bacteria and identifying coprostanol degrading bacteria.

As much as 234 out of 359 isolates tested were found capable of degrading coprostanol. A further screening on 18 best isolates established five genera of such specific degradability; they are *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., *Branhamella* sp., *Neisseria* sp., and *Pseudomonas* sp., of those, three genera i.e. *Achromobacter* sp., *Branhamella* sp., and *Neisseria* sp. were never been reported for their ability in degrading coprostanol.

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

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Identifikasi dan Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	7
1.4. Kegunaan Penelitian	7
1.5. Hipotesis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Pencemaran Limbah Domestik	9
2.2. Indikator Pencemaran Limbah Domestik	10
2.3. Karakteristik Koprostanol (5β -Cholestan- 3β -ol)	12
2.4. Struktur kimia Koprostanol	13
2.5. Pembentukan Koprostanol	14
2.6. Koprostanol sebagai Indikator Kontaminasi dan Perunut Alamiah Penyebaran Limbah Domestik	16
2.7. Biodegradasi Koprostanol	20
2.8. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol	23
2.9. Karakteristik Monsoon	25
BAB III METODE PENELITIAN	28
3.1. Rancangan Penelitian	28
3.2. Ruang Lingkup Penelitian	28
3.3. Lokasi Penelitian	28
3.4. Variabel Penelitian / Fenomena Yang Diamati	29
3.5. Jenis dan Sumber Data	29
3.6. Alat dan Bahan Penelitian	30
3.7. Teknik Pengambilan Sampel	32
3.8. Teknik Analisa Data	41

BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	42
	4.1. Rona Lingkungan Daerah Penelitian	42
	4.2. Kondisi Fisika dan Kimia Perairan	50
	4.3. Total Koloni Bakteri dari Tiga Lokasi	51
	4.4. Uji Bakteri Pendegradasi Koprostanol pada Media EMBA	52
	4.5. Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Koprostanol pada Media Cair	56
	4.6. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri	62
	4.7. Pembahasan	67
BAB V	KESIMPULAN	80
	5.1. Simpulan	80
	5.2. Saran	81
	DAFTAR PUSTAKA	82
	LAMPIRAN	85

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Beberapa Organisme Patogen pada Badan Air	10
Tabel 2. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel di lapangan	30
Tabel 3. Alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi di laboratorium...	31
Tabel 4. Derajat Stasiun Sampling dari Tiga Lokasi (Jakarta, Semarang, Jepara)	32
Tabel 5. Parameter Fisik Kualitas Air di Jakarta, Semarang dan Jepara....	50
Tabel 6. Jumlah total koloni bakteri pada berbagai kondisi lingkungan dan Habitat dari tiga lokasi penelitian (Jakarta, Semarang, Jepara)	51
Tabel 7. Hasil uji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi senyawa Koprostanol dari lokasi Jakarta, Semarang, dan Jepara	53
Tabel 8. Bakteri Pendegradasi Koprostanol dari Tiga Lokasi Penelitian (Jakarta, Semarang, dan Jepara)	54
Tabel 9. Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik	60
Tabel 10. Pengaruh perbedaan lokasi terhadap pertumbuhan bakteri pendegradasi Koprostanol sampai hari ke-7	61
Tabel 11. Pengaruh perbedaan lingkungan terhadap pertumbuhan bakteri Pendegradasi Koprostanol sampai hari ke-7	61
Tabel 12. Pengaruh perbedaan habitat terhadap pertumbuhan bakteri pendegradasi Koprostanol sampai hari ke-7	62
Tabel 13. Uji biokimia bakteri pendegradasi Koprostanol Terseleksi	63
Tabel 14. Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur kimia kolesterol, koprostanol, kolestanol	14
Gambar 2. Alur Pembentukan Koprostanol	15
Gambar 3. Lokasi dan titik sampling di Semarang	44
Gambar 4. Lokasi dan titik sampling di Jakarta	47
Gambar 5. Lokasi dan titik sampling di Jepara	49
Gambar 6. Uji Bakteri Pendegradasi Koprostanol dengan media indikator EMBA	52
Gambar 7. Jumlah Koloni Bakteri Pendegradasi Koprostanol Berdasarkan Lokasi, Lingkungan dan Habitat	55
Gambar 8. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Lokasi Jakarta	57
Gambar 9. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Lokasi Semarang	58
Gambar 10. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Lokasi Jepara	59
Gambar 11. Pewarnaan Gram Terhadap Strain Bakteri Pendegradasi Koprostanol	64
Gambar 12. Komposisi Genus Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik	65
Gambar 13. Komposisi Genus Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik Berdasarkan Lokasi, Lingkungan dan Habitat	66

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pertumbuhan Jumlah Sel Bakteri Pada Media Cair (<i>Optical Density</i>) dengan ditambah koprostanol 25 ppm.....	85
Lampiran 2. Jumlah total koloni bakteri pada variasi tingkat pengenceran dari tiga lokasi penelitian (Jakarta, Semarang, dan Jepara)	87
Lampiran 3. Uji Statistik dengan ANOVA 3 Jalur	88
Lampiran 4. Langkah-langkah Identifikasi Bakteri	90

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Indonesia sebagai negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki 17.508 pulau dengan panjang garis pantai 81.000 km, memiliki potensi sumber daya pesisir dan lautan yang besar (Bengen, 2001). Sumber daya alam yang terdapat di wilayah pesisir dan lautan terdiri dari sumber daya yang dapat diperbaharui seperti perikanan, hutan bakau, dan terumbu karang maupun sumberdaya yang tidak dapat diperbaharui seperti minyak bumi dan gas mineral serta jasa-jasa lingkungan (Dahuri *et al.*, 1996).

Wilayah pesisir didefinisikan sebagai wilayah daratan yang berbatasan dengan laut, batas di daratan meliputi daerah-daerah yang tergenang air maupun yang tidak tergenang air yang masih dipengaruhi oleh proses-proses laut seperti pasang surut, angin laut dan intrusi garam. Sedangkan batas di laut ialah daerah-daerah yang dipengaruhi oleh proses-proses alami di daratan seperti sedimen dan mengalirnya air tawar ke laut, serta daerah-daerah yang dipengaruhi oleh kegiatan-kegiatan manusia di daratan (Bengen, 2001).

Wilayah pesisir bersifat dinamis dan rentan terhadap perubahan lingkungan baik karena proses alami maupun aktifitas manusia. Dalam melakukan berbagai aktifitas untuk meningkatkan taraf hidupnya, manusia melakukan perubahan-perubahan terhadap ekosistem dan sumber daya alam sehingga berpengaruh terhadap lingkungan di wilayah pesisir.

Wilayah pesisir dunia merupakan wilayah yang sangat padat dengan jumlah penduduk 50–70% dari jumlah penduduk dunia. Di Indonesia sendiri 60% penduduknya

hidup di wilayah pesisir, sehingga peningkatan jumlah penduduk yang hidup di wilayah pesisir memberikan dampak berupa tekanan terhadap sumber daya alam pesisir seperti degradasi pesisir, hutan bakau, terumbu karang, pembuangan limbah ke laut, sedimentasi sungai-sungai, erosi pantai, abrasi dan sebagainya (Dahuri *et al.*, 1996).

Bentuk tekanan lingkungan yang dapat menyebabkan terjadinya pencemaran perairan pantai dan laut dapat berasal dari berbagai macam sumber antara lain limbah industri, limbah domestik, aktifitas pertanian dan transportasi. 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.

Aktifitas manusia yang terus meningkat di wilayah pesisir, telah menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan lingkungan, berupa meningkatnya volume limbah industri yang bersifat toksik dan bersuhu tinggi, serta menurunnya kandungan oksigen terlarut pada perairan pantai. 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 lingkungan perairan yang tidak sesuai dengan kondisi ideal untuk pertumbuhan dan berkembang biaknya bakteri, 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 keadaan “*Viable But Nonculturable (VBNC)*” sehingga tidak terdeteksi dengan prosedur analisa rutin.

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

Salah satu indikator alternatif pencemaran limbah domestik adalah koprostanol, yang sifatnya cukup konservatif, dapat dikuantitatifkan dan dapat dihubungkan dengan sumber pencemar yang spesifik. 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 dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol.

1.2. Identifikasi dan Perumusan Masalah

a. Identifikasi Masalah

Selama ini, salah satu cara untuk mengetahui adanya pencemaran limbah domestik ditentukan dengan pengukuran jumlah bakteri *fecal coliform* (Bartlett, 1987). Penggunaan bakteri *fecal coliform* sebagai indikator biologi untuk pencemaran limbah domestik terkadang menimbulkan masalah. Permasalahan yang timbul adalah toleransi bakteri coliform yang rendah terhadap kondisi lingkungan dengan tekanan lingkungan

tinggi. Hal ini menuntut adanya alternatif indikator yang persisten terhadap berbagai tekanan lingkungan, sehingga pencemaran limbah domestik dapat diketahui dengan baik.

Untuk mengatasi kelemahan bakteri *fecal coliform* sebagai bioindikator pencemaran limbah domestik salah satunya yaitu dengan penggunaan koprostanol (5β -cholestan- 3β -ol). Koprostanol merupakan fecal sterol dominan yang dihasilkan manusia, merupakan 40-60% dari total sterol yang dikeluarkan (Walker *et al.*, 1982).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penggunaan koprostanol sebagai indikator pencemaran limbah domestik diantaranya telah dilakukan oleh Hatcher *et al.* (1977) dalam penelitiannya di New York Bright, dan menyimpulkan bahwa keberadaan koprostanol dan 24β -ethylkoprostanol di sedimen terkontaminasi limbah domestik dapat digunakan sebagai indikator kimia untuk kontaminasi limbah domestik.

Penelitian lain oleh Brown dan Wade (1984) yang mengukur konsentrasi koprostanol dan hidrokarbon di aliran dari Chesapeake-Elizabeth Sewage Treatment Plant (STP) dan sedimen permukaan area di sekitar lokasi pembuangan *outfall*. Hasil penelitian mereka menunjukkan manfaat koprostanol dan upaya memahami dengan lebih baik kondisi pencemar yang berasal dari limbah domestik di area sekitar *outfall*.

Dureth *et al* (1986) juga meneliti tentang peruntukan pencemaran feses dengan menggunakan koprostanol dan bakteri intestinal dari Danau Finnish yang menerima limbah industri dan domestik. Penelitian ini mendukung bahwa koprostanol merupakan suatu indikator pencemaran feses dan berasal dari feses binatang mamalia dan manusia. Sedangkan dari hasil penelitian Holm dan Windsor (1990) diperoleh kesimpulan bahwa deteksi koprostanol menjadi faktor yang berharga dalam mengevaluasi kelanjutan pola penyebaran aliran limbah, khususnya di wilayah dengan pertumbuhan penduduk cepat.

Pada beberapa wilayah di negara daerah lintang tinggi, koprostanol telah dijadikan sebagai indikator resmi dalam penentuan pencemaran limbah domestik. Namun di daerah tropis khususnya di Indonesia, data penelitian mengenai penggunaan koprostanol sebagai indikator pencemaran limbah domestik, masih sangat terbatas. Meskipun telah dilakukan penelitian oleh Bachtiar (2002) tentang koprostanol di daerah tropis (Indonesia), yaitu di perairan pantai Semarang.

Perbedaan kondisi alam yang paling kontras antara daerah tropis (Indonesia) dengan daerah sub tropis adalah kondisi iklim. Pada daerah tropis, fluktuasi suhu musiman tidak mengekang aktifitas biologis. Hal ini sangat mempengaruhi persistensi koprostanol di alam sehingga aspek ruang dan waktu dalam kajian pencemaran pada suatu wilayah menjadi hal yang penting.

Coakley dan Long (1990) menyatakan bahwa untuk dapat menjadi indikator maka koprostanol harus memenuhi beberapa persyaratan antara lain harus dapat dihubungkan secara langsung dengan sumber yang spesifik, harus dapat dikuantitatifkan (mempunyai eksistensi yang baik di alam) dan harus bersifat cukup konservatif (mempunyai persistensi yang baik di alam).

Untuk mengetahui dengan lebih detail tentang kelayakan koprostanol sebagai alternatif indikator pencemaran limbah domestik, maka perlu dilakukan penelitian lebih jauh tentang eksistensi dan persistensi koprostanol pada beberapa lokasi dengan variasi tingkat pencemaran. Selanjutnya dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri yang mempunyai kemampuan mendegradasi koprostanol dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai pada beberapa daerah dengan tingkat pencemaran tinggi, sedang, dan rendah untuk mengetahui apakah bakteri tersebut umum terdapat di alam atau bakteri yang spesifik.

Monsun timur yang bertiup di Indonesia berakibat pada rendahnya curah hujan yang turun pada daerah yang dilewatinya. Curah hujan yang turun pada daratan berpengaruh terhadap besar kecilnya aliran air yang membawa limbah domestik masuk dalam suatu perairan. Komponen utama limbah domestik adalah limbah rumah tangga yang mengandung feses atau tinja manusia atau hewan berdarah panas lainnya. Sedangkan koprostanol adalah senyawa organik turunan kolesterol yang merupakan senyawa penyusun feses atau tinja.

Penjelasan dari hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa koprostanol mengalami proses biodegradasi, meskipun demikian pada sedimen tua koprostanol masih terdeteksi. Hal ini menimbulkan pertanyaan atau dugaan bahwa pada konsentrasi rendah, koprostanol tidak terdegradasi atau sedikit terdegradasi. Hal yang belum diketahui adalah berapa batas konsentrasi tersebut, dan mengapa hal itu terjadi. Mengingat proses utama yang berperan adalah biodegradasi, maka tiap wilayah (*region*) akan memiliki karakteristik masing-masing. Informasi tentang hal tersebut di perairan pantai tropis, khususnya di Indonesia belum diketahui.

b. Perumusan Masalah

Permasalahan yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

- 1) Apakah ada pengaruh perbedaan lokasi, lingkungan, dan habitat pertumbuhan terhadap degradasi koprostanol oleh bakteri.
- 2) Jenis-jenis bakteri apa saja yang mampu mendegradasi koprostanol pada variasi lokasi, lingkungan, dan habitat.
- 3) Apakah ada keragaman bakteri pendegradasi koprostanol pada variasi lokasi, lingkungan, dan habitat.

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

- 1) Menguji pengaruh perbedaan lokasi, lingkungan, dan habitat terhadap degradasi koprostanol oleh bakteri.
- 2) Mengisolasi bakteri pendegradasi koprostanol pada kolom air dan sedimen dari lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai, di lokasi dengan tingkat pencemaran tinggi, sedang dan rendah.
- 3) Mengetahui keragaman bakteri pendegradasi koprostanol pada kolom air dan sedimen dari lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai, di lokasi dengan tingkat pencemaran tinggi, sedang dan rendah.

1.4. Kegunaan Penelitian

Hasil yang diharapkan adalah diketahuinya bakteri pendegradasi koprostanol pada lokasi yang mempunyai tingkat pencemaran tinggi, sedang, dan rendah dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai serta sebagai informasi yang penting dalam kajian persistensi koprostanol di lingkungan.

1.5. Hipotesis

Hipotesis yang diuji dalam penelitian ini adalah :

- 1) H_0 = Tidak terdapat beda nyata degradasi koprostanol oleh bakteri pada 3 (tiga) lokasi pertumbuhan yaitu Jakarta, Semarang dan Jepara
 H_1 = Terdapat beda nyata degradasi koprostanol oleh bakteri pada 3 (tiga) lokasi pertumbuhan yaitu Jakarta, Semarang dan Jepara

2) H_0 = Tidak terdapat beda nyata degradasi koprostanol oleh bakteri pada 3 (tiga) lingkungan pertumbuhan yaitu sungai, muara dan perairan pantai (laut).

H_1 = Terdapat beda nyata degradasi koprostanol oleh bakteri pada 3 (tiga) lingkungan pertumbuhan yaitu sungai, muara dan perairan pantai (laut).

3) H_0 = Tidak terdapat beda nyata degradasi koprostanol oleh bakteri pada 2 (dua) habitat pertumbuhan yaitu air dan sedimen.

H_1 = Terdapat beda nyata degradasi koprostanol oleh bakteri pada 2 (dua) habitat pertumbuhan yaitu air dan sedimen.

Dari hasil hipotesis di atas dapat diambil keputusan terhadap hasil analisis sebagai berikut :

Jika $p \geq 0,05$ maka H_0 diterima H_1 ditolak

$p < 0,05$ maka H_1 diterima H_0 ditolak

Kemudian hipotesis untuk uji t antar perlakuan digunakan kriteria sebagai berikut :

Jika $p < 0,01$ sangat beda nyata

$0,01 \leq p < 0,05$ beda nyata

$p \geq 0,05$ tidak beda nyata

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pencemaran Limbah Domestik

Lautan sudah sejak lama dipandang dan diperlakukan sebagai tempat terakhir untuk pembuangan limbah yang dihasilkan dari aktifitas manusia, baik yang di daratan maupun di lautan, maka wilayah pantai sangat rentan terhadap pencemaran lingkungan. Salah satu penyumbang terjadinya pencemaran laut adalah limbah domestik.

Limbah domestik dapat berupa material organik dan anorganik (Pandey and Carney 1991), dan dapat berupa gas, cairan, dan padatan. Limbah padat dari sumber domestik dianggap bukan merupakan limbah bahan beracun dan berbahaya (B3), meskipun di dalamnya kadang-kadang terdapat juga limbah B3.

Pencemaran limbah domestik, khususnya di perairan pantai, pada negara yang sedang berkembang masih kurang mendapat perhatian serius bila dibandingkan dengan pencemaran limbah industri. Hal ini terjadi karena walaupun secara kuantitas debit limbah relatif lebih kecil, tetapi mempunyai peranan yang penting dalam penurunan kualitas air, karena umumnya mempunyai toksisitas yang tinggi. Namun dengan terus meningkatnya aktifitas manusia di wilayah pesisir dan kesadaran akan pentingnya lingkungan yang bersih bagi kesehatan, estetika, dan alasan ekologis lainnya, deteksi tentang kontaminasi limbah domestik menjadi penting untuk diketahui secara baik.

Suatu hal yang penting dalam masalah pencemaran suatu perairan, adalah bahwa tingkat keseriusan masalah pencemaran tidak hanya tergantung pada tingkat toksisitas pencemar yang tinggi (Alloway dan Ayers, 1994). Pencemaran bahan organik, seperti limbah domestik, selain menyebabkan menurunnya kandungan oksigen terlarut, yang

menyebabkan kebutuhan oksigen oleh biota yang ada tidak terpenuhi; juga mengandung banyak unsur lain yang membahayakan kesehatan, seperti organisme patogen (Tabel 1) (Chapra 1997).

Tabel 1. Beberapa Organisme Patogen pada Badan Air

Kategori	Organisme Patogen
Bakteri	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Legionella</i>
Virus	<i>Hepatitis A</i> <i>Enterovirus</i> <i>Poliovirus</i> <i>Echovirus</i> <i>Coxsackievirus</i> <i>Rotavirus</i>
Protozoa	<i>Giardia lamblia</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Cryptosporidium</i> <i>Naegleria fowleri</i>
Helminthes	<i>Nematodes</i> <i>Schistosoma</i> <i>Haematobium</i>
Mikro Alga	<i>Anabaena flos-aquae</i> <i>Microcystis aeruginosa</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i>

2.2. Indikator Pencemaran Limbah Domestik

Identifikasi adanya pencemaran limbah domestik dalam suatu lingkungan merupakan hal yang penting berkaitan dengan kesehatan, estetika, dan alasan ekologis lainnya (Bartlett, 1987). Pencemaran dari limbah manusia dan hewan merupakan penyebab utama menurunnya kualitas air dan peningkatan kandungan nutrisi di pantai

dan saluran air di daratan. Karakteristik kimia dan biologi dari limbah domestik telah digunakan sebagai indikator kontaminasi limbah domestik, untuk mengidentifikasi daerah yang terkontaminasi dan mempunyai potensi terhadap bahaya kesehatan (Hatcher and McGillivary 1979). Mikroorganisme saluran pencernaan khususnya kelompok *coliform*, telah digunakan sejak lama sebagai indikator kualitas sanitasi air (Walker *et al.* 1982).

Pada umumnya untuk menentukan secara langsung sifat patogen tiap organisme tidak mudah dan/atau membutuhkan biaya yang tidak murah, sehingga untuk kebutuhan pengelolaan kualitas air digunakan tingkat keterdapatannya organisme indikator. Pengukuran organisme indikator umumnya relatif mudah dan jumlahnya banyak pada feses manusia maupun hewan berdarah panas (homoioterm). Keberadaan organisme indikator tersebut di alam menunjukkan adanya kontaminasi limbah domestik, dan secara deduktif keberadaan organisme patogen harus diwaspadai (Dutka *et al.* 1974; Chapra, 1997).

Selama ini organisme indikator tentang adanya kontaminasi limbah domestik ditentukan berdasarkan jumlah mikroorganisme intestinal (Chapra 1997), khususnya kelompok bakteri *coliform*, yaitu :

a. Total coliform (TC)

Merupakan kelompok besar dari bakteri anaerob. *Escherichia coli* dan *Aerobacter aerogenes* merupakan bakteri yang dominan dari kelompok ini, dan terdapat pada tanah, baik yang tercemar maupun tidak, dan juga pada feses hewan berdarah panas.

b. Fecal coliform (FC)

Merupakan bagian dari TC yang berasal dari sistem pencernaan hewan berdarah panas.

c. Fecal streptococci (FS)

Terdiri dari *Streptococcus faecalis* (berasal dari manusia), *Streptococcus bovis* (berasal dari sapi), dan *Streptococcus equines* (berasal dari kuda).

2.3. Karakteristik Koprostanol (5β -Cholestan- 3β -ol)

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.

Koprostanol mempunyai sifat tidak larut dalam air, sehingga dalam bentuk koloid koprostanol berpotensi sebagai koloid hidrofobik yang bersifat terflokulasi. Koloid koprostanol akan teradsorpsi oleh material organik yang terdapat pada koloid lempung dalam proses flokulasi. Selanjutnya akan mengalami transpor bersama sedimen lempung oleh adanya pola arus dekat pantai. Hal ini menyebabkan sedimen lempung mempunyai kandungan organik total atau koprostanol yang lebih tinggi dibandingkan dengan sedimen debu (*silt*) dan pasir (*sand*). Pencemar limbah domestik umumnya merupakan material organik dan teradsorpsi pada sedimen lempung, maka pola penyebaran limbah domestik pada suatu perairan pantai dapat diketahui berdasarkan pola penyebaran indikator kontaminasi limbah domestik di sedimen perairan tersebut.

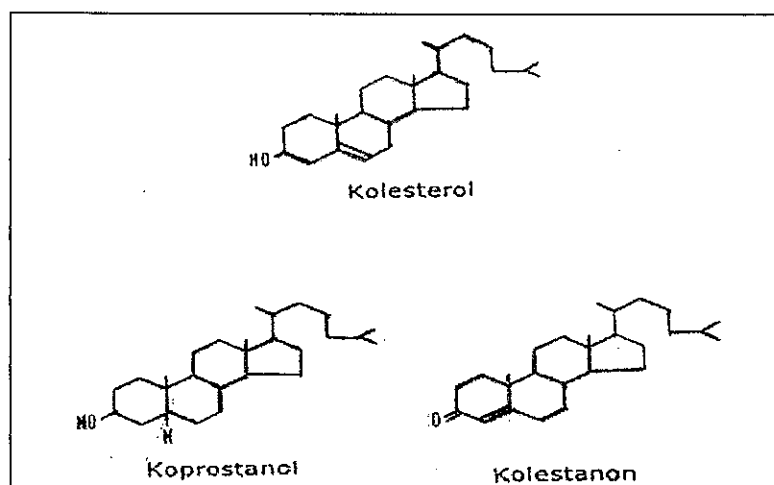
Walker *et al.* (1982) menyatakan bahwa koprostanol pertama kali diamati oleh Macet pada pertengahan tahun 1980 dengan mendapatkan zat yang dinamakan *excretine*

yang merupakan hasil kristalisasi ekstrak alkohol pada feses manusia. Berdasarkan data titik leleh dan kelarutan diketahui bahwa zat tersebut mengandung koprostanol. Walker *et al.* (1982) menambahkan bahwa sekitar 30% koprostanol yang terdapat pada feses manusia berada dalam bentuk ester yang dibentuk oleh proses hidrogenasi ester kolesterol atau esterifikasi koprostanol.

Penyebaran konsentrasi koprostanol di alam dalam pemanfaatannya sebagai indikator pencemaran limbah domestik dianggap sebagai akibat adanya pengenceran atau pencampuran secara fisik selama proses transpor. Koprostanol dan kolesterol terdegradasi oleh bakteri yang secara alamiah terdapat pada limbah domestik maupun air (Walker *et al.*, 1982).

2.4. Struktur Kimia Koprostanol

Struktur kimia koprostanol sangat mirip dengan kolesterol (Walker *et al.* 1982). Perbedaannya hanya adanya ikatan rangkap pada C5 dan 6 pada kolesterol (Gambar 1). Hidrogenasi pada ikatan rangkap kolesterol dapat menghasilkan pembentukan dua isomer yang berbeda satu dengan lainnya pada konfigurasi karbon 5 pada pertemuan lingkaran A dan B. Pada koprostanol, ikatan hidrogen pada karbon 5 dan $-CH_3$ pada karbon 10 keduanya mempunyai orientasi β (konfigurasi cis). Konfigurasi ini dinyatakan sebagai seri normal karena identik dengan konfigurasi *natural bile acids*. Secara alamiah, terdapat sterol jenuh disamping koprostanol yang ikatan hidrogennya mempunyai orientasi, yaitu kolestanol (5α -cholestan- 3β -ol).



Gambar 1. Struktur Kimia Kolesterol (cholest-5-en-3 β -ol), Koprostanol (5 β -cholestan-3 β -ol), dan Kolestanol (5 α -cholestan-3 β -ol). (Walker *et al.* 1982)

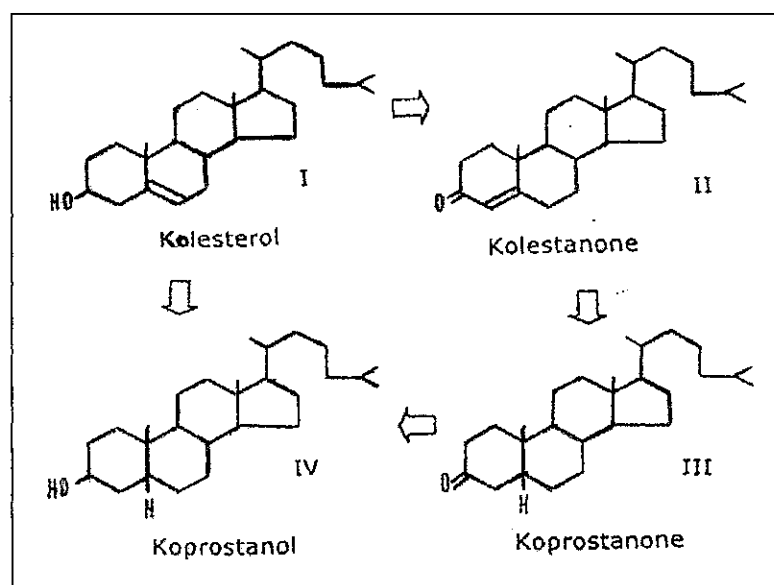
2.5. Pembentukan Koprostanol

a. Biosintesis

Secara biosintesis, ada dua alur pembentukan koprostanol yang telah diusulkan (Gambar 2) (Walker *et al.* 1982). Alur pertama adalah akibat adanya hidrogenasi stereospesifik pada ikatan rangkap 5, 6 pada kolesterol (I \rightarrow IV). Sedangkan alur kedua diawali dengan adanya konversi dari kolesterol menjadi kolestanone (I \rightarrow II). Penurunan dari kolestatone akan membentuk koprostanone (II \rightarrow III). Koprostatone ini yang kemudian penurunannya membentuk koprostanol (III \rightarrow IV).

Rosenfeld, Paul, dan Yamauchi pada tahun 1967 mengusulkan bahwa koprostanol terbentuk sebagai hasil proses hidrogenasi langsung kolesterol (Walker *et al.* 1982). Dengan menggunakan ^3H - ^{14}C -kolesterol, mereka mampu mengembalikan ^3H - ^{14}C -koprostanol dengan menggunakan rasio $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ kembali ke asal kolesterol.

Alur pembentukan koprostanol secara tidak langsung banyak diusulkan oleh para peneliti. Schoenheimer, Rittenberg, dan Graff (1935) menunjukkan konversi koprostanone menjadi koprostanol pada feses manusia dan anjing (Walker *et al.* 1982). Kolestanone sebagai produk antara dalam proses metabolisme koprostanol, terdeteksi pada feses anjing dan tikus. Dehidrogenasi mampu mengkonversi kolesterol menjadi kolestanone. Dalam studi degradasi kolesterol secara microbial oleh Stadtman, Cherkas, dan Anfinsen (1954), diketahui bahwa konversi kolesterol ke kolestanone juga terdeteksi pada ekstrak bakteri (Walker *et al.* 1982).



Gambar 2. Alur Pembentukan Koprostanol : I. Kolesterol, II. Kolestanone, III. Koprostanone, dan IV. Koprostanol. (Walker *et al.* 1982).

b. Esterifikasi

Eyssen, Piessens-Denef, dan Parmentier (1972) mendapatkan bahwa sekitar 30% koprostanol yang terdapat pada feses manusia berada dalam bentuk ester (Walker *et al.* 1982). Ester ini dapat terbentuk oleh proses hidrogenasi ester kolesterol atau esterifikasi koprostanol.

c. Peranan mikroba

Peranan mikroorganisme intestinal dalam pembentukan koprostanol telah diketahui sejak lama. Hal ini diketahui dari hasil penelitian Dam (1934) dan Rosenheim dan Webster (1935) tentang coprosterol, serta Rosenfeld dan Helimann (1971) tentang pengurangan dan esterifikasi kolesterol dan sitosterol (Walker *et al.* 1982).

Telah dilakukan juga pengamatan tentang perubahan populasi mikroba dengan dilakukannya manipulasi diet, yang dapat menghasilkan pengurangan atau menghilangkan sama sekali pembentukan koprostanol. Midvedt dan Frederichsen (1977) dan Kellogg (1972) mengamati pengaruh pemberian berbagai antibiotik kepada diet manusia. Mereka mendapatkan bahwa terjadi pengurangan yang sangat besar bahkan tidak terdeteksinya konsentrasi koprostanol pada feses yang dihasilkan (Walker *et al.* 1982).

2.6. Koprostanol sebagai Indikator Kontaminasi dan Perunut Alamiah Penyebaran Limbah Domestik

Keberadaan *fecal sterol* koprostanol (5β -cholestan- 3β -1 α) di lingkungan perairan telah menunjukkan bahwa koprostanol merupakan indikator kimia untuk kontaminasi limbah domestik (Hatcher *et al.* 1977; Hatcher dan McGillivray 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).

Hatcher *et al.* (1977) dalam penelitiannya di New York Bright berkesimpulan bahwa keberadaan koprostanol dan 24β -ethylcoprostanol di sedimen terkontaminasi limbah domestik dapat digunakan sebagai indikator kimia untuk kontaminasi limbah domestik. Hatcher dan McGillivray (1979) menganalisa konsentrasi koprostanol di sedimen dari New York untuk menentukan tingkat kontaminasi limbah domestik. Mereka mendapatkan bahwa ada hubungan yang erat antara koprostanol dengan kandungan organik total (KOT). Terdapat juga hubungan yang erat antara jumlah endapan limbah domestik yang dibuang ke daerah ini lebih dari 25 tahun dengan KOT. Juga disimpulkan bahwa koprostanol merupakan suatu perunut yang ideal untuk limbah domestik, bila ditampilkan sebagai prosentase dari total steroid (% koprostanol), dan dapat diestimasi dari jumlah material organik dari limbah domestik, dengan beberapa asumsi. Hasil penelitian deret waktu konsentrasi koprostanol di sedimen, diketahui bahwa koprostanol cukup presisten pada sedimen anoksik.

Brown dan Wade (1984) mengukur konsentrasi koprostanol dan hidrokarbon di aliran dari Chesapeake-Elizabeth *sewage treatment plant* (STP) dan sedimen permukaan dari area di sekitar lokasi pembuangan aliran. Hasil penelitian mereka menunjukkan manfaat koprostanol dan upaya memahami dengan lebih baik kondisi pencemar yang berasal dari limbah domestik di area sekitar *outfall*.

Dureth *et al.* (1986) meneliti tentang peruntan pencemaran feses dengan menggunakan koprostanol dan bakteri intestinal di Danau Finnish yang menerima limbah industri dan domestik. Mereka mendapatkan bahwa koprostanol terutama berasosiasi dengan sedimen tersuspensi, dan hilangnya koprostanol di kolom air terutama akibat sedimentasi selama terdistribusi. Terdapat korelasi yang kuat antara koprostanol dan *fecal*

streptococci pada kolom air. Penelitian ini juga mendukung bahwa koprostanol merupakan suatu indikator pencemaran feses yang berasal dari feses binatang mamalia dan manusia.

Holm dan Windsor (1990) meneliti sampel air, partikel dalam kolom air, dan sedimen yang diambil pada dan sekitar *outfall* limbah domestik dekat Cocoa, Florida. Mereka berkesimpulan bahwa deteksi koprostanol dapat menjadi alat yang sangat berharga dalam mengevaluasi kelanjutan dari pola penyebaran aliran limbah, khususnya di wilayah dengan pertumbuhan penduduk cepat.

Coakley dan Poulton (1991) menggunakan perunut alamiah yang berhubungan dengan limbah domestik (koprostanol dan α -*tocopheryl acetate*) dan perunut buatan (*cesium*) dalam penelitian transpor sedimen halus di Perairan Great Lake sekitar Toronto. Coakley *et al.* (1992) juga menguji beberapa komponen organik spesifik (koprostanol, α -*tocopheryl acetate*, *linear chain n alkane hydrocarbons*, dan isotop rasio karbon dan nitrogen). Mereka berkesimpulan bahwa sebagai perunut yang berhubungan langsung dengan limbah domestik, walaupun tidak bersifat konservatif seperti indikator anorganik (karena adanya proses biodegradasi), koprostanol merupakan perunut yang menjanjikan untuk mengetahui pola transpor sedimen halus dekat *outfall* suatu unit pengolahan limbah untuk waktu yang cukup panjang (*intermediate-term*).

Bachtiar (1993) menggunakan lima parameter yang berhubungan dengan *outfall* unit pengolahan limbah Skyway, Burlington yaitu koprostanol, rasio isotop karbon dan nitrogen, kandungan bahan organik, dan ukuran butir sedimen untuk meneliti pola penyebaran sedimen halus terkontaminasi yang berkaitan dengan Skyway *Sewage Treatment Plant (STP)*. Pola penyebaran dari parameter-parameter tersebut menunjukkan

cara yang efektif untuk mendapatkan pola sedimen terkontaminasi limbah domestik. Bachtiar *et al.* (1996), membahas secara khusus pemanfaatan koprostanol dan rasio isotop karbon dan nitrogen sebagai perunut sedimen terkontaminasi limbah domestik. Hasil analisis pola penyebaran indikator menunjukkan bahwa *outfall STP* mempunyai karakteristik nilai yang tinggi untuk : konsentrasi koprostanol (934,8 ppm), kandungan bahan organik (70,9%), dan rasio koprostanol/organik (13,2). *Outfall STP* jelas menunjukkan bahwa sebagai sumber $\delta^{15}\text{N}$ ringan (+2,8 ‰) dan $\delta^{13}\text{C}$ berat (-22,9 ‰).

Jeng dan Han (1994) menganalisa koprostanol, kolestenol, dan kolesterol pada sampel core sedimen dari muara Tan-Shui yang bersifat anoksik. Hasil analisis menunjukkan bahwa ada perubahan konsentrasi koprostanol dan kolestenol pada kedalaman core 20 cm, yang diperkirakan merupakan akibat mulai beroperasinya STP di daerah tersebut pada 1980. Pada lapisan permukaan sampai kedalaman 20 cm, jumlah koprostanol yang dinormalisasi dengan KOT menunjukkan peningkatan dengan meningkatnya kedalaman. Kolestenol menunjukkan kecenderungan yang sama, sedangkan kolesterol cenderung berlawanan. Hal ini menyatakan bahwa tingkat anoksik mempunyai peranan penting dalam preservasi dan diagnosis sterol-sterol tersebut.

Jel *et al.* (1996), dalam penelitiannya pada 24 sampel sedimen permukaan dan 1 sampel *core* sedimen di laut Barat Daya Taiwan mendapatkan bahwa konsentrasi koprostanol menurun dengan meningkatnya jarak dari muara sungai Kaoping. Mereka berpendapat bahwa hal tersebut dapat disebabkan oleh : 1) pengenceran koprostanol oleh sedimen yang tidak terkontaminasi dan/atau sedimen yang relatif mengandung koprostanol lebih rendah, 2) pengenceran koprostanol oleh *biogenic sterols*, dan 3) kemungkinan degradasi koprostanol. Permukaan core sedimen sampai kedalaman 15 cm

menunjukkan konsentrasi koprostanol yang tinggi. Hal ini menunjukkan peningkatan masukan koprostanol selama lebih dari 20 tahun di daerah tersebut.

Chan *et al.* (1998) menggunakan koprostanol, kolestanol dan kolesterol sebagai molekul indikator untuk merunut pengendapan sedimen terkontaminasi perairan pantai tenggara Hongkong. Mereka mendapatkan bahwa semua indikator berguna untuk studi penyebaran pencemaran limbah domestik di sedimen perairan pantai. Mereka juga menyatakan bahwa rasio *fecal stanol/sterol*, $5\beta/(5\alpha + \text{kolesterol})$ merupakan parameter yang paling cocok untuk kegunaan perbandingan.

2.7. Biodegradasi koprostanol

Penyebaran koprostanol di alam dalam pemanfaatannya sebagai indikator pencemaran limbah domestik dianggap sebagai akibat adanya pengenceran atau pencampuran secara fisik selama proses transpor, walaupun disadari bahwa sesungguhnya koprostanol tidak bersifat konservatif seperti indikator anorganik (Coakley dan Poulton 1991). Lebih jauh Kirchmer (1971), Walker dan Wun, 1977 (Walker *et al.* 1982), Hassett, 1977 (Walker *et al.* 1982, dan Switzer-Howse dan Duka (1978), menyatakan bahwa koprostanol dan kolesterol secara aerob terdegradasi oleh bakteri yang secara alamiah ada pada limbah domestik maupun air.

Dari hasil penelitian beberapa peneliti, (Murtaugh dan Bunch, 1967; Smith *et al.*, 1968; Smith dan Gouron, 1969) tampak bahwa pengelolaan unit pengolahan limbah domestik dengan lumpur aktif secara baik menghasilkan aliran dengan penurunan bahkan bebas koprostanol (Walker *et al.* 1982). Hal ini saat itu diyakini merupakan peranan utama dari proses fisik. Kirchmer (1971) setelah mengadakan pengamatan perbedaan tingkat

degradasi koprostanol pada limbah domestik yang diberi khlor dan tidak diberi khlor, mengambil kesimpulan bahwa penghilangan koprostanol dengan proses lumpur aktif pada dasarnya merupakan peranan biodegradasi. Konsentrasi koprostanol pada limbah tanpa penambahan khlor terdegradasi menjadi 4% dari konsentrasi awal setelah 10 hari pada suhu ruangan. Pada beberapa tipe penambahan khlor, koprostanol berkurang menjadi 70% dari konsentrasi awal dalam 2 hari, dan menjadi 45 % dalam 8 hari. Hal ini menunjukkan bahwa bila keberadaan bakteri terganggu akibat adanya penambahan khlor, proses degradasi koprostanol menjadi sangat lambat.

Hasil studi biodegradasi koprostanol oleh Wunt *et al.* (Walker *et al* 1982) menunjukkan bahwa penguraian koprostanol menjadi sangat lambat pada limbah domestik yang pengencerannya menggunakan air tawar maupun air asin yang telah disaring dengan menggunakan membran filter dan disterilisasi, dibandingkan dengan air yang tidak disaring. Hal ini menunjukkan bahwa proses biodegradasi, dalam penghilangan koprostanol pada pengolahan dengan lumpur aktif, jelas merupakan faktor utama dalam penghilangan koprostanol.

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 kolesterol memperlihatkan dua genera bakteri yang tumbuh secara baik pada media dengan penambahan koprostanol maupun kolesterol, yaitu : *Flavobacterium* spp. dan *Pseudomonas* spp.

Talalay (1965) dalam studi degradasi molekul steroid oleh mikroorganisme menyatakan bahwa spesies dari genera *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).

Bartlett (1987) meneliti laju degradasi koprostanol pada beberapa sistem perairan secara alamiah, yaitu : a) lumpur limbah domestik, b) lumpur limbah domestik yang diencerkan 10 kali dengan air laut dan c) sedimen buatan (pasir bersir : lumpur limbah domestik, 4 : 1 v/v, yang ditempatkan pada tanki dengan air yang mengalir dan air yang statis. Konsentrasi koprostanol pada lumpur limbah domestik berkurang menjadi < 15% dari konsentrasi awal setelah 30 hari. Sedangkan pada sedimen buatan, konsentrasi koprostanol secara prinsip tidak berubah setelah 54 hari.

Penjelasan dari hasil penelitian yang telah dilakukan di atas menunjukkan bahwa koprostanol mengalami proses biodegradasi, namun pada sedimen koprostanol masih terdeteksi bahkan pada sedimen yang tua. Hal ini menimbulkan pertanyaan atau dugaan bahwa pada konsentrasi rendah, koprostanol tidak terdegradasi atau sedikit terdegradasi. Hal yang belum diketahui berapa batas konsentrasi tersebut, dan mengapa hal itu terjadi. Mengingat proses utama yang berperan adalah biodegradasi, maka tiap wilayah akan memiliki karakteristik masing-masing. Informasi tentang hal tersebut di perairan pantai tropis, khususnya di Indonesia belum diketahui.

2.8. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol

Pembiakan mikroorganisme dalam laboratorium memerlukan media yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai bagi mikroorganisme. Zat hara digunakan untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme dan pergerakan. Untuk terus dapat berkembang biak dan berfungsi secara baik, suatu organisme membutuhkan antara lain sumber energi, karbon untuk pembentukan sel baru, dan nutrien (elemen) inorganik (Tchobanoglous and Burton, 1991). Sumber karbon yang paling umum bagi mikroorganisme adalah senyawa organik dan karbondioksida.

Flora mikroba di lingkungan mana saja pada umumnya terdapat dalam populasi campuran. Untuk mencirikan dan mengidentifikasi suatu spesies mikroorganisme tertentu, pertama-tama spesies tersebut harus dapat dipisahkan dari organisme lain yang umum dijumpai dalam habitatnya, lalu ditumbuhkan menjadi biakan murni. Dalam mengidentifikasi mikroorganisme, semua metode mikrobiologis memerlukan suatu populasi yang terdiri dari satu macam mikroorganisme saja dalam penelaahan ciri-ciri kultural, morfologis, fisiologis, maupun serologis sehingga diperlukan biakan murni. Setelah diperoleh biakan murni dapat dilakukan serangkaian uji untuk memperoleh ciri morfologis dan biokimia dari isolat. Setiap uji yang dilakukan harus menggunakan kontrol untuk mengetahui apakah media serta reagen yang digunakan memenuhi persyaratan. Selain itu kontrol digunakan untuk melihat bahwa teknik yang digunakan benar dan tepat. Untuk melihat bahwa media yang digunakan bekerja dengan baik dapat digunakan biakan mikroba yang memberikan hasil positif dan negatif. Ukuran dan bentuk banyak sekali dipergunakan di dalam identifikasi dan klasifikasi sel-sel mikroorganisme.

Mikroba tidak memiliki ciri anatomi yang nyata, sehingga identifikasi bakteri didasarkan pada morfologi, sifat biakan dan sifat biokimiawi. Morfologi mikroorganisme

berdasarkan bentuk, ukuran dan penataan biasanya tidak cukup untuk melakukan identifikasi. Ciri lainnya seperti sifat pewarnaan, pola pertumbuhan koloni, reaksi pertumbuhan pada karbohidrat, dan penggunaan asam amino sangat membantu dalam identifikasi mikroba.

Rujukan yang dipakai dalam identifikasi bakteri pada saat ini ialah Bergey's Manual of Systematic Bacteriology tahun 1984. Bergey's manual mendasarkannya pada morfologi, sifat faali dan sifat biokimiawi bakteri. Beberapa tahapan cara isolasi dan identifikasi bakteri dari suatu suspensi menurut Lay, (1994) meliputi :

1) Pewarnaan

Pewarnaan dibuat untuk mengetahui sifat Gram serta morfologi suatu mikroorganisme. Jika didapatkan bentuk batang Gram-positif, maka harus ditentukan ada tidaknya endospora harus diperhatikan pula letaknya. Jarang sekali ditemukan batang Gram-negatif yang membentuk spora. Jika organisme yang ditemukan bersifat batang langsing, Gram-positif, tidak berspora, maka selalu harus dibuat pewarnaan Zeihl-Neelsen.

2) Pemiakan

Suspensi mikroba digoreskan pada agar lempengan, agar miring, atau media cair. Sifat biakan suatu mikroorganisme tergantung pada penampilannya di berbagai media.

3) Uji Biokimia

Setelah diperoleh koloni yang terpisah, dapat dilakukan berbagai uji biokimiawi. Uji biokimiawi didasarkan pada berbagai hasil metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim. Berbagai uji untuk mengetahui aktifitas metabolisme mikroorganisme yang dapat digunakan untuk pencirian dan identifikasi

mikroorganisme antara lain : a) Uji Oksidase, b) Uji Katalase, c) Uji Hugh-Leifson (O/F), c) Uji Sulfida (H_2S), d) Uji Methyl Red (MR test), e) Uji Citrate, f) Uji Penggunaan Gula, g) Uji Dekarboksilase, h) Uji Hidrolisa Pati, i) Uji Chitinase, j) Uji Phosphatase, k) Uji Urease, l) Uji Lipase, m) Uji Sensitifitas 0/129 disk, n) Uji Swarming, dan o) Uji Sensitifitas Antibiotik (Lay, 1994).

Jarang sekali dapat ditentukan suatu genus berdasarkan sifat morfologi atau biakan saja. Ini berarti bahwa penentuan suatu spesies memerlukan kumpulan berbagai sifat biokimia dari suatu mikroorganisme.

2.9. Karakteristik Monsun Timur

Pola angin yang sangat berperan di Indonesia adalah angin musim (*monsoon*). Menurut Prawirowardoyo (1996) angin monsun adalah angin atau sistem sirkulasi udara yang berbalik arah secara musiman yang disebabkan oleh perbedaan sifat termal antara benua dan lautan. Lebih lanjut dijelaskan bahwa pada musim panas benua merupakan pusat tekanan rendah dan angin atau sirkulasi udara berlangsung dari lautan ke benua tersebut. Akan tetapi sebaliknya pada musim dingin suhu benua lebih kecil daripada suhu lautan di sekitarnya sehingga benua merupakan pusat tekanan tinggi dan sirkulasi udara berlangsung dari benua ke lautan.

Monsun di Indonesia adalah bagian dari monsun Asia Timur dan Asia Tenggara. di Indonesia dikenal dua musim monsun yang masing-masing meliputi bulan Desember-Januari-Februari dan Juni-Juli-Agustus. Penentuan kedua musim monsun tersebut didasarkan pada sifat angin monsun, yaitu kemantapan dan kecepatannya (Prawirowardoyo, 1996).

Menurut Nontji (1993) bulan-bulan Desember, Januari, dan Pebruari adalah musim dingin di belahan bumi utara dan musim panas di belahan bumi selatan, sehingga terdapat pusat tekanan tinggi di atas daratan asia dan pusat tekanan rendah di atas daratan Australia. Keadaan ini menyebabkan angin berhembus dari daratan Asia menuju Australia, yang di Indonesia dikenal sebagai Angin Musim Barat atau Monsun Barat. Hal sebaliknya terjadi pada bulan-bulan Juli hingga Agustus, yang dikenal dengan Musim Timur atau Monsun Timur.

Koesmaryono dan Handoko (1988), menyebut monsun barat dan monsun timur dengan istilah musim basah dan musim kering. Musim basah terjadi pada bulan Desember hingga Maret, dimana daerah Indonesia bagian timur dipengaruhi oleh angin pasat Timur Laut yang datang dari Samudra Pasifik yang kaya uap air. Sedangkan daerah Indonesia bagian barat dipengaruhi oleh masa udara yang berasal dari Antisiklon musim dingin dari benua Asia dan karena berinteraksi dengan Samudra Indonesia udara kaya uap air. Sementara, musim kering terjadi pada bulan Juni hingga September, dimana akan bertiup angin Tenggara dan bersifat kering. Oleh karena itu daerah yang dilewati oleh angin ini umumnya memiliki curah hujan yang rendah. Perbedaan monsun barat dan timur menurut Lakitan (1997) adalah arah angin yakni monsun barat yang berasal dari arah laut yang selanjutnya disebut musim penghujan dan musim kemarau jika angin bertiup dari daratan.

Monsun barat dan monsum timur yang bertiup di wilayah Indonesia berpengaruh terhadap besar kecilnya curah hujan pada daerah yang dilewatinya. Curah hujan tinggi apabila bertepatan dengan kondisi monsum barat, demikian pula sebaliknya. Pada monsum timur, sebagian besar wilayah Indonesia mengalami musim kemarau. Curah hujan yang rendah pada musim kemarau berpengaruh terhadap volume limbah khususnya

limbah domestik yang masuk ke dalam suatu perairan. Sementara itu, koprostanol merupakan bagian dari limbah domestik yang berasal dari feses manusia atau hewan mamalia lainnya. Besar kecilnya koprostanol yang masuk ke dalam perairan tergantung dari banyaknya curah hujan yang turun pada wilayah tersebut.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Faktorial Rancangan Acak Kelompok. Faktor-faktor yang diuji tersebut digolongkan menjadi 3 (tiga) kelompok antara lain lokasi (Jakarta, Semarang, Jepara); lingkungan (sungai, muara, perairan pantai); dan habitat (air, sedimen). Selanjutnya dari masing-masing kelompok tersebut dicari interaksinya dengan metode statistik ANOVA untuk mengetahui apakah kelompok tersebut saling berinteraksi atau tidak.

3.2. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian meliputi uji laboratorium tentang penentuan jumlah bakteri pendegradasi koprostanol pada sampel air dan sedimen dari lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai pada 3 (tiga) lokasi penelitian, dan pengukuran parameter kondisi lingkungan perairan.

Data hasil uji laboratorium tersebut merupakan data bakteri pendegradasi koprostanol di perairan dan kemudian dikaitkan dengan parameter kondisi lingkungan yang akan dianalisis lebih lanjut.

3.3. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di 3 (tiga) tempat yang berbeda tingkat pencemarannya yaitu perairan Jakarta, Semarang dan Jepara. Penentuan lokasi sampel dilakukan secara acak dengan bantuan alat (Garmin GPS 12/12XL/12CX/48/II PLUS). Di Jakarta, sampel

air dan sedimen diambil di Sungai Ciliwung (dekat Masjid Istiqlal), Pantai Marina Ancol dan Perairan Teluk Jakarta (Gambar 3). Di Semarang, sampel air dan sedimen diambil di Sungai Banjir Kanal Timur yaitu di Jembatan Barito Jalan Majapahit Semarang, Muara Sungai Banjir Kanal Timur dan Perairan Pantai Semarang (Gambar 4). Sedangkan di Jepara, sampel air dan sedimen diambil di Sungai Demaan, Muara Sungai Demaan dan Perairan Pantai Jepara (Gambar 5). Jumlah keseluruhan sampel air dan sedimen dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai dari ketiga tempat tersebut sebanyak 18 (delapan belas) buah.

3.4. Variabel Penelitian / Fenomena yang Diamati

Variabel penelitian yang diamati adalah menghitung semua koloni bakteri yang ditemukan, menentukan dan menghitung koloni bakteri pendegradasi koprostanol, mengukur pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol, dan menentukan jenis bakteri pendegradasi koprostanol dengan prosedur identifikasi Bergey's Manual.

3.5. Jenis dan Sumber Data

Jenis data yang digunakan untuk menganalisa data diperoleh dari hasil pengamatan di laboratorium dan hasil pengukuran parameter pencemaran lingkungan dari lapangan.

Data hasil pengamatan di laboratorium antara lain :

- Jumlah total koloni
- Jumlah bakteri pendegradasi koprostanol dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai.

- Data pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai.
- Data hasil identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai.

Data hasil pengukuran parameter pencemaran lingkungan dari lapangan antara lain :

- | | |
|-------------------------|-------------|
| ▪ Suhu | ▪ Kecerahan |
| ▪ Oksigen terlarut (DO) | ▪ Kekeruhan |
| ▪ Keasaman (pH) | ▪ Salinitas |

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat

Tabel 2. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel di lapangan :

No.	Nama Alat	Kegunaan
1.	Water Quality Checker	Untuk mengukur kualitas air
2.	Grab Sampler	Untuk mengambil sedimen di perairan
3.	Botol Sampel	Untuk menyimpan sampel air dan sedimen
4.	Garmin GPS	Untuk menentukan posisi stasiun sampling
5.	Water Sampler	Untuk mengambil sampel air
6.	Cool Box	Alat pendingin untuk menyimpan sampel
7.	Kantong Plastik	Alat pembungkus sampel
8.	Label	Untuk menandai sampel
9.	Alat tulis	Untuk kegiatan tulis menulis saat pengambilan sampel

Tabel 3. Alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi di laboratorium

No.	Nama Alat	Kegunaan
1.	Timbangan Analitik	Untuk menimbang bahan yang akan digunakan untuk membuat media.
2.	Gelas Ukur	Untuk mengukur volume media cair
3.	Tabung kultur	Untuk pembiakan bakteri pada media cair
4.	Cawan Petri	Untuk pembiakan bakteri pada media padat dan isolasi bakteri
5.	Jarum Ose	Untuk memindahkan koloni bakteri
6.	Tabung Erlenmeyer	Tabung untuk pengenceran
7.	Autoclave	Untuk mensterilkan alat dan bahan
8.	Hot plate	Untuk memanaskan media
9.	Magnetic Stirer	Untuk mengaduk media
10.	Lampu Bunsen	Untuk mensterilisasi / kerja secara aseptis
11.	Mikropipet	Untuk mengukur media cair pengenceran
12.	Spreader	Untuk meratakan biakan bakteri pada media agar.
13.	Parafilm	Perekat cawan Petri atau tabung reaksi agar tidak terkontaminasi
14.	Kapas	Sumbat penutup tabung reaksi
15.	Kertas Label	Untuk memberi nama sampel.
16.	Alat Tulis	Peralatan tulis menulis untuk semua kegiatan di laboratorium.
17.	Spektrofotometer	Untuk mengukur pertumbuhan bakteri
18.	Inkubator	Untuk menyimpan biakan bakteri
19.	Cell Counter	Untuk menghitung koloni bakteri yang tumbuh
20.	Shaker	Untuk menghomogenkan media
21.	Pipet Ukur	Untuk memindahkan media cair
22.	Kertas CP	Untuk membungkus cawan Petri

b. Bahan

Bahan yang digunakan :

- ☞ Sampel air dan sedimen dari perairan Semarang, Jepara dan Jakarta yang diambil di sungai, muara dan perairan pantai.
- ☞ Media biakan bakteri yaitu Nutrien Agar dan Zobell 2216 E.
- ☞ Media uji kualitatif koprostanol yaitu EMBA (Eosin Methylene Blue Agar).
- ☞ Koprostanol dengan konsentrasi 25 ppm

- ☞ Air laut steril.
- ☞ Akuades steril.

3.7. Teknik Pengambilan Sampel

a. Pengambilan sampel di lapangan

Pengambilan sampel di Semarang dilakukan pada tanggal 19 Juli 2003, Jakarta 28 Juli 2003 dan Jepara 5 Agustus 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. Penentuan titik sampling pada 3 (tiga) stasiun tersebut dengan menggunakan Garmin GPS 12/12XL/12CX/48/II PLUS dengan cara membaca derajat lintang dan bujunya. Posisi stasiun sampling dari 3 lokasi dapat dijelaskan dalam Tabel 4 berikut ini :

Tabel 4. Derajat Stasiun Sampling dari Tiga Lokasi (Jakarta, Semarang, dan Jepara)

Lokasi	Derajat Stasiun Sampling		
	Sungai	Muara	Pantai
Jakarta	6°10'19.9" LS 106°49'48.1" BT	6°7'10.4" LS 106°49'37.8" BT	6°5'59.7" LS 106°49'31.8" BT
Semarang	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
Jepara	6°35'932" LS 106°34'849" BT	6°35'836" LS 110°39'239" BT	6°35'778" LS 110°38'016" BT

Sampel yang diambil dari 6 (enam) stasiun dari masing-masing lokasi tersebut adalah air dan sedimen. Sampel air diambil dengan menggunakan *Water Sampler* dengan menggunakan rumus "0,2 x m (kedalaman perairan dalam satuan meter)". 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.

Untuk mengetahui kondisi perairan pada 3 (tiga) stasiun yaitu sungai, muara dan perairan pantai, dilakukan pengukuran kualitas perairan dengan menggunakan *Water Quality Checker* TOA WQC-22A. Dengan alat ini dapat diketahui parameter suhu, oksigen terlarut (DO), keasaman (pH), kecerahan, kekeruhan dan salinitas.

b. Isolasi Bakteri di Laboratorium

Tahapan yang dilakukan adalah :

1. Pembuatan Media Biakan

Yeast ekstrak 0,5 gram; pepton 2,5 gram; agar 15 gram dilarutkan 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 dibiarkan sampai memadat pada suhu ruang.

2. Isolasi Bakteri

Terhadap sampel air dan sedimen yang telah diambil, dilakukan seri pengenceran dengan menggunakan akuades dan air laut steril sesuai dengan stasiunnya. Sampel air sungai menggunakan pengenceran dengan akuades, sedangkan sampel dari muara dan laut menggunakan air laut steril. 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 campuran 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} . Pemiakan 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.

3. Skrining Bakteri Pendegradasi Koprostanol dengan Media Indikator

Skrining dilakukan secara kualitatif serta kuantitatif dimana isolat bakteri yang telah didapatkan, diuji kemampuan degradasinya dengan menggunakan 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. Pemakaian koprostanol dengan konsentrasi 25 ppm ini didasarkan pada konsentrasi koprostanol tertinggi di alam yaitu 20,699 ppm

(Bachtiar, 2002), sehingga untuk uji degradasi koprostanol digunakan konsentrasi yang lebih tinggi.

Kadar koprostanol 25 ppm diperoleh dengan cara berikut yaitu 2 ml koprostanol diambil dari stok 5000 ppm selanjutnya diencerkan menjadi 1000 ppm hingga didapatkan 10 ml larutan koprostanol yang ditambahkan pada media untuk mendapatkan konsentrasi 25 ppm pada volume 400 ml dan 3 ml koprostanol dari stok 5000 ppm selanjutnya diencerkan menjadi 1000 ppm hingga didapatkan 15 ml larutan koprostanol yang ditambahkan pada media untuk mendapatkan konsentrasi 25 ppm volume 600 ml.

Terhadap bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol, kemudian diambil 5 (lima) isolat dari masing-masing stasiun pada kolom air dan sedimen di lingkungan dengan variasi tingkat pencemar. Dari 90 (sembilan puluh) isolat tersebut selanjutnya dilakukan uji kuantitatif dengan cara mengukur pertumbuhan bakteri dengan menggunakan Spektrofotometer Spectronic 20 (produk Bausch and Lomb Optical Company) dengan panjang gelombang 600 nm.

4. 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 µl biakan bakteri hasil inkubasi selama 2 x 24 jam dan dishaker dengan kecepatan 300 rpm.

Setelah 2 x 24 jam, pertumbuhan bakteri yang dinyatakan sebagai turbiditas (%T) diukur dengan menggunakan Spektrofotometer Spectronic 20 (produk Bausch and Lomb Optical Company) dengan panjang gelombang 600 nm mulai hari ke 0, 1, 3, 5, dan 7. Data pengukuran (%T) kemudian dikonversi menjadi nilai absorbansi atau rapat optis (*Optical Density* atau OD) dengan rumus “ $OD = 2 - \log\%T$ ”. Hasil dari konversi ini nantinya dianalisa dengan menggunakan metode statistik yaitu ANOVA.

5. Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol

Identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol dilakukan terhadap hasil permurnian bakteri yang tersedia dalam media agar miring. Identifikasi ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) di Jepara.

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 koporstanol tersebut merupakan bakteri yang umum di alam atau bakteri spesifik. Bergey's Manual mendasarkan pada morfologi, sifat faali dan sifat biokimiawi bakteri.

Karakterisasi

Uji biokimia dilakukan terdapat 18 isolat bakteri terseleksi yaitu yang mampu mendegradasi koprostanol dan mempunyai pertumbuhan terbaik. Tahap karakterisasi ini meliputi pengujian baik sifat morfologi maupun sifat fisiologi.

a) Uji Morfologi Sel

Dilakukan dengan pengecatan Gram. Gelas benda diberi sedikit akuades steril kemudian diberi satu ose biakan secara aseptik. Suspensi yang terjadi diratakan sehingga terbentuk lapisan tipis dan dikeringanginkan. Setelah kering difiksasi di atas nyala bunsen spiritus, dibiarkan sampai dingin. Setelah dingin ditetesi larutan Gram A sebanyak 1-3 tetes, dibiarkan selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir, dibiarkan sampai kering. Setelah kering ditetesi dengan larutan Mordan (Gram B) dan dibiarkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir, dibiarkan sampai kering. Setelah kering kemudian ditetesi Gram C, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian ditetesi Gram D, dibiarkan selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali. Bakteri Gram positif tampak berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif tampak berwarna merah (Cowan, 1992).

b) Uji Produksi Katalase

Kultur bakteri yang berumur 24 jam disiapkan, kemudian ditetesi beberapa tetes larutan H_2O_2 30% di atas gelas benda yang bersih. Biakan bakteri diambil sedikit dari kultur murni dan diletakkan dalam tetesan H_2O_2 (Hadoetomo, 1985). Tes positif apabila pada tetesan hidrogen peroksida timbul gelembung gas (menunjukkan pelepasan oksigen).

c) Uji Oksidatif / Fermentatif

Biakan berumur 24 jam diinokulasikan ke dalam 2 tabung medium Hugh & Leifon's secara tusukan. Satu tabung dituangi dengan paraffin cair, sedangkan yang lain dibiarkan. Kedua tabung diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Jika terjadi perubahan warna medium pada tabung yang tidak dituangi paraffin dari hijau menjadi kuning dan pada tabung yang dituangi paraffin cair medium tetap hijau berarti biakan bersifat oksidatif. Apabila pada kedua tabung terjadi perubahan warna medium menjadi kuning, berarti biakan bersifat fermentatif (Cowan, 1992).

d) Uji TCBS

Merupakan media selektif untuk *Vibrio*. Biakan diinokulasikan ke dalam medium TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose) dengan cara goresan kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang dan diamati adanya pertumbuhan bakteri.

e) Uji Motilitas

Biakan isolat diinokulasikan pada media gelatin dengan cara tusukan. Kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang. Diamati pertumbuhan dan adanya motilitas bakteri (Cowan, 1992).

f) Uji Pertumbuhan Anaerob

Biakan diinokulasikan ke dalam medium NA (Nutrien Agar) miring, kemudian dimasukkan ke dalam anaerobik jar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dan diamati adanya pertumbuhan bakteri.

g) Uji Indol

Biakan diinokulasikan dengan cara tusukan pada SIM (Sulfide-Indol-Motility) atau celupan menggunakan ose dalam *broth*. Kemudian diinkubasikan selama 1-2 hari selanjutnya tambahkan reagen Kovacs \pm 0,4 ml. Perubahan yang terjadi diamati setelah 20 menit. Reaksi positif (+) jika terbentuk warna merah muda sampai tua pada lapisan reagen.

h) Uji Sulfida (H_2S)

Biakan bakteri diinokulasikan dengan cara tusukan pada medium tegak, dan goresan pada medium miring kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu ruang dan diamati reaksi yang terjadi, positif jika terjadi warna kehitaman sepanjang goresan pada medium.

i) Uji Produksi Asam dari Glukosa

Biakan bakteri diinokulasikan ke dalam medium glukosa cair dengan indikator merah fenol diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Bila warna medium berubah menjadi kuning berarti biakan membentuk asam dari fermentasi glukosa.

j) Pewarnaan Spora

Biakan bakteri yang telah berumur 27 jam disiapkan sebagai preparat ulas, ditutup dengan sepotong kertas saring. Selanjutnya ditambahkan larutan hijau malakit. Preparat dipanaskan di atas pemanas tidak sampai mengering selama

5 menit sehingga terlihat uap. Setelah dingin, kertas saring dibuang, dan dicuci dengan air. Selanjutnya diwarnai dengan safranin selama 1 menit tanpa dipanaskan, setelah itu dicuci dengan air. Selanjutnya preparat dikeringkan dengan kertas saring, dan diamati.

k) Uji Dekarboksilase

Biakan bakteri diinokulasikan pada 3 tabung yang mengandung L-Arginine, L-Lysine, dan L-Ornitine. Tambahkan paraffin sebanyak 0,5 ml ke dalam tabung biakan dan inkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Dari tiap-tiap perlakuan harap diberi kontrol. Apabila medium berubah warna dari kuning menjadi ungu berarti uji positif (+), dan jika medium tetap berwarna kuning berarti uji negatif (-).

l) Uji Nitrit

Biakan bakteri diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose ke dalam medium nitrat broth (kaldu nitrat) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Kemudian tambahkan reagent yaitu 5 tetes (0,8% asam sulfanilat dalam 5 N asam asetat) dan 5 tetes (0,6% α -naftilamin dalam 5 N asam asetat). Reaksi positif (+) jika terbentuk warna merah setelah 1-2 menit penambahan reagent, sebaliknya jika tidak terjadi perubahan warna, dengan menggunakan tusuk gigi tambahkan sedikit debu seng ke dalam tabung biakan, bila terbentuk warna merah berarti reaksi negatif (-), sedangkan bila tidak terjadi perubahan warna artinya reaksi positif (+).

m) Uji Sitrat

Biakan bakteri diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose dengan cara goresan ke dalam medium agar Sitrat Simmons dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Reaksi positif (+) jika terbentuk warna biru prusi, dan reaksi negatif (-) jika terbentuk warna kuning.

3.8. Teknik Analisa Data

Analisa data dilakukan untuk menguji hipotesa yang diajukan. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan Sidik Ragam (ANOVA) dan uji lanjutan. Uji lanjutan yang digunakan adalah Uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%) dan uji antar perlakuan, yang meliputi :

1. Uji degradasi koprostanol pada lokasi Semarang, Jakarta dan Jepara
2. Uji degradasi koprostanol pada sungai, muara dan perairan pantai.
3. Uji degradasi koprostanol pada kolom air dan sedimen

Analisa data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Seri Program Statistik (SPS) (Hadi, 2000).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Rona Lingkungan Daerah Penelitian

a. Lokasi Penelitian Semarang

Kota Semarang dipandang mewakili daerah dengan tingkat pencemaran sedang memiliki letak geografis sebelah utara pada letak lintang $6^{\circ}50'LS$ dengan batas wilayah laut Jawa, sebelah selatan pada letak lintang $7^{\circ}10'LS$ dengan batas wilayah Kabupaten Semarang, sebelah barat pada letak lintang $109^{\circ}35'BT$ dengan batas wilayah Kabupaten Kendal dan sebelah timur pada letak lintang $110^{\circ}50'BT$ dengan batas wilayah Kabupaten Demak.

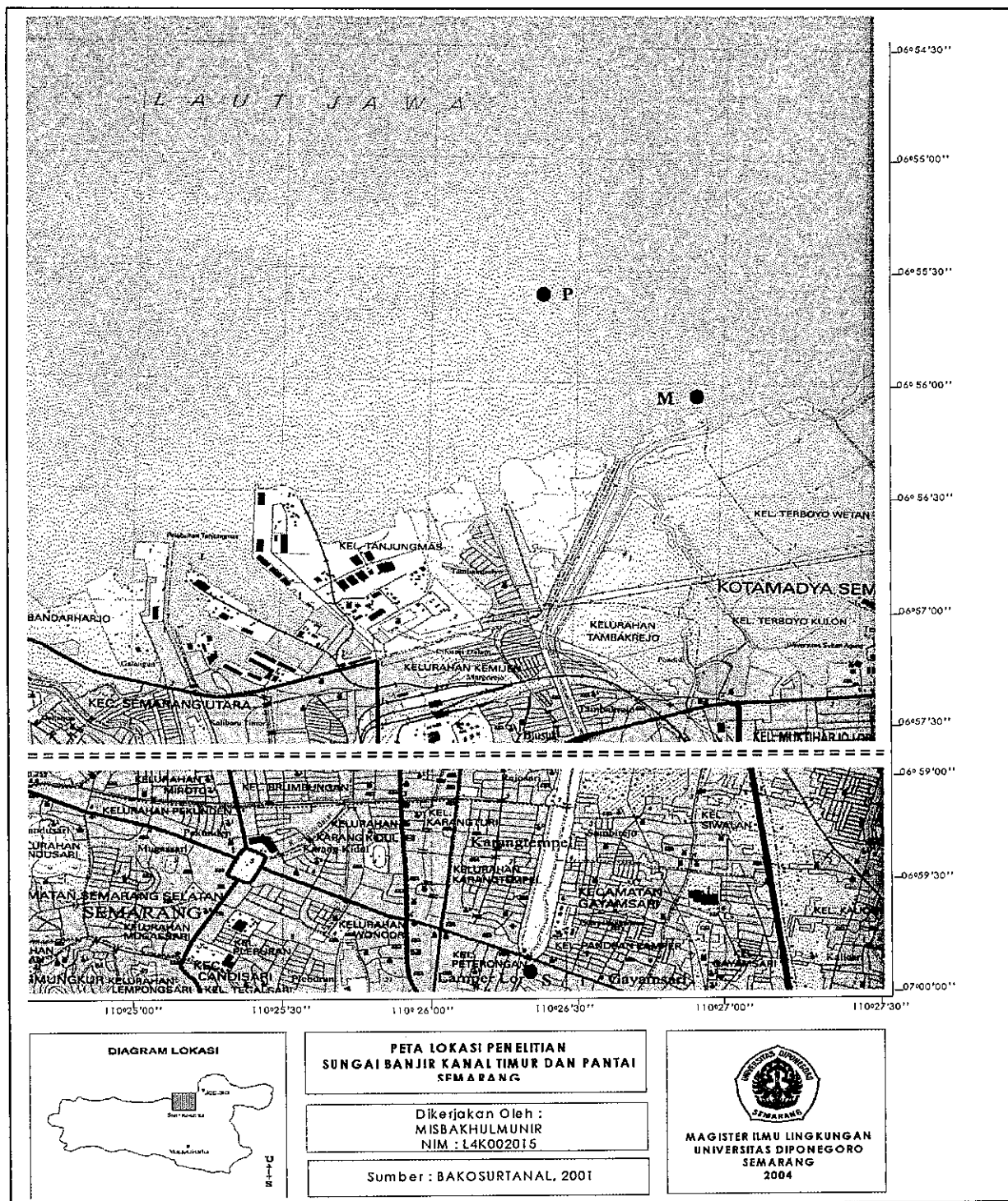
Luas wilayah Kota Semarang tercatat $373,70 \text{ km}^2$ yang terdiri dari 16 wilayah kecamatan dan 177 kelurahan. Luas yang ada terdiri dari $40,03 \text{ km}^2$ (10,71%) tanah sawah dan $333,67 \text{ km}^2$ (89,29%) bukan lahan sawah. Menurut penggunaannya luas tanah sawah terbesar merupakan tanah sawah tadah hujan (51,26%) dan hanya sekitar 14% saja yang dapat ditanami dua kali. Lahan kering sebagian besar digunakan untuk tanah pekarangan / bangunan yaitu sebesar 44,38% dari total lahan bukan sawah (Sumber : Semarang Dalam Angka tahun 1997-2001).

Menurut Badan Metrologi dan Geofisika Balai Wilayah II Stasiun Klimatologi Semarang, suhu udara rata-rata di Jawa Tengah pada tahun 1999 berkisar antara $26^{\circ}C$ sampai dengan $27,9^{\circ}C$. Kelembaban udara rata-

rata bervariasi dari 69% sampai dengan 84%. Letak Kota Semarang hampir berada di tengah bentangan panjang kepulauan Indonesia dari arah barat ke timur. Akibat posisi letak geografi tersebut Kota Semarang termasuk beriklim tropis dengan dua musim, yaitu musim hujan bersamaan dengan monsun barat dan musim kemarau bersamaan dengan monsun timur yang silih berganti sepanjang tahun. Rata-rata curah hujan di kota Semarang mulai tahun 1997 sampai dengan 2001 masing-masing adalah 153,60 mm/th; 198,80 mm/th; 164,60 mm/th; 186,37 mm/th dan 215,30 mm/th.

Sungai Banjir Kanal Timur yang menjadi tempat penelitian melintasi beberapa wilayah kecamatan yaitu : Kecamatan Gayamsari seluas 587,98 Ha dengan jumlah penduduk 71.827 jiwa, Kecamatan Semarang Timur seluas 911,20 Ha dengan jumlah penduduk 97.944 jiwa, dan Kecamatan Semarang Utara seluas 1.420,59 Ha dengan jumlah penduduk 155.674 jiwa.

Peta kota Semarang yang dilintasi sungai Banjir Kanal Timur dapat dilihat pada Gambar 3 berikut :



Keterangan :
 P = Stasiun Pantai, M = Stasiun Muara, S = Stasiun Sungai

Gambar 3. Lokasi dan titik sampling di Semarang

b. Lokasi Penelitian Jakarta

Kota Jakarta mewakili daerah dengan tingkat pencemaran tinggi memiliki letak geografis sebelah utara pada letak lintang $6^{\circ}3'$ LS dengan batas wilayah laut Jawa, sebelah selatan pada letak lintang $6^{\circ}20'$ LS dengan batas wilayah Kota Bogor, sebelah barat pada letak lintang $106^{\circ}48'$ BT dengan batas wilayah Propinsi Banten dan sebelah timur pada letak lintang $107^{\circ}10'$ BT dengan batas wilayah Kota Bekasi.

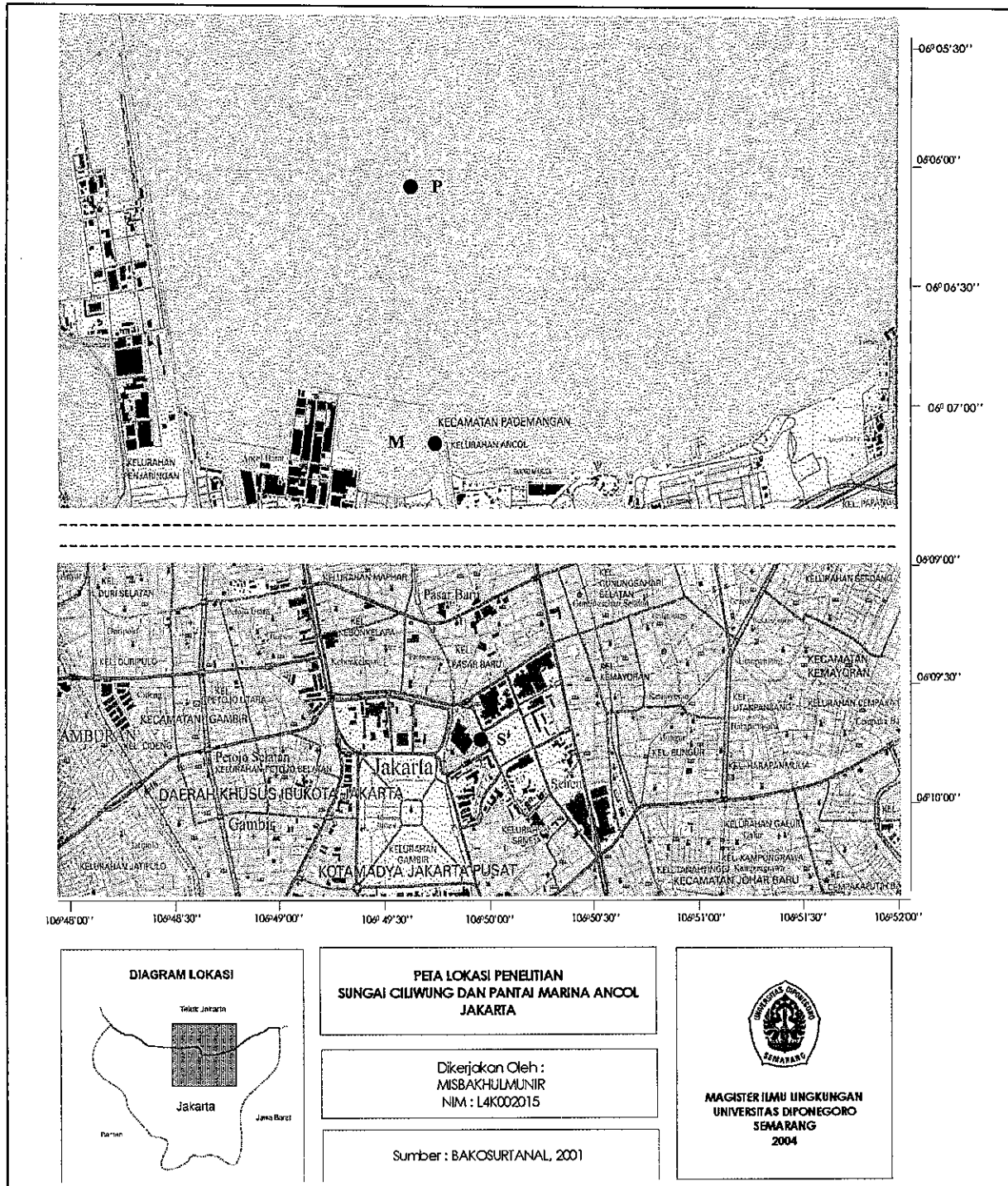
Luas wilayah kota Jakarta tercatat $661,52 \text{ km}^2$ yang terdiri dari 5 wilayah kota yaitu Jakarta Selatan, Jakarta Timur, Jakarta Pusat, Jakarta Barat dan Jakarta Utara.

Keadaan iklim DKI Jakarta memiliki rata-rata curah hujan $1896,8 \text{ mm/tahun}$. Rata-rata tekanan udara $1.009,5 \text{ MBS}$ dan kelembaban udara $78,1\%$. Arah angin $212,1 \text{ points}$. Kecepatan angin $3,5 \text{ m/detik}$. Temperatur $27,1^{\circ}\text{C}$. Suhu udara rata-rata maksimum $33,9^{\circ}\text{C}$ dan suhu udara rata-rata minimum $22,2^{\circ}\text{C}$.

Luas tanah dan penggunaannya $41.331,32 \text{ Ha}$ untuk perumahan, $4.988,53 \text{ Ha}$ untuk industri, $6.812,75 \text{ Ha}$ untuk perkantoran dan pergudangan, $1.314,23 \text{ Ha}$ untuk taman dan kegunaan lainnya seluas $11.705,17 \text{ Ha}$. (Sumber : BPS Propinsi DKI Jakarta tahun 1999-2001). Anak sungai Ciliwung yang menjadi lokasi penelitian melintasi beberapa wilayah kota yaitu Kota Jakarta Pusat seluas $4.891,91 \text{ Ha}$ dengan jumlah

penduduk 948.200 jiwa dan Kota Jakarta Utara seluas 15.140,99 Ha dengan jumlah penduduk 1.697.000 jiwa.

Peta kota Jakarta yang dilintasi sungai Ciliwung dapat dilihat pada Gambar 4 berikut :



Keterangan :
P = Stasiun Pantai, M = Stasiun Muara, S = Stasiun Sungai

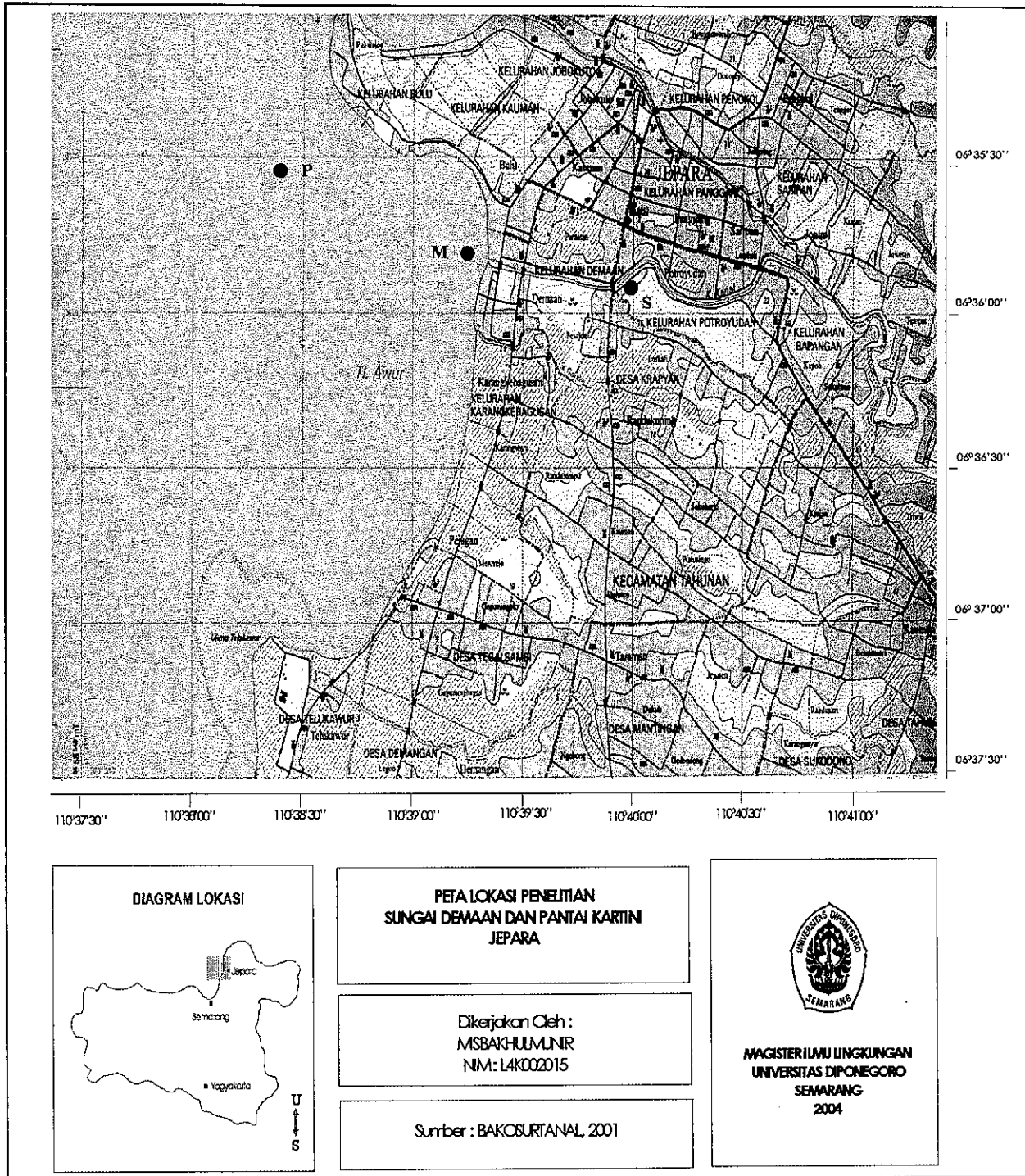
Gambar 4. Lokasi dan titik sampling di Jakarta

c. Lokasi Penelitian Jepara

Kota Jepara mewakili daerah dengan tingkat pencemaran rendah memiliki letak geografis sebelah utara pada letak lintang $5^{\circ}43'30''$ LS dengan batas wilayah laut Jawa, sebelah selatan pada letak lintang $6^{\circ}47'44''$ LS dengan batas wilayah Kabupaten Demak, sebelah barat pada letak lintang $112^{\circ}23'20''$ BT dengan batas wilayah laut Jawa dan sebelah timur pada letak lintang $113^{\circ}09'35''$ BT dengan batas wilayah Kabupaten Kudus dan Pati (Sumber : Jepara dalam Angka tahun 1997-2001).

Luas wilayah kota Jepara tercatat $1.004,132 \text{ km}^2$ yang terdiri dari 14 wilayah kecamatan. Luas yang ada terdiri dari tanah sawah $26.415,392 \text{ Ha}$ terdiri dari sawah pengairan teknis, setengah teknis, tadah hujan, pasang surut dan lain sebagainya dan $73.997,797 \text{ Ha}$ berupa tanah kering meliputi tanah untuk bangunan, tegalan, padang rumput, rawa, tambak, hutan negara, perkebunan dan lain sebagainya. Sungai Demaan yang menjadi tempat penelitian melintasi wilayah kecamatan Jepara yang terdiri dari beberapa wilayah kelurahan yaitu Kelurahan Jepara seluas $2.466,70 \text{ Ha}$ dengan jumlah penduduk 28.314 jiwa, Kelurahan Jobokuto seluas $43,93 \text{ Ha}$ dengan jumlah penduduk 4.691 jiwa, dan Kelurahan Ujung Batu seluas $68,92 \text{ Ha}$ dengan jumlah penduduk 3.108 jiwa (Sumber : Jepara Dalam Angka tahun 1997-2001).

Peta kota Jepara yang dilintasi sungai Demaan dapat dilihat pada Gambar 5 berikut :



Keterangan :
 P = Stasiun Pantai, M = Stasiun Muara, S = Stasiun Sungai

Gambar 5. Lokasi dan titik sampling di Jepara

4.2. Kondisi Fisika dan Kimia Perairan

Hasil rerata pengukuran kualitas lingkungan sungai, muara dan perairan pantai yang meliputi parameter fisika dan kimia pada setiap stasiun penelitian disajikan pada Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Parameter Fisik Kualitas Air di Jakarta, Semarang dan Jepara

Lokasi	Stasiun	Posisi	Kedalaman (m)	Waktu (WIB)	DO (mg/l)	Suhu (°C)	pH	Salinitas (‰)	Kecerahan (m)
Jakarta	Sungai	6°10'19.9" LS 106°49'48.1" BT	0,90	9.35	1,87	28,60	7,25	0,00	0,12
	Muara	6°07'10.4" LS 106°49'37.8" BT	2,05	11.37	2,29	30,10	6,70	22,00	0,40
	Pantai	6°05'59.7" LS 106°49'31.8" BT	8,43	13.30	4,94	29,75	8,03	28,05	2,00
Semarang	Sungai	6,935 °LS 106,83 °BT	0,85	12.00	5,10	28,90	7,05	0,00	0,12
	Muara	6°56'5.4" LS 110°26'4" BT	0,88	18.40	4,39	27,93	7,96	21,90	0,25
	Pantai	6°55'20.8" LS 110°26'18.3" BT	5,13	17.19	5,53	28,20	8,37	28,00	2,65
Jepara	Sungai	6,935 °LS 106,83 °BT	0,85	12.00	6,88	29,00	6,49	0,00	0,12
	Muara	6°56'5.4" LS 110°26'4" BT	0,85	18.40	0,49	25,06	7,33	22,40	0,25
	Pantai	6°55'20.8" LS 110°26'18.3" BT	5,13	17.19	4,95	27,00	7,79	28,00	2,65

Sumber : Data Primer Hasil Pengukuran Lapangan, 2003

Kriteria yang digunakan untuk menetapkan suatu daerah tercemar tinggi, sedang, dan rendah adalah tingkat kepadatan penduduk dan variasi aktifitas manusia di daerah penelitian.

Jakarta merupakan daerah yang berpenduduk padat dan tempat berbagai macam aktifitas manusia, sementara Semarang dan Jepara adalah daerah yang berpenduduk relatif lebih sedikit dan jenis aktifitas manusianya juga lebih sedikit dibandingkan dengan Jakarta.

UPT-PUSTAK-UNDIP

4.3. Total Koloni Bakteri dari Tiga Lokasi (Jakarta, Semarang dan Jepara)

Hasil penanaman bakteri pada media Zobell 2216E dari sedimen dan air pada lingkungan sungai, muara dan perairan pantai yang berasal dari Jakarta, Semarang dan Jepara dapat dilihat pada Tabel 6 berikut ini :

Tabel 6. Jumlah total koloni bakteri pada berbagai kondisi lingkungan dan habitat dari tiga lokasi penelitian (Jakarta, Semarang, dan Jepara)

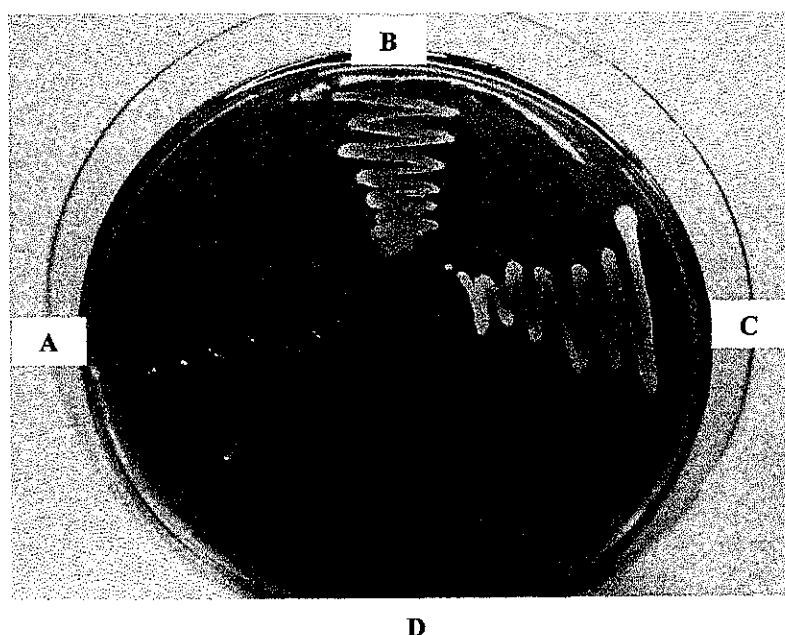
Lokasi	Habitat	Lingkungan			Total Koloni Habitat
		Sungai	Muara	Pantai	
Jakarta					
	Air	12,10 x 10 ⁸	8,17 x 10 ⁸	5,46 x 10 ⁸	25,73 x 10 ⁸
	Sedimen	12,40 x 10 ⁸	9,50 x 10 ⁸	112,00 x 10 ⁸	133,9 x 10 ⁸
	Jumlah	24,50 x 10 ⁸	17,67 x 10 ⁸	117,46 x 10 ⁸	159,63 x 10 ⁸
Semarang					
	Air	2,5 x 10 ⁸	11,1 x 10 ⁸	2,83 x 10 ⁸	16,43 x 10 ⁸
	Sedimen	4,9 x 10 ⁸	2,76 x 10 ⁸	1,65 x 10 ⁸	9,31 x 10 ⁸
	Jumlah	7,4 x 10 ⁸	13,86 x 10 ⁸	4,48 x 10 ⁸	25,74 x 10 ⁸
Jepara					
	Air	2,5 x 10 ⁸	10,4 x 10 ⁸	6,81 x 10 ⁸	19,71 x 10 ⁸
	Sedimen	0,97 x 10 ⁸	2,57 x 10 ⁸	11,1 x 10 ⁸	14,64 x 10 ⁸
	Jumlah	3,47 x 10 ⁸	12,97 x 10 ⁸	17,91 x 10 ⁸	34,35 x 10 ⁸
Total Lingkungan		35,37 x 10 ⁸	44,50 x 10 ⁸	139,85 x 10 ⁸	
Total Habitat					
	Air	61,87 x 10 ⁸			
	Sedimen	157,85 x 10 ⁸			

Sumber : Data Primer Hasil Pengukuran di Laboratorium, 2003

4.4. Uji Bakteri Pendegradasi Koprostanol pada Media EMBA

Berdasarkan sejumlah koloni yang tumbuh pada media padat Zobell 2216E, diambil beberapa koloni bakteri yang dianggap saling berbeda untuk diujikan pada media EMBA yang telah ditambahkan dengan koprostanol 25 ppm. Bakteri yang dianggap berbeda tersebut didasarkan atas perbedaan warna, sifat tembus cahaya, pinggiran, sifat permukaan dan bentuknya (Lay, 1994).

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, sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 6 di bawah ini



Gambar 6. Uji Bakteri Pendegradasi Koprostanol dengan media indikator EMBA (A. Mampu mendegradasi, B dan C tidak mampu mendegradasi, D. Tidak mampu tumbuh)

Hasil uji bakteri pendegradasi koprostanol dari lokasi Jakarta, Semarang dan Jepara disajikan dalam Tabel 7 berikut ini

Tabel 7. Hasil uji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi senyawa koprostanol dari lokasi Jakarta, Semarang, dan Jepara

Lokasi	Media	Stasiun	Jumlah Koloni dengan Kemampuan Mendegradasi			Total Unit Koloni
			+	-	0	
Jakarta	Air	Sungai	15	12	5	32
		Muara	23	1	8	32
		Pantai	10	0	6	16
	Sedimen	Sungai	11	2	11	24
		Muara	12	0	8	20
		Pantai	23	4	5	32
Semarang	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
Jepara	Air	Sungai	3	1	4	8
		Muara	15	0	1	16
		Pantai	24	2	2	28
	Sedimen	Sungai	9	0	15	24
		Muara	11	2	7	20
		Pantai	9	6	9	24
Jumlah			234	39	86	359

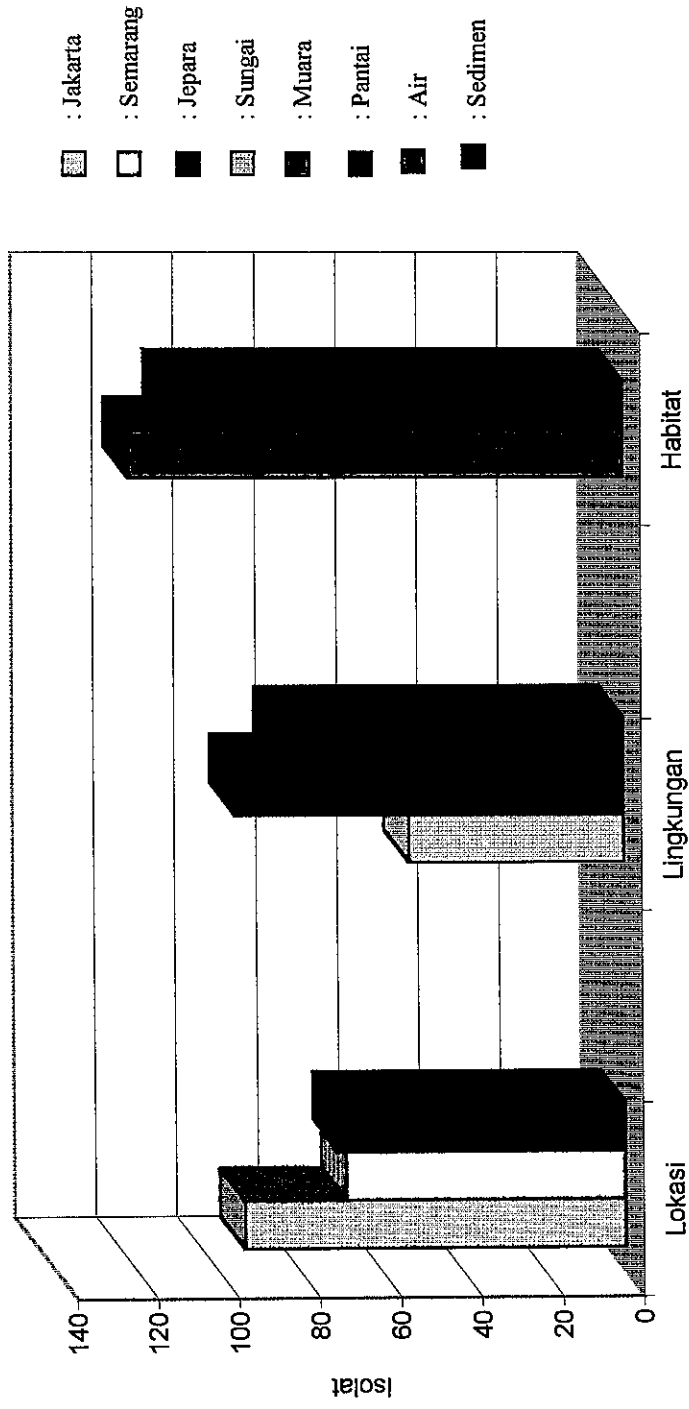
Sumber : Data Primer Hasil Pengukuran di Laboratorium, 2003

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

Tabel 8. Bakteri Pendegradasi Koprostanol dari tiga lokasi penelitian (Jakarta, Semarang, dan Jepara)

Lokasi		Sungai	Lingkungan Muara	Pantai	Total Koloni Habitat
Jakarta	Air	15	23	10	48
	Sedimen	11	12	23	46
	Jumlah	26	35	33	94
Semarang	Air	8	16	8	32
	Sedimen	7	19	11	37
	Jumlah	15	35	19	69
Jepara	Air	3	15	24	42
	Sedimen	9	11	9	29
	Jumlah	12	26	33	71
Total Lingkungan		53	96	85	234
Total Habitat					
	Air	122			
	Sedimen	112			

Dari Tabel 8 di atas, koloni bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol dari tiga lokasi penelitian, perbedaan lingkungan dan habitat, untuk lebih jelasnya dapat diterangkan dengan grafik pada Gambar 7 berikut ini :

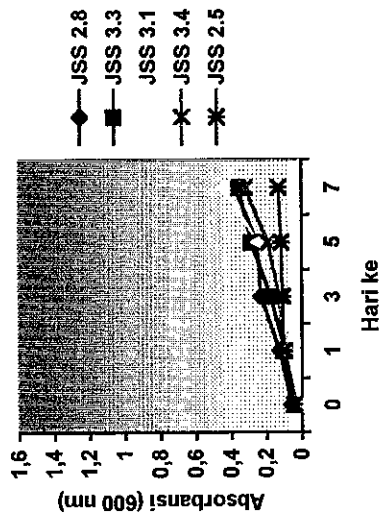


Gambar 7. Jumlah Bakteri Pendegradasi Koprostanol Berdasarkan Lokasi, Lingkungan, dan Habitat

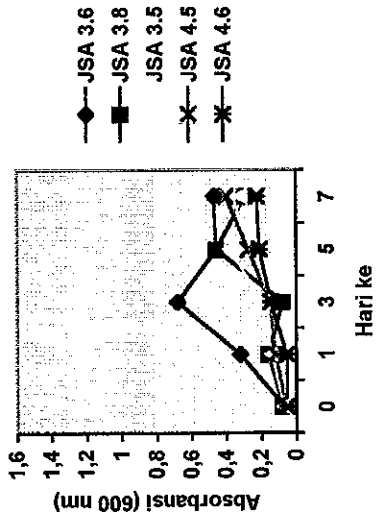
4.5. Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Koprostanol Pada Media Cair

Hasil pengamatan selama 7 hari terhadap pertumbuhan 90 isolat bakteri pendegradasi koprostanol, yang berasal dari hasil seleksi dari setiap lokasi berdasarkan intensitas perubahan warna yang terjadi pada bakteri yang diuji pada media EMBA, masing-masing lokasi diambil 5 isolat bakteri. Berdasarkan hasil pengamatan di laboratorium ternyata untuk lokasi Jepara pada air sungai hanya ditemukan 3 isolat bakteri saja, sehingga jumlah keseluruhan isolat bakteri yang diuji adalah 88 isolat. Uji pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol dilakukan dengan menggunakan media cair ditambah koprostanol 25 ppm, didapatkan hasil seperti tercantum pada Lampiran 1.

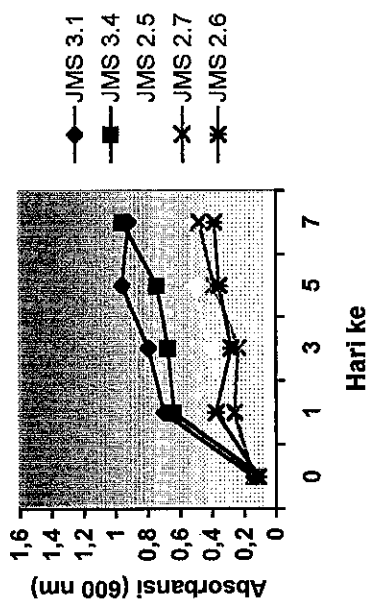
Dari data pertumbuhan bakteri pada Lampiran 1 kemudian dibuat grafik pertumbuhan sehingga diketahui satu isolat bakteri dengan pertumbuhan terbaik. Grafik pertumbuhan bakteri disajikan dalam Gambar 8, 9 dan 10 berikut ini



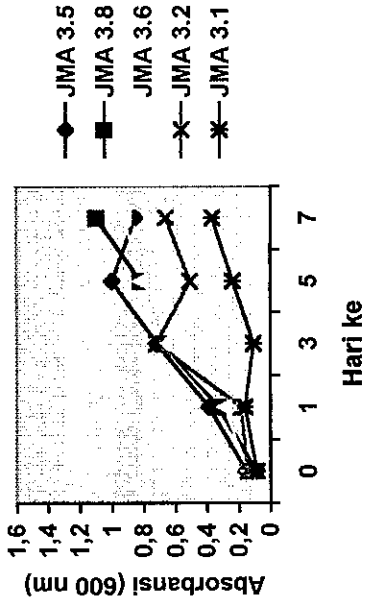
Sedimen Sungai



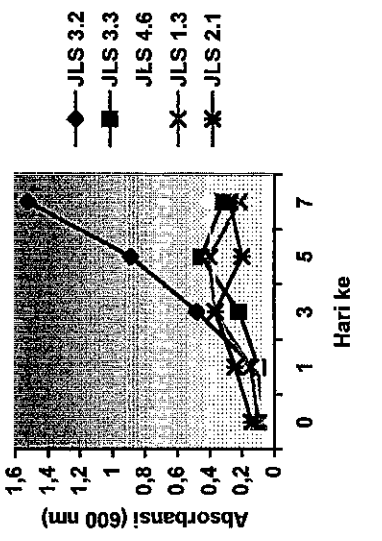
Air Sungai



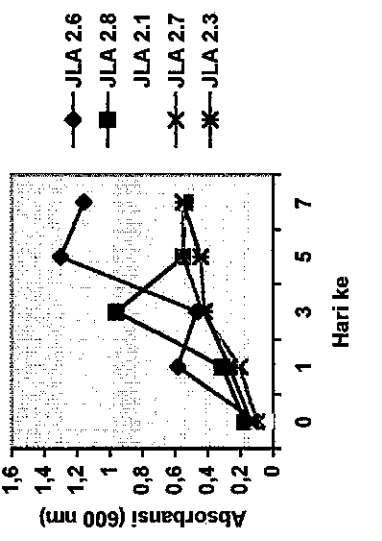
Sedimen Muara



Air Muara

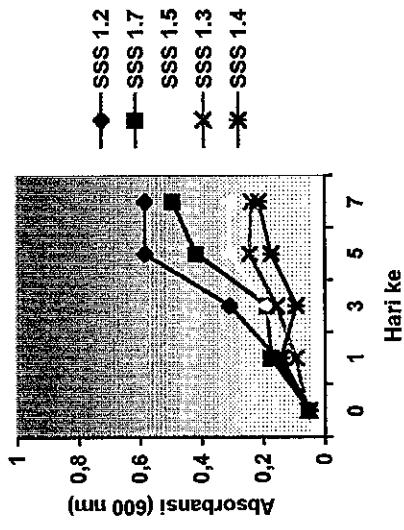
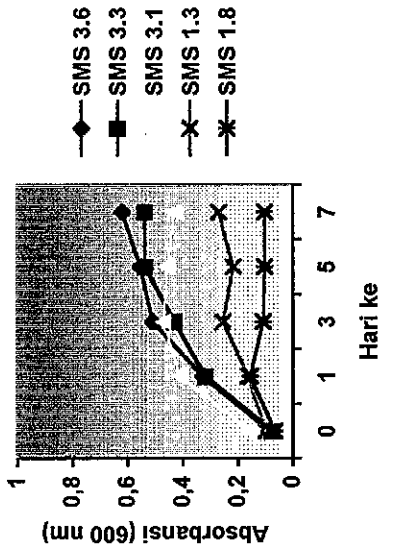
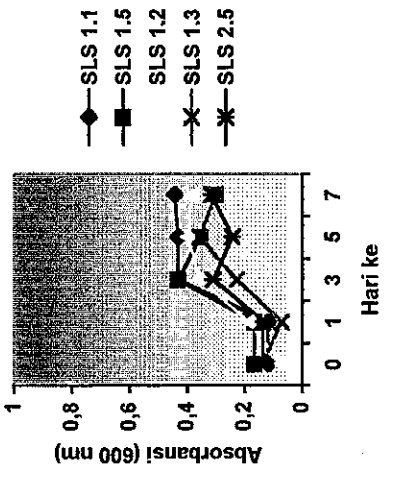


Sedimen Pantai

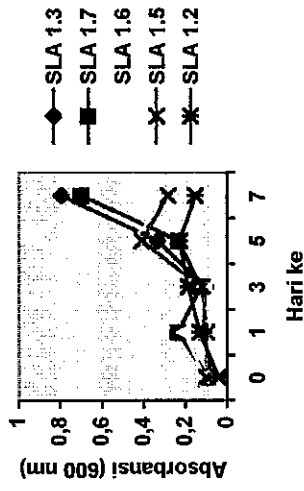


Air Pantai

Gambar 8. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Lokasi Jakarta

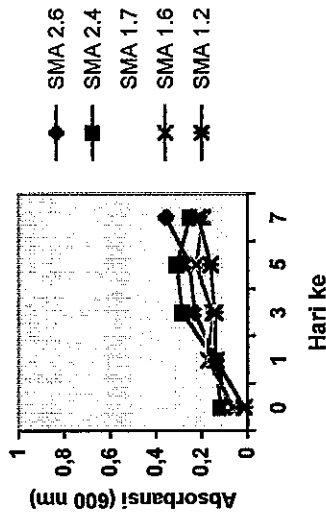


Sedimen Pantai



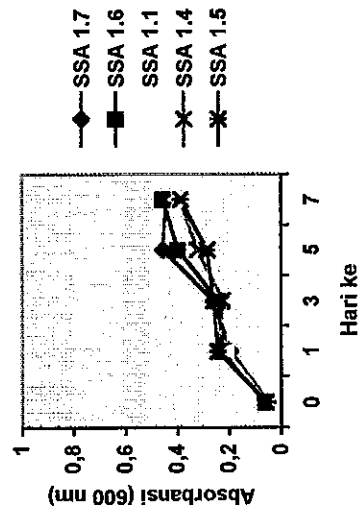
Air Pantai

Sedimen Muara



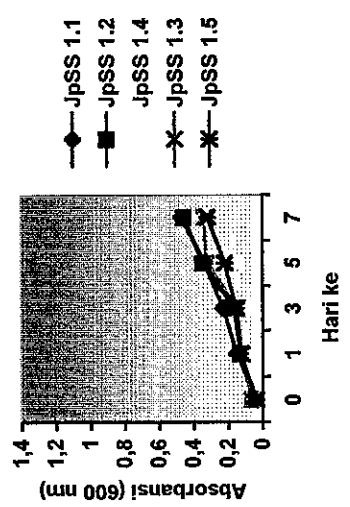
Air Muara

Sedimen Sungai

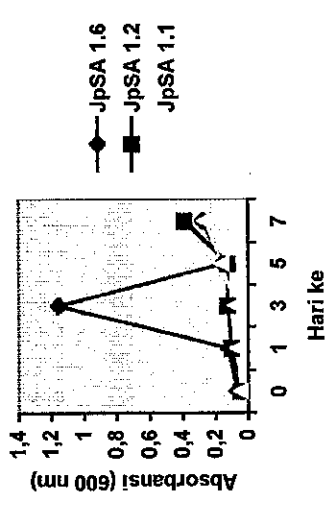


Air Sungai

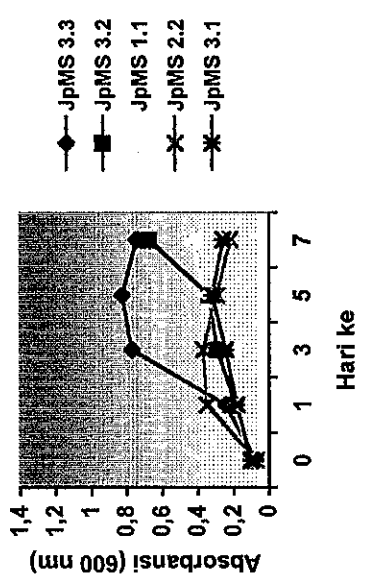
Gambar 9. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Lokasi Semarang



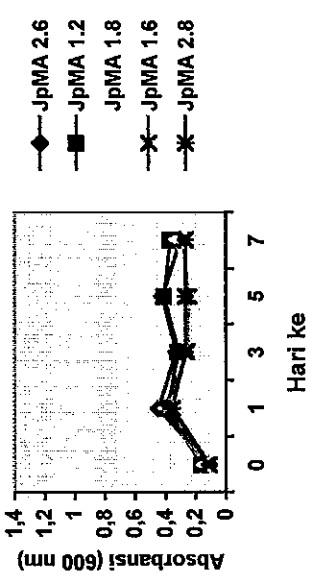
Sedimen Sungai



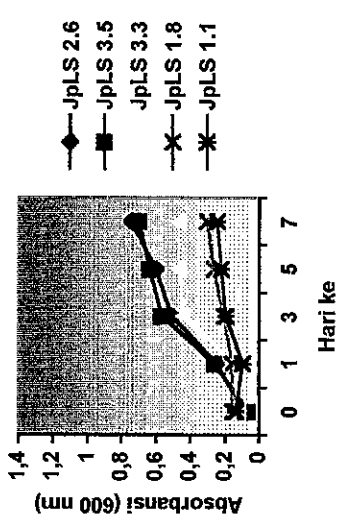
Air Sungai



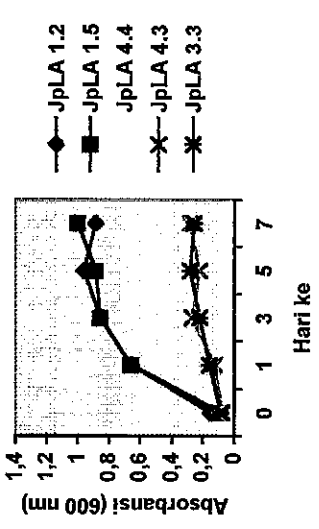
Sedimen Muara



Air Muara



Sedimen Pantai



Air Pantai

Gambar 10. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Lokasi Jepara

Berdasarkan hasil pengukuran pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol yang dilakukan terhadap 88 isolat diperoleh data bahwa pertumbuhan dari masing-masing isolat bakteri tersebut berbeda-beda. Dari pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol (Gambar 8, 9, 10) dapat dipilih 1 jenis bakteri yang mempunyai pertumbuhan terbaik (ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang tinggi) pada masing-masing lingkungan yang berbeda, dan disajikan dalam Tabel 9 dibawah ini.

Tabel 9. Isolat Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik

Lokasi	Media	Sungai	Muara	Pantai
Jakarta	Air	JSA 4.5	JMA 3.8	JLA 2.6
	Sedimen	JSS 3.1	JMS 3.4	JLS 3.2
Semarang	Air	SSA 1.6	SMA 2.6	SLA 1.3
	Sedimen	SSS 1.2	SMS 3.6	SLS 1.1
Jepara	Air	JpSA 1.6	JpMA 1.2	JpLA 1.5
	Sedimen	JpSS 1.1	JpMS 3.3	JpLS 2.6

Bakteri yang mempunyai daya pendegradasi koprostanol terbaik selanjutnya diidentifikasi, dari 88 isolat bakteri yang diuji maka hanya 18 isolat bakteri yang diidentifikasi.

Berdasarkan data pertumbuhan bakteri pada media cair yang ditambahkan koprostanol 25 ppm (Lampiran 1), selanjutnya dianalisa menggunakan ANOVA 3 Jalur dengan hasil sebagai berikut :

Pengaruh perbedaan lokasi terhadap pertumbuhan 88 isolat bakteri terbaik selama 7 hari didapatkan hasil seperti yang tercantum pada Tabel 10.

Tabel 10. Pengaruh perbedaan lokasi terhadap pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol sampai hari ke-7

Lokasi	Rerata Pertumbuhan
Jakarta	0,4611 ± 0,3115 a
Semarang	0,3070 ± 0,1796 b
Jepara	0,3334 ± 0,2163 b

Keterangan : Jika mengandung huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p \geq 0,05$), sedangkan jika mengandung huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata.
Rerata pertumbuhan diukur pada absorbansi dengan panjang gelombang 600 nm.

Pengaruh perbedaan lingkungan (sungai, muara, laut) terhadap pertumbuhan 88 isolat bakteri terbaik selama 7 hari didapatkan hasil seperti yang tercantum pada

Tabel 11

Tabel 11. Pengaruh perbedaan lingkungan terhadap pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol sampai hari ke-7

Lingkungan	Rerata Pertumbuhan
Sungai	0,3094 ± 0,1003 a
Muara	0,3873 ± 0,2638 a
Pantai	0,4032 ± 0,3207 a

Keterangan : Jika mengandung huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p \geq 0,05$), sedangkan jika mengandung huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata.
Rerata pertumbuhan diukur pada absorbansi dengan panjang gelombang 600 nm.

Pengaruh perbedaan habitat air dan sedimen terhadap pertumbuhan 88 isolat bakteri terbaik selama 7 hari didapatkan hasil seperti yang tercantum pada Tabel 12.

Tabel 12. Pengaruh perbedaan habitat terhadap pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol sampai hari ke-7

Habitat	Rerata Pertumbuhan
Air	0,3687 ± 0,2487 a
Sedimen	0,3672 ± 0,2530 a

Keterangan : Jika mengandung huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($p \geq 0,05$), sedangkan jika mengandung huruf yang berbeda menunjukkan ada perbedaan yang nyata
Rerata pertumbuhan diukur pada absorbansi dengan panjang gelombang 600 nm.

4.6. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri

Identifikasi bakteri pendegradasi koprostanol dilakukan terhadap 18 isolat bakteri yang mempunyai pertumbuhan terbaik. Identifikasi ini dilakukan di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau di Jepara, dengan 2 tahapan kegiatan yaitu uji biokimia dan pengamatan morfologi.

Uji biokimia untuk melakukan identifikasi bakteri terseleksi dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagaimana disajikan dalam Tabel 13 berikut ini

Tabel 13. Uji biokimia Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terseleksi

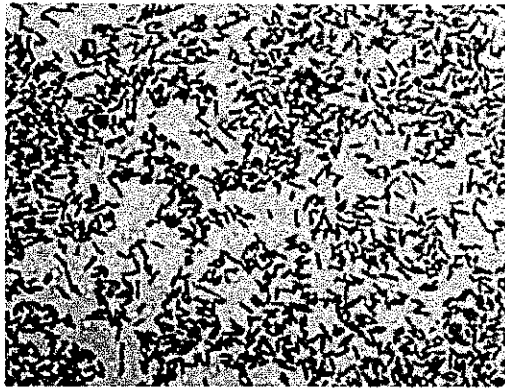
Uji Biokimia	Isolat																		
	JMS	JLA	JpMA	JMA	SUS	JES	JpLS	JSS	SSA	JpSS	JpSA	JSA	SMS	SLA	SMA	SSS	JpMS	JpLA	
Gram	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Bentuk	Cc	Cc	Cc	Cc	Cc	Bpj	Bpj	Bpj	Bpj	Bpj	Bpj	Bpj	Bpj	Bpd	Bpd	Bpd	Bpd	Bpd	Bpd
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*
Oksidase	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*	*	*	+	+	+	+	+	+
TCBS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motility	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	-	-
OF/Karbohidrat	O	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Glukosa	Fer	NC	NC	NC	NC	*	*	*	*	*	*	*	*	+	+	+	+	+	+
Aerogenik Spora	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Pigmen	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	-	-
ADC	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
NO ₃	+	+	+	+	+	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Sitrat	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
GENUS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	

Keterangan :

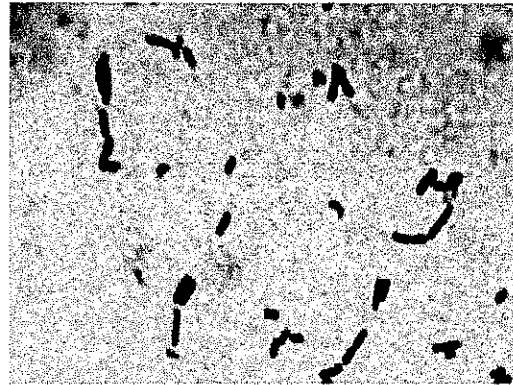
1. *Neisseria* sp.
2. *Branhamella* sp.
3. *Branhamella* sp.
4. *Branhamella* sp.
5. *Branhamella* sp.
6. *Bacillus* sp.
7. *Bacillus* sp.
8. *Bacillus* sp.
9. *Bacillus* sp.
10. *Bacillus* sp.
11. *Bacillus* sp.
12. *Bacillus* sp.
13. *Bacillus* sp.
14. *Achromobacter* sp.
15. *Achromobacter* sp.
16. *Achromomonas* sp.
17. *Pseudomonas* sp.
18. *Pseudomonas* 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
 + : positif
 * : uji tidak dilakukan

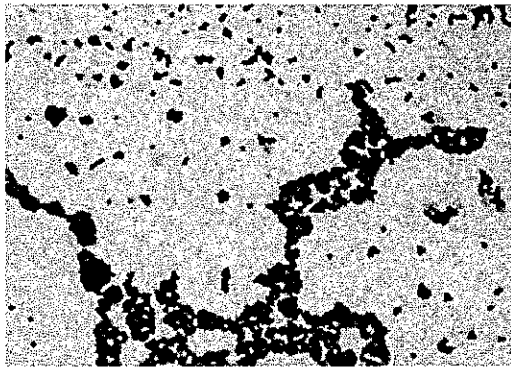
Hasil pewarnaan Gram terhadap beberapa isolat bakteri disajikan pada Gambar 11 di bawah ini :



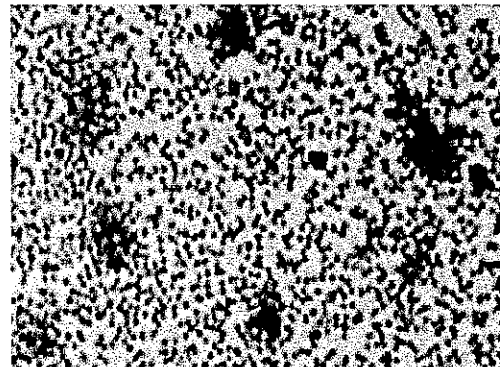
(A). *Achromobacter* sp.



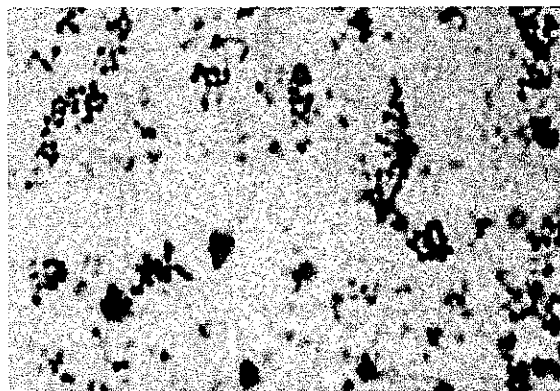
(B). *Bacillus* sp.



(C). *Pseudomonas* sp.



(D). *Neisseria* sp.



(E). *Branhamella* sp.

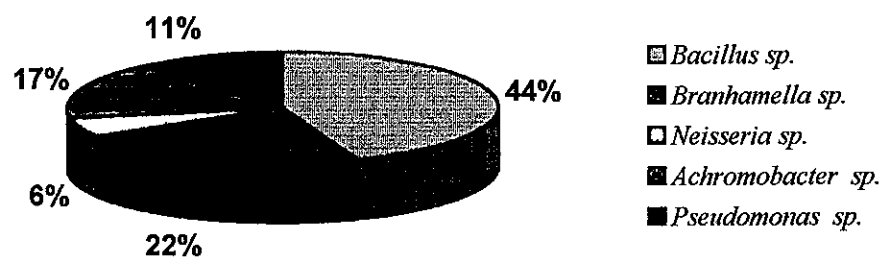
Gambar 11. Pewarnaan Gram terhadap Strain Bakteri Pendegradasi Koprostanol (Perbesaran 1000 kali)

Hasil identifikasi 18 isolat terbaik bakteri pendegradasi koprostanol disajikan dalam Tabel 14 berikut ini

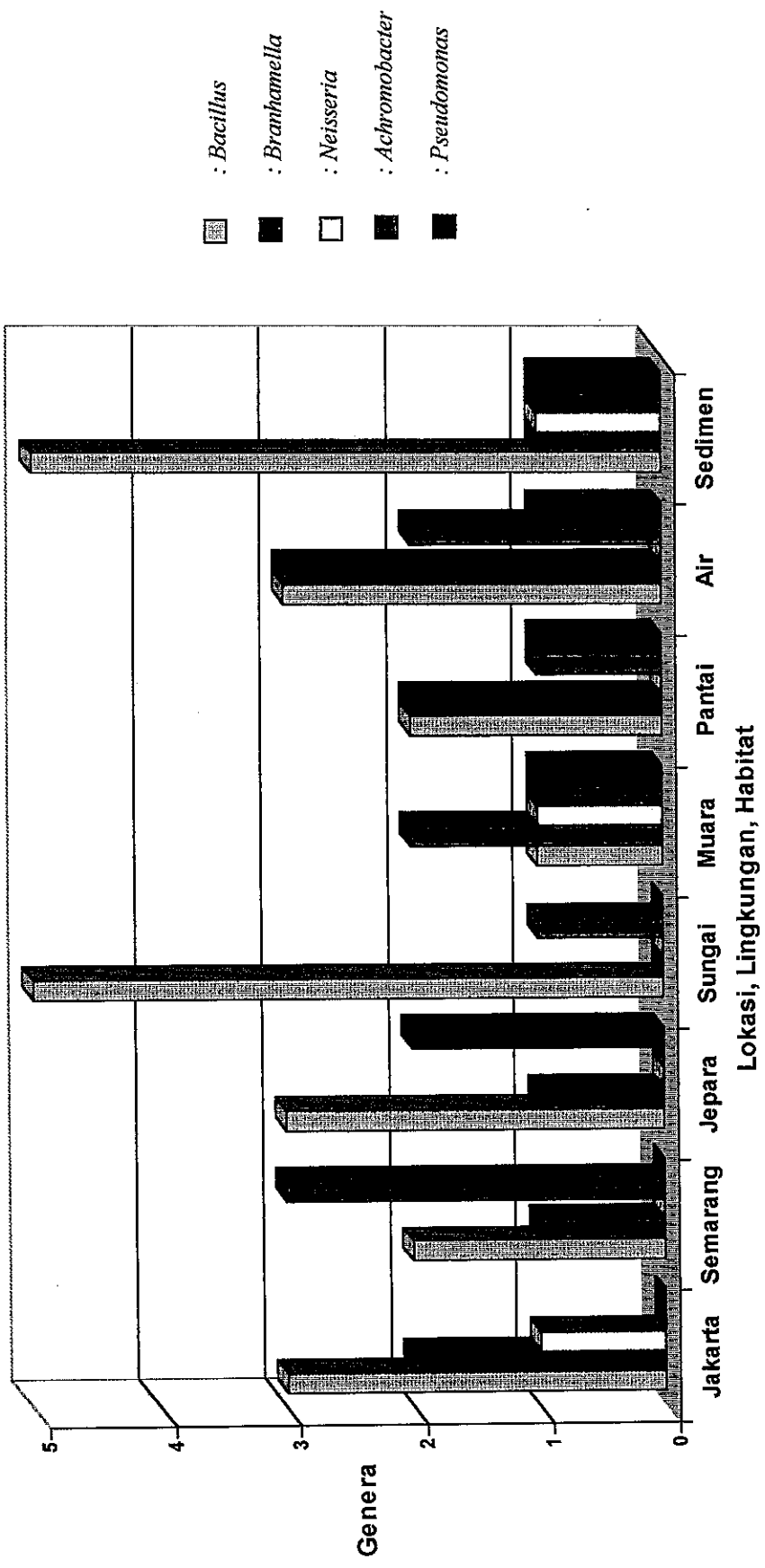
Tabel 14. Identifikasi Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik

Lokasi	Media	Sungai	Muara	Pantai
Jakarta	Air	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Branhamella sp.</i>	<i>Branhamella sp.</i>
	Sedimen	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Neisseria sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>
Semarang	Air	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Achromobacter sp.</i>	<i>Achromobacter sp.</i>
	Sedimen	<i>Achromobacter sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Branhamella sp.</i>
Jepara	Air	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Branhamella sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>
	Sedimen	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>

Berdasarkan Tabel 14 di atas, komposisi genera bakteri pendegradasi koprostanol dari 3 lokasi penelitian pada air dan sedimen dari sungai, muara, dan perairan pantai, dapat dijelaskan pada Gambar 12, dan 13 berikut ini



Gambar 12. Komposisi Genera Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik



Gambar 13. Komposisi Genera Bakteri Pendegradasi Koprostanol Terbaik Berdasarkan Lokasi, Lingkungan, dan Habitat

4.7. Pembahasan

Berdasarkan hasil isolasi bakteri terhadap sampel air dan sedimen yang berasal dari lingkungan yang berbeda (sungai, muara, perairan pantai) dari 3 (tiga) lokasi penelitian (Jakarta, Semarang, Jepara) sebagaimana Tabel 6 ditemukan adanya perbedaan jumlah koloni bakteri dari setiap lokasi penelitian. Jumlah total koloni bakteri untuk Jakarta sebanyak $159,63 \times 10^8$, sedangkan untuk Semarang dan Jepara masing-masing sebanyak $25,74 \times 10^8$ dan $34,35 \times 10^8$. Perbedaan jumlah total koloni bakteri dari 3 (tiga) lokasi ini dapat didekati dengan tingkat kepadatan penduduk di sekitar perairan. Jakarta dengan jumlah penduduk 2.645.200 jiwa (BPS Propinsi DKI Jakarta tahun 1999-2001) yang terdiri dari penduduk kota Jakarta Pusat dan Jakarta Utara yang berada di sekitar sungai Ciliwung merupakan jumlah penduduk tertinggi dibandingkan dengan penduduk sekitar sungai Banjir Kanal Timur Semarang, yaitu sebanyak 325.445 jiwa (Semarang dalam Angka tahun 1997-2001), dan penduduk sekitar sungai Demaan Jepara sebanyak 36.113 jiwa (Jepara dalam Angka tahun 1997-2001).

Untuk mengetahui seberapa banyak isolat bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol dari setiap perbedaan kondisi lingkungan (sungai, muara, perairan pantai) dilakukan uji kualitatif dengan media indikator EMBA yang telah ditambahkan koprostanol. Apabila hasil uji menunjukkan hasil positif, berarti isolat tersebut dapat tumbuh pada media yang mengandung koprostanol sebagai sumber karbon. Dalam uji kualitatif ini bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni bakteri yang berwarna merah (Loos, 1975; Bhat *et al*, 1994). Kisaran warna yang terlihat adalah dari merah muda sampai merah gelap. Hal ini disebabkan karena adanya produksi asam selama proses pertumbuhan

pada media EMBA. Terjadinya perubahan warna ini disebabkan karena adanya reaksi antara komponen penyusun media EMBA yaitu Eosin dan Methylene Blue. Pada kondisi asam, Eosin dan Methylene Blue bereaksi menghasilkan warna merah, sedangkan pada kondisi basa menghasilkan warna putih. Perubahan pH terjadi akibat proses enzimatik yang sifatnya internal (ke dalam) inilah yang menyebabkan terjadinya perubahan warna.

Berdasarkan data pada Tabel 7 dan Tabel 8 terlihat bahwa sebanyak 234 isolat dari keseluruhan 359 isolat yang dilakukan uji kualitatif pada media EMBA menunjukkan reaksi positif (+). Artinya bahwa sebanyak 65,18% dari keseluruhan jumlah isolat yang diuji merupakan bakteri pendegradasi koprostanol. Namun sejauh mana kemampuan dari tiap isolat dalam mendegradasi koprostanol secara kuantitatif belumlah diketahui lebih lanjut.

Hasil seleksi dari 234 isolat bakteri yang mampu mendegradasi koprostanol didapatkan 88 isolat terbaik yang diwakili masing-masing 5 isolat terbaik dari tiap lokasi pada lingkungan dan habitat yang berbeda kecuali untuk air sungai Jepara hanya didapatkan 3 isolat bakteri saja, berdasarkan perubahan intensitas warna yang terjadi pada saat diuji pada media EMBA koprostanol. Ke-88 isolat terbaik dari masing-masing lokasi 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.

Setelah dilakukan uji kualitatif pada media EMBA yang ditambah koprostanol, ternyata dari setiap variasi lingkungan yaitu habitat (air, sedimen),

kondisi lingkungan (sungai, muara, perairan pantai) dan lokasi penelitian (Jakarta, Semarang, Jepara), ditemukan adanya isolat bakteri pendegradasi koprostanol. Berdasarkan Tabel 8 dan Gambar 7, untuk perbedaan lokasi penelitian didapatkan jumlah isolat bakteri pendegradasi koprostanol untuk Jakarta sebanyak 94 isolat, untuk Semarang dan Jepara masing-masing sebanyak 69 dan 71 isolat. Sementara itu untuk perbedaan lingkungan, untuk sungai, muara dan laut ditemukan bakteri pendegradasi koprostanol masing-masing sebanyak 53, 96 dan 85 isolat. Sedangkan untuk perbedaan habitat yaitu air dan sedimen dari 3 lokasi penelitian masing-masing sebanyak 122 dan 112 isolat. Hal ini dapat diterangkan bahwa untuk perbedaan lokasi, jumlah bakteri pendegradasi koprostanol dipengaruhi oleh jumlah penduduk dan kedekatan sampel yang diambil dari sumber pencemarnya. Sedangkan untuk perbedaan lingkungan dan habitat, jumlah bakteri pendegradasi koprostanol dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap adaptasi bakteri untuk bertahan hidup pada lingkungannya.

Untuk mengetahui koprostanol terdegradasi oleh bakteri dalam media cair dilakukan perkiraan dengan mengukur nilai absorbansi atau nilai kerapatan optis (*optical density/OD*) kultur bakteri pada media cair selama proses masa inkubasi yaitu dari hari ke nol sampai hari ke tujuh (Hadioetomo, 1990). Nilai kerapatan optis ini berasal dari nilai %T (persen transmitans) yang tercatat oleh spektrofotometer yang kemudian dikonversi dengan menggunakan rumus $OD = 2 - \log \%T$. Nilai kerapatan optis ini menunjukkan peningkatan dari awal masa inkubasi sampai waktu tertentu dan akhirnya akan turun. Makin sedikit jumlah sel bakteri didalam suspensi, makin besar intensitas cahaya yang lolos dan makin tinggi pula persen transmittans yang tercatat, demikian pula sebaliknya (Hadioetomo, 1990).

Mikroorganisme mempunyai persyaratan nutrisi tertentu dalam bentuk zat kimiawi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan fungsinya yang normal. Salah satunya adalah bahwa mikroorganisme termasuk bakteri membutuhkan karbon untuk pertumbuhan hidupnya (Pelczar dan Chan, 1988). Berdasarkan uji degradasi koprostanol oleh bakteri pada media cair, yaitu untuk mendapatkan 18 isolat terbaik dari 88 isolat bakteri yang diuji, didasarkan pada perbedaan pertumbuhan selama masa inkubasi yang diukur atau diamati dari adanya peningkatan nilai kerapatan optis. Uji degradasi koprostanol sebagai sumber karbon bagi isolat-isolat bakteri terseleksi yaitu 18 isolat bakteri dari perbedaan lokasi, lingkungan dan habitat menunjukkan terjadinya pertumbuhan isolat yang dapat diamati dari adanya peningkatan nilai kerapatan optis kultur selama masa inkubasi (Gambar 8, 9, 10).

Hasil uji degradasi koprostanol oleh 18 isolat terbaik (Tabel 9 menunjukkan bahwa ke-18 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.

Berdasarkan daya degradasi koprostanol oleh bakteri dari 3 (tiga) lokasi pertumbuhan yaitu Jakarta, Semarang dan Jepara sebagaimana Tabel 10 diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan bakteri pada lokasi Jakarta dengan Semarang, dan Jakarta dengan Jepara. Sementara antara Semarang dengan Jepara tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Nilai rerata pertumbuhan dari 3 (tiga) lokasi tersebut masing-masing adalah Jakarta sebesar

0,4611 \pm 0,3115; Semarang sebesar 0,3070 \pm 0,1796 dan Jepara sebesar 0,3334 \pm 0,2163. Perbedaan pertumbuhan bakteri pendegradasi koprostanol tersebut kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan sumber makanan untuk kehidupannya dan parameter fisika kimia perairan.

Jakarta mempunyai jumlah penduduk yang terbesar dibandingkan Semarang dan Jepara, berakibat pada besarnya volume limbah domestik yang masuk ke perairan. Semakin banyak limbah domestik yang masuk ke perairan semakin banyak pula koprostanol yang berada pada perairan tersebut sehingga koprostanol dijadikan sebagai sumber makanan bagi bakteri. Sedangkan berdasarkan hasil pengukuran parameter fisika kimia perairan yaitu DO (*Disolved Oxygen*), suhu, pH, salinitas, TOC (*Total Organic Carbon*), dan kecerahan dari ketiga lokasi (Jakarta, Semarang, Jepara) tidak menunjukkan adanya perbedaan nilai yang jauh atau rata-rata hampir sama, kecuali untuk nilai DO (*Disolved Oxygen*). Berdasarkan Tabel 5 ditunjukkan bahwa DO untuk Jakarta 1,87 sedangkan Semarang dan Jepara masing-masing 5,10 dan 6,88. Hal ini disebabkan karena makin banyak limbah domestik masuk ke perairan berakibat pada rendahnya nilai DO (*Disolved Oxygen*) yaitu oksigen terlarut dalam suatu perairan yang digunakan untuk kehidupan mikroorganisme (bakteri). Makin rendah oksigen terlarut makin sulit bakteri dapat tumbuh pada perairan tersebut. Sebagaimana dikemukakan oleh Tchobanoglous and Burton (1991) suatu organisme untuk dapat berkembangbiak dan berfungsi baik, membutuhkan : a) sumber energi, b) karbon untuk pembentukan sel baru, dan c) nutrien / elemen anorganik. Sedangkan tidak adanya perbedaan pertumbuhan bakteri di Semarang dan Jepara kemungkinan disebabkan tidak ditemukannya faktor lingkungan yang ekstrim yang dapat mengganggu pertumbuhan bakteri.

Daya degradasi koprostanol oleh bakteri pada variasi lingkungan pertumbuhan yaitu sungai, muara, dan perairan pantai sebagaimana Tabel 11 diperoleh hasil bahwa pertumbuhan bakteri pada 3 (tiga) lingkungan berbeda tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rerata pertumbuhan untuk lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai masing-masing adalah $0,3094 \pm 0,1003$; $0,3873 \pm 0,2638$; dan $0,4032 \pm 0,3207$. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu tumbuh pada lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai, dan ini berarti bahwa bakteri tersebut bersifat tahan terhadap salinitas (euryhaline). Keberadaan bakteri pada 3 (tiga) lingkungan berbeda ini dapat disebut bahwa bakteri bersifat umum di alam dan memiliki penyebaran yang luas. Penyebaran bakteri pendegradasi koprostanol yang luas kemungkinan dipengaruhi oleh distribusi koprostanol yang berasal dari lingkungan sungai, muara sampai ke perairan pantai.

Daya degradasi koprostanol oleh bakteri pada variasi habitat pertumbuhan yaitu air dan sedimen sebagaimana Tabel 12 diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rerata pertumbuhan untuk habitat berbeda yaitu air dan sedimen masing-masing adalah $0,3687 \pm 0,2487$ dan $0,3672 \pm 0,2530$. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri pendegradasi koprostanol dapat tumbuh baik pada air dan sedimen.

Dari 359 isolat yang diuji didapatkan 234 (65,18%) 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 5 (lima) genera

bakteri pendegradasi koprostanol yaitu *Bacillus* sp., *Achromobacter* sp., *Branhamella* sp., *Neisseria* sp., dan *Pseudomonas* sp.. Berdasarkan Gambar 12, terlihat bahwa komposisi dari kelima genera bakteri pendegradasi koprostanol tersebut adalah *Bacillus* sp. (44%), *Branhamella* sp. (22%), *Achromobacter* sp. (17%), *Pseudomonas* sp. (11%) dan *Neisseria* sp. (6%). Hasil identifikasi ini tentunya belum secara lengkap menggambarkan keberadaan bakteri pendegradasi koprostanol secara nyata di alam, karena isolat bakteri yang diidentifikasi hanya 18 isolat dari 88 isolat yang diuji atau sekitar 20,5%. Hal ini masih dimungkinkan adanya genus lain di alam yang mampu mendegradasi koprostanol.

Beberapa peneliti telah melakukan penelitian berkaitan dengan degradasi koprostanol oleh aktivitas 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 genera *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).

Hasil penelitian ini memperkuat hasil-hasil terdahulu (Walker *et al.*, 1982) yaitu bahwa genera *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. mampu mendegradasi koprostanol. Selain itu terdapat 3 genera lain yaitu *Achromobacter* sp., *Branhamella* sp., dan *Neisseria* sp. yang belum pernah dilaporkan, baik di kawasan tropis maupun sub tropis.

Berdasarkan Tabel 13 yaitu pada genera nomor 14 sampai dengan 16 dan Gambar 11A, didapatkan genera *Achromobacter* sp. yang ditemukan di lokasi Semarang pada lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai. Hasil uji biokimia dan pengamatan morfologi antara lain menunjukkan bahwa genera bakteri tersebut bersifat Gram negatif, berbentuk batang pendek, oksidase positif, bersifat motil, hasil uji indol dan uji sulfida negatif, hasil uji produksi asam dari glukosa tidak ada reaksi, tidak berspora, tidak berpigmen, dan hasil uji dekarboksilase negatif.

Sedangkan menurut Pelczar dan Chan (1988) genus bakteri *Achromobacter* sp. mempunyai ciri-ciri antara lain selnya bentuk batang, batang membulat, atau kokus, ukuran 0,5-1,2 x 0,5-0,2,6 μm , biasanya terdapat tunggal. Bersifat motil dengan satu sampai empat flagel peritrikus, Gram negatif, tidak membentuk spora dan membutuhkan suhu optimum antara 20-37 °C. Kebanyakan spesies merupakan saprofitik yang umum pada saluran pencernaan vertebrata, terdapat pada air dan tanah, lingkungan air tawar, laut dan darat. Bersifat oksidasi positif aerobik, dan khemoorganotrof yang mampu menggunakan beberapa asam organik dan asam amino sebagai sumber karbonnya.

Ciri-ciri yang dimiliki genera *Achromobacter* sp. yang didapatkan dari hasil penelitian ini jika dibandingkan dengan menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah sesuai. Oleh karena itu maka bakteri pendegradasi koprostanol dari lingkungan sungai, muara, dan perairan pantai Semarang adalah bakteri genera *Achromobacter* sp.

Untuk genera *Bacillus* sp. ditemukan pada semua lokasi dan lingkungan penelitian. Berdasarkan Tabel 13 yaitu pada genera nomor 6 sampai dengan 13 dan Gambar 11B, didapatkan genera *Bacillus* sp., karena hasil uji biokimia dan pengamatan morfologi antara lain menunjukkan bahwa genera bakteri tersebut bersifat Gram positif, berbentuk batang panjang, katalase positif, dan berspora.

Bakteri genera *Bacillus* sp. yang diperoleh dari lingkungan sungai, muara dan perairan pantai merupakan bakteri pendegradasi koprostanol. *Bacillus* sp. semula dikenal sebagai bakteri asal daratan namun Rosenfeld & Zobell dalam Effendi (1998) menemukan bahwa bakteri ini juga ternyata merupakan penghuni laut sehingga apabila dari hasil identifikasi ditemukan genera *Bacillus* sp. di lokasi sungai, muara, dan perairan pantai adalah suatu hal yang mungkin terjadi karena *Bacillus* sp. juga memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas dan bersifat kosmopolit (Atlas & Bartha, 1987).

Genera *Bacillus* sp. mampu tumbuh pada suhu 10-50°C sehingga berdasarkan data hasil pengukuran parameter fisika kimia di lingkungan sungai, muara dan perairan pantai yang diperoleh, sangat memungkinkan sekali jika diperoleh bakteri genera *Bacillus* sp. di lokasi tersebut. Genera *Bacillus* sp. merupakan saprofit ringan yang tidak berbahaya, mudah tumbuh dalam kerapatan tinggi dan mampu membentuk endospora yang tahan panas (Salle, 1984). Sedangkan menurut Rheinheimer (1992),

suhu untuk pertumbuhan *Bacillus* sp. mesofilik yaitu pada suhu 25°C-40°C dan termofilik yaitu pada suhu 45°C-65°C nilai pH optimum antara 6,8-7,5 dan bersifat katalase positif.

Bakteri genera *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang kelimpahannya dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan baik fisik, kimia maupun biologis. Salah satu faktor kimia yang mempengaruhi adalah kandungan bahan organik dan anorganik di lingkungannya. Bakteri genera *Bacillus* sp. mampu mengeluarkan sejumlah enzim yang dapat digunakan untuk memecahkan substratnya, sehingga dapat digunakan sebagai bahan makanannya. Kemungkinan degradasi koprostanol oleh bakteri genera *Bacillus* sp. juga dipengaruhi oleh kemampuan bakteri untuk menghasilkan enzim pendegradasi.

Bakteri yang ditemukan di Jepara pada lingkungan muara dan perairan pantai adalah genera *Pseudomonas* sp.. Berdasarkan Tabel 13 pada genera nomor 17 dan 18 dan Gambar 11C didapatkan genera *Pseudomonas* sp.. Hasil uji biokimia dan pengamatan morfologi antara lain didapatkan bahwa genera ini bersifat Gram negatif, berbentuk batang pendek, Oksidase negatif, bersifat motil, hasil uji indol dan sulfida negatif, uji produksi asam dari glukosa tidak ada reaksi, tidak berspora dan berpigmen, uji dekarboksilase negatif, dan uji sitrat positif.

Sedang menurut Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa genera *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang berukuran 0.5 x 1.5 µm, tunggal atau berpasangan, dan bersifat motil dengan bantuan flagella ujung. Bakteri ini banyak terdapat dalam tanah, air, sampah dan udara. Bersifat aerobik, tidak tumbuh pada suhu 4°C atau 41°C, dan mempunyai pertumbuhan optimum pada

suhu 35°C. Karakteristiknya adalah jumlah flagella lebih dari satu, koloni berwarna kuning, faktor pertumbuhan yang diperlukan methionine atau cystine, reaksi oksidasi negatif.

Ciri-ciri yang ditemukan pada genera *Pseudomonas* sp. dari penelitian ini adalah sama dengan ciri-ciri yang dikemukakan oleh Pelczar dan Chan (1988). Ini berarti bahwa bakteri pendegradasi koprostanol dari lokasi Jepara adalah genera *Pseudomonas* sp..

Pada lokasi Jakarta untuk sedimen muara ditemukan genera bakteri *Neisseria* sp. Berdasarkan Tabel 13 pada genera nomor 1 dan Gambar 11D didapatkan genera *Neisseria* sp.. Hasil uji biokimia dan pengamatan morfologi antara lain didapatkan bahwa genera ini bersifat Gram negatif, berbentuk kokus, uji katalase dan oksidase positif, uji TCBS negatif, tidak motil, uji indol dan sulfida negatif, uji produksi asam dari glukosa bersifat fermentatif, tidak berspora dan berpigmen, dan uji nitrit positif.

Menurut Pelczar dan Chan (1988) genera *Neisseria* sp. merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk kokus yang biasanya terdapat berpasangan. Beberapa anggota golongan ini adalah penghuni normal saluran pernapasan manusia. Ciri khas organisme ini adalah diplokokus Gram negatif, diameternya 0,8 µm, tidak bergerak dan tidak membentuk spora. Masing-masing kokus berbentuk seperti ginjal dengan bagian yang rata atau cekung berdekatan. Koloni berbentuk mukoid cembung, mengkilat, menonjol, dengan diameter 1-5 mm. Koloni transparan, tidak berpigmen atau kekuning-kuningan, dan tidak hemolitik. *Neisseria* sp. memberikan reaksi oksidase positif. Sifat-sifat pertumbuhannya adalah bersifat obligat aerob. Bakteri ini meragikan berbagai karbohidrat membentuk asam tanpa gas. Pertumbuhannya

terhambat apabila ada unsur-unsur yang bersifat toksik seperti asam lemak atau garam-garam, mempunyai pertumbuhan optimum pada suhu 35–37°C, dan menghasilkan enzim otolitik.

Ciri-ciri yang ditemukan pada genera *Neisseria* sp. dari penelitian ini adalah sama dengan ciri-ciri yang dikemukakan oleh Pelczar dan Chan (1988). Ini berarti bahwa bakteri pendegradasi koprostanol dari lokasi Jakarta adalah genera *Pseudomonas* sp..

Ciri-ciri genera *Neisseria* sp. yang didapat dari penelitian ini dibandingkan dengan ciri-ciri menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah sama. Ini berarti bahwa bakteri pendegradasi koprostanol dari lokasi Jakarta untuk sedimen muara adalah genera *Neisseria* sp..

Bakteri yang ditemukan pada lingkungan muara dan perairan pantai pada lokasi Jakarta dan Semarang adalah genera *Branhamella* sp.. Berdasarkan Tabel 13 pada genera nomor 2 sampai dengan 5 dan Gambar 11E didapatkan genera *Branhamella* sp.. Hasil uji biokimia dan pengamatan morfologi antara lain didapatkan bahwa genera ini bersifat Gram negatif, berbentuk kokus, uji katalase dan oksidase positif, uji TCBS negatif, tidak motil, uji indol dan sulfida negatif, uji oksidatif / fermentatif negatif, uji produksi asam dari glukosa tidak menunjukkan adanya reaksi, tidak berspora dan berpigmen, dan uji nitrit positif.

Menurut Pelczar dan Chan (1988) menyatakan bahwa genera *Branhamella* sp. bersifat Gram negatif, berbentuk kokus, biasanya tertata berpasangan dengan sisi yang bersebelahan mendatar, tidak membentuk spora, nonmotil, dan kemoorganotrof, tidak dihasilkan asam dari karbohidrat, dihasilkan katalase dan

sitokrom oksidase, bersifat aerobik, tumbuh optimum pada suhu sekitar 37°C, bersifat parasit pada selaput lendir mamalia.

Ciri-ciri genera *Branhamella* sp. yang didapat dari penelitian ini dibandingkan dengan ciri-ciri menurut Pelczar dan Chan (1988) adalah sama. Ini berarti bahwa bakteri pendegradasi koprostanol dari lokasi Jakarta dan Semarang untuk lingkungan muara dan perairan pantai adalah genera *Branhamella* sp..

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Uji degradasi koprostanol terhadap 18 isolat bakteri terseleksi menunjukkan bahwa bakteri mampu mendegradasi koprostanol sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi dan material seluler bagi pertumbuhannya.
2. Daya degradasi koprostanol oleh bakteri dari 3 (tiga) lokasi pertumbuhan (Jakarta, Semarang, Jepara) diperoleh hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan bakteri pada lokasi Jakarta dengan Semarang, dan Jakarta dengan Jepara. Sedangkan antara Semarang dengan Jepara tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Nilai rerata pertumbuhan untuk Jakarta, Semarang, dan Jepara masing-masing adalah $0,4611 \pm 0,3315$; $0,3070 \pm 0,1796$; dan $0,3334 \pm 0,2163$.
3. Daya degradasi koprostanol oleh bakteri berdasarkan variasi lingkungan (sungai, muara, pantai) diperoleh hasil bahwa pertumbuhan bakteri pada 3 (tiga) lingkungan berbeda tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rerata pertumbuhan untuk sungai, muara, dan pantai adalah $0,3094 \pm 0,1003$; $0,3873 \pm 0,2638$; dan $0,4032 \pm 0,3207$.
4. Daya degradasi koprostanol oleh bakteri pada variasi habitat pertumbuhan (air dan sedimen) diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Nilai rerata pertumbuhan untuk air dan sedimen adalah $0,3687 \pm 0,2487$ dan $0,3672 \pm 0,2530$.

5. Berdasarkan hasil isolasi diperoleh bakteri pendegradasi koprostanol sebanyak 234 isolat (65,18%) dari 359 isolat yang diuji. Sedangkan hasil identifikasi terhadap 18 isolat terbaik diperoleh 5 genera bakteri mampu mendegradasi koprostanol, yaitu *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Neisseria* sp., dan *Branhamella* sp.. Dari 5 genera bakteri pendegradasi koprostanol yang ditemukan, ada 3 genera yang selama ini belum dilaporkan, yaitu genus *Achromobacter* sp., *Branhamella* sp., dan *Neisseria* sp..
6. Keragaman bakteri pendegradasi koprostanol pada lingkungan muara lebih beragam dibandingkan dengan lingkungan perairan pantai dan sungai. Untuk lingkungan muara ada 5 (lima) genera bakteri yang ditemukan yaitu *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Neisseria* sp., dan *Branhamella* sp., sedangkan untuk lingkungan perairan pantai ditemukan 4 (empat) genera yaitu *Achromobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Branhamella* sp., dan untuk lingkungan sungai ditemukan 2 (dua) genera yaitu *Achromobacter* sp., dan *Bacillus* sp..

5.2. Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang sejauh mana kemampuan bakteri dalam mendegradasi koprostanol secara kuantitatif dan penelitian sejenis yang dilakukan pada musim penghujan sehingga dapat diketahui apakah koprostanol cukup layak bila dijadikan alternatif indikator dan perunut alamiah limbah domestik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alloway, B.J. and D.C. Ayres, *Chemical Principle of Environmental Pollution*, Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 1994.
- Atlas, R. M. and R. Bartha, *Microbial Ecology, Fundamentals and Application*, 2nd Edition, The Bunjamin / Cumming Publising Company, Inc. Menlo Par, California : 560 pp, 1987.
- Bachtiar, T., *Tracing Contaminated Sediment Using Natural Indicators*, Master Thesis, Department of Geology, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada, 1993.
- Bachtiar, T., J. P. Coakley, and M. J. Risk, Tracing sewage contaminated sediment in Hamilton Harbour using selected geochemical indicator, *Sci. Total. Environ.* 179 : 3-16, 1996.
- Bachtiar, T., *Koprostanol sebagai Indikator Kontaminasi dan Perunut Alamiah Limbah Domestik di Perairan Pantai Banjir Kanal Timur Semarang*, Disertasi ITB, 15-V: 110-123, Bandung, 2002.
- Bartlett, P. D., Degradation of coprostanol in an experimental system, *Mar. Poll. Bull.* 18 (1): 27-29, 1987.
- Bengen, D.G., *Sinopsis Ekosistem dan Sumberdaya Alam Pesisir dan Laut*, Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan, IPB, Bogor, 2001.
- Bhat, M.A, M. Tsuda, K. Horike, M. Nozaki, C.S. Vidyanathan, and T. Nakazama, 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, 1994.
- Brown, R. C. and T. L. Wade, Sedimentary coprostanol and hydrocarbon distribution adjacent to a sewage outfall, *Wat. Res.* 18: 621-632, 1984.
- Chan, K. H., M.H.W. Lam, and K. F. Poon, Application of Sedimentary Fecal Stanol and Sterols in Tracing Sewage Pollution in Coastal Waters, *Wat. Res.* 32 (1): 225-235, 1998.
- Chapra, S.C., *Surface Water Quality Modelling*, McGraw-Hill, Singapore, 1997.
- Coakley, J. P., and B. F. N. Long, Tracing the Movement of Fine-Grained Sediment in Aquatic Systems : A Literatur Review, Inland Water Directorate, *Environ. Canada Scientific Series.* 174: 21p, 1990.

- Coakley, J. P. and D. J. Poulton, Tracer for fine sediment transport in Humber Bay, Lake Ontario, *J. Great Lake. Res.* 17: 289-303, 1991.
- Coakley, J. P., J. H. Carey, and B. J. Eadie, Specific organic component as tracers of contaminated fine sediment dispersal in Lake Ontario near Toronto, *Hydrobiologia*, 235/236: 85-96, 1992.
- Cowan, S.T., *Cowan dan Steel's manual for the identification of medical bacteria*, 2nd Edition, Cambridge University Press, London, 1992.
- Dahuri, R., J. Rais, S. P. Ginting, dan M. J. Sitepu, *Pengelolaan Sumber Daya Wilayah Pesisir dan Lautan Secara Terpadu*, PT. Pradnya Paramita, Jakarta, 1996.
- Dureth, S. R. Herrman, and K. Pecher, Tracing fecal pollution by coprostanol an intestinal bacteria in an ice covered Finnish lake loaded with both industrial and domestic sewage, *Wat. Air. Soil. Poll.* 28:131-149, 1986.
- Dutka, B. J., A. S. Y. Chau, and J. Coburn, Relation between bacterial indicator of water pollution and fecal steroid. *Wat. Res.* 8:1047-1055, 1974.
- Hadi, S., *Seri Program Statistik*, Penerbit Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 165 hlm, 2000.
- Hadioetomo, R.S., *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*, Penerbit Gramedia, Jakarta, 1985.
- Hatcher, P.G, L. E. Keister, and P. A. McGillivray, Steroids as sewage specific indicators in New York Bright sediment, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 17 : 491-498, 1997.
- Hatcher, P. G. and P. A. McGillivray, Sewage contamination in the New York Bight: Coprostanol as an indicator, *Environ. Sci. Technol.* 13:1225-1229, 1979.
- Holm, S. E. and J. G. Windsor, Exposure assessment of sewage treatment plant effluent by a selected chemical marker method, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19: 674-679, 1990.
- Jeng, W. L. and B. C. Han, Sedimentary coprostanol in Kaoshiung Harbour an the Tan Sui Estuary, Taiwan *Mar. Pol. Bull.* 28: 494-499, 1994.
- Jeng, W. L. J. Wang and B. C. Hang, Coprostanol distribution in marine sediment off Southwestern Taiwan, *Environ. Poll.* 94 (1): 47-52, 1996.
- Kirchmer, C. J., *5 Beta-Cholestan-3 Beta-ol An Indicator of Fecal Pollution*, Disertasi Ph.D., The University of Florida, 1971.

- Lay, B. W., *Analisa Mikroba di Laboratorium*, PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta, 1994.
- Loos, M. A. I., Indicator Media for Microorganisms Degrading Chlorinated Pesticides, *Can. J. Microbiol.* 21: 104-107, 1975.
- Pamdey, G.N. and G. C. Carney, *Environmental Engineering*, Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited, New Delhi, 1991.
- Radjasa, O. K., *Viable But Non Culturable (VBNC)*, Modul Mata Kuliah Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang, 2001.
- Rheinheimer, G., *Aquatic Microbiology*, John Willey and Sons INC, New York, 363 pp, 1992.
- Salle, A.J., *Fundamental Principles of Bacteriology*, Mc Graw Hill Publishing Company, New Delhi, 812 pp, 1984.
- Schlegel, H. G. dan K. Schmidt, *Mikrobiologi Umum*, ed. Keenam, diterjemahkan oleh T. Baskoro dan J. R. Wattimena, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 1994.
- Switzer-Howse, K. D. and Dutka, B. J., *Fecal sterol studies : samples processing and microbial degradation*, Scientific Series No. 89, National Water Research Institute. Canada Centre for Inland Waters, Burlington, Ontario, 1978.
- Tchobanoglous, G. and F. L. Burton, *Wastewater Engineering : Treatment, Disposal, Reuse*, 3rd ed., Revised by G. Tchobanoglous and F.L. Burton, McGraw Hill, Singapore, 1991.
- Walker, R.W., C.K. Wun, and W. Litsky, *Coprostanol as an indicator of fecal pollution*, Paper No. 2402, Massachusetts Agriculture Experiment Station, University of Massachusettes, Amherst, 1982.