

JURNAL

**DENSITAS BAKTERI *Clostridium perfringens* DAN BAKTERI
HETEROTROFIK DI PERAIRAN LAUT DUMAI PROVINSI RIAU
SERTA UJI RESISTENSINYA TERHADAP ANTIBIOTIK**

OLEH

ADRIAN IGNATIUS SITUMORANG



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

**DENSITAS BAKTERI *Clostridium perfringens* DAN BAKTERI
HETEROTROFIK DI PERAIRAN LAUT DUMAI PROVINSI RIAU
SERTA UJI RESISTENSINYA TERHADAP ANTIBIOTIK**

Oleh

**Adrian Situmorang¹⁾, F. Feliatra²⁾, Dessy Yoswaty²⁾
Email : drianaddicted@gmail.com**

ABSTRAK

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juni 2018 di Perairan Laut Dumai Kota Dumai Provinsi Riau. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat densitas bakteri *C. perfringens* dan heterotrofik, menganalisis tingkat densitas bakteri *C. perfringens* dan heterotrofik serta mengidentifikasi tingkat resistensi bakteri *C. perfringens* dan heterotrofik terhadap antibiotik. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Analisis uji biokimia dan resistensi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan perhitungan jumlah koloni bakteri *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik dari kelima stasiun yang didapat dari perairan menunjukkan bahwa jumlah bakteri *C. perfringens* lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah bakteri Heterotrofik yang berada pada kelima stasiun. Densitas bakteri *C. perfringens* tertinggi pada stasiun 3 dengan nilai $1,5 \times 10^6$ dan terendah pada stasiun 4 dengan nilai $2,1 \times 10^5$. Rata-rata hasil pengujian terhadap antibiotik *chloramphenicol* ditemukan bahwa semua isolat bakteri termasuk Intermediet, sedangkan pada pengujian terhadap antibiotik *penicillin*, semua isolat bakteri termasuk sensitif, dan pada pengujian antibiotik *isoniazid* diperoleh bahwa semua isolat bakteri termasuk resisten.

Kata kunci: Densitas, Uji resistensi dan *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik

¹ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

² Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

DENSITY OF *Clostridium perfringens* BACTERIA AND HETEROTROPHIC BACTERIA IN RIAU DUMAI SEA WATER AND RESISTENCE TEST ON ITS ANTIBIOTICS

By

Adrian Situmorang¹⁾, F. Feliatra²⁾, Dessy Yoswaty²⁾
Email : drianaddicted@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted in April to June 2018 in the Dumai Sea Waters of Dumai City, Riau, Province. The purpose of this study was to determine the level density of *C. perfringens* and heterotrophic bacteria, analyze the level of resistance of *C. perfringens* and heterotrophic bacteria to antibiotics. The method used in research is an experimental method. Biochemical and resistance test analyzes were performed at the marine Microbiology Laboratory of the Faculty of study, the calculation of the number of *C. perfringens* and heterotrophic bacteria from the five stations obtained from the waters shows that the number *C. perfringens* bacteria is lower if compared with the number of heterotrophic bacteria that are in the five stations. The highest density of *C. perfringens* bacteria at station 3 with a value of $1,5 \times 10^6$ and the lowest station 4 with a value $2,1 \times 10^5$. The average results of testing of the antibiotic Chloramphenicol found that all bacterial isolates were sensitive, and in isoniazid antibiotic testing it was found that all bacterial isolates were resistant.

Keywords : Density, Resistance test and *C. perfringens* and heterotrophic bacteria

¹ Student of Fisheries and Marine Faculty, University of Riau

² Lecturer of Fisheries and Marine Faculty, University of Riau

PENDAHULUAN

Perairan Dumai merupakan daerah yang berhadapan langsung dengan Selat Malaka yang merupakan pusat dari segala akses transportasi laut. Perairan Dumai juga merupakan salah satu perairan di Sumatera yang padat dengan aktivitas pelayaran dan industri di sekitar pesisir pantainya. Selain dari pada itu Selat Malaka juga dikenal sebagai pintu masuk dari perdagangan dunia melalui sektor kelautan. Padatnya aktivitas pelayaran dan perindustrian di sekitar perairan Kota Dumai dianggap telah banyak menghasilkan limbah yang dapat mengakibatkan penurunan kualitas perairan dan timbulnya pencemaran di wilayah ini.

Pencemaran limbah domestik berasal dari sisa pembuangan limbah rumah tangga yang dialirkan ke sungai dan bermuara ke laut. Hal ini sangat berdampak bagi kelangsungan ekosistem yang ada di laut tersebut (Afiya. *et al.*, 2018)

Menurut Meilani (2017) Polutan dalam air mencakup unsur unsur kimia, pathogen / bakteri serta perubahan sifat kimia atau fisika dari air.. Bakteri adalah pusat siklus karbon (C), nitrogen (N) dan fosfor (P) dalam suatu ekosistem (Godwin dan Cotner dalam Feliatra *et al* 2018). *C. perfringens* adalah salah satu bakteri gram positif yang bersifat patogen yang bisa digunakan sebagai indikator tercemarnya suatu perairan. *C. perfringens* adalah bakteri gram positif, anaerobik berbentuk batang dari genus Clostridium. Bakteri ini tahan panas dan tahan dingin, bertahan dalam kondisi dengan sedikit atau tanpa oksigen.

Bakteri *C. perfringens* banyak ditemukan di lingkungan tanah, vegetasi membusuk dan sedimen laut. Bakteri dapat membentuk endospora, mampu bertahan dalam kondisi buruk dalam jangka waktu yang lama. Bila kondisi yang menguntungkan ditemui, endospora berkecambah dengan cepat. *C. perfringens*

memiliki waktu generasi terpendek, 6,3 menit. Ikan dan kerang-kerangan dapat terkontaminasi dari lingkungan hidup ikan yang tercemar atau dari lingkungan pengolahan. Jika ikan tersebut diperoleh dari laut yang telah terkena polusi limbah, ikan tersebut kemungkinan terkontaminasi bakteri patogen.

Dalam bidang mikrobiologi pangan, dikenal istilah bakteri indikator sanitasi. Dalam hal ini pengertian pangan menurut Undang-Undang Pangan No. 7 Tahun 1996 yaitu mencakup makanan dan minuman (termasuk air minum). Bakteri indikator sanitasi adalah bakteri yang keberadaannya dalam pangan menunjukkan bahwa air atau makanan tersebut pernah tercemar oleh kotoran manusia. Bakteri-bakteri indikator sanitasi tersebut pada umumnya adalah bakteri yang lazim terdapat dan hidup pada usus manusia. Jadi, adanya bakteri tersebut pada air atau makanan menunjukkan bahwa dalam satu atau lebih tahap pengolahan air atau makanan tersebut pernah mengalami kontak dengan kotoran yang berasal dari usus manusia dan oleh karenanya mungkin mengandung bakteri patogen lainnya yang berbahaya. *C. perfringens* juga telah direkomendasikan sebagai organisme indikator pencemaran bakteriologis untuk pemantauan air, sedimen dan jaringan dikarenakan keberadaannya di dalam limbah dengan konsentrasi 10^3 - 10^4 per 100 ml dan *C. Perfringens* mempunyai kemampuan membentuk endospora yang bisa terbentuk ketika lingkungan sperairan sedang tidak baik (Indra. *et al.*, 2013)

Berdasarkan hal tersebut penulis tertarik melakukan penelitian tentang densitas bakteri *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik di perairan laut Dumai.

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah, sejauh manakah tingkat densitas bakteri *C. perfringens* dan bakteri heterotrofik, bagaimanakah tingkat densitas diantara *C. perfringens* dan Heterotrofik, seberapa kuatkah resistensi

C. perfringens dan heterotrofik terhadap antibiotik.

Tujuan dalam penelitian ini adalah, mengetahui tingkat densitas bakteri *C. perfringens* dan bakteri heterotrofik, menganalisis tingkat densitas bakteri *C. perfringens* dan heterotrofik, mengidentifikasi tingkat resistensi *C. perfringens* dan heterotrofik terhadap antibiotik. Adapun Manfaat dalam penelitian ini adalah, memberi informasi tentang keberadaan bakteri indikator pencemaran *C. perfringens* dan bakteri heterotrofik di perairan Dumai.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juni 2018 di Perairan Laut Dumai Kota Dumai Provinsi Riau. Pengambilan sampel air dilakukan pada akhir bulan April 2018 di Perairan Laut Dumai Kota Dumai Provinsi Riau (Gambar 1). kemudian di analisis di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei.

Penentuan Titik Sampling

Penentuan lokasi penelitian dengan menggunakan metode *purposive sampling*, pada setiap stasiun dengan karakteristik sumber yang berbeda diantaranya Stasiun 1 berada di sekitar Industri, Stasiun 2 berada di daerah pemukiman, Stasiun 3

berada di sekitar pelabuhan, Stasiun 4 berada di sekitar Mangrove dan Stasiun 5 berada di perairan yang jauh dari aktivitas manusia. Masing-masing stasiun terbagi menjadi 3 titik *sampling* dengan 3 kali ulangan.

Pengambilan Sampel Air Laut

Pengambilan sampel air laut dilakukan dititik yang sudah ditentukan. Sampel diambil sebanyak 3 ulangan titik stasiun. Pengambilan sampel air laut dilakukan saat menjelang surut. Air laut diambil dari permukaan, pertengahan dan dasar perairan dengan menggunakan *water sample* pada masing-masing titik *sampling*. Selanjutnya sampel yang didapat dibawa ke laboratorium untuk dianalisis. Selama perjalanan botol sampel dilapisi dengan penutup berwarna gelap.

Pengukuran Parameter Kualitas Perairan

Adapun parameter pengukuran kualitas perairan adalah sebagai berikut :

- Suhu**
Pengukuran suhu menggunakan *thermometer*.
- Derajat Keasaman (pH)**
Pengukuran pH menggunakan alat yaitu pH indikator.
- Salinitas**
Menggunakan *handrefractometer*
- Kecepatan Arus**
Kecepatan arus diukur dengan menggunakan *current drouge*. Kecepatan arus dapat diketahui dengan rumus :

$$v = \frac{s}{t}$$

Dimana :

- v = Kecepatan arus (m/s)
- s = jarak yang ditempuh dari titik awal hingga jarak tertentu (m)
- t = waktu yang diperlukan untuk mencapai titik tertentu (s)

e. Kecerahan

Kecerahan diukur menggunakan *secchi disk*.

Adapun cara menghitung kecerahan dengan menggunakan rumus :

$$\frac{\text{Jarak hilang} + \text{Jarak tampak}}{2}$$

f. Disolve Oksigen (DO)

Disiapkan botol DO, kemudian diisi dengan air sampel. Pengambilan air dengan posisi miring 45°C agar tidak terdapat gelembung udara karena dapat berpengaruh terhadap nilai kandungan oksigen yang diukur. Kemudian tutup botol DO, saat masih didalam perairan agar udara tidak masuk. Setelah itu buka tutup botol yang berisi sampel dan ditambahkan 2 ml MnSO₄ untuk mengikat oksigen dan ml NaOH+KL untuk membentuk endapan coklat dan melepas O₂. Lalu dibolak balik sampai terbentuk endapan coklat kemudian buang filtrat cair bening yang berada di atas endapan selang secara perlahan. Endapan coklat yang tersisa diberi 1-2 ml H₂SO₄ pekat untuk mengikat O₂ dan menjadikan 2 Nal. Lalu dihomogenkan sampai endapan larut. Setelah itu ditetesi 3-4 tetes amyllum untuk pengkondisian suasana basa dan dititrasi dengan Na-thiosulfat (Na₂S₂O₃) 0,025 N untuk mengikat O₂ sampai jernih atau tidak berwarna untuk pertama kali . Dicatat berapa m; Na-thiosulfat yang terpakai dengan rumus DO :

$$OT = \frac{axNx8x1000}{V-4}$$

Dimana:

- OT : Oksigen terlarut (mg O₂/l)
- A : Volume titran Na-thiosulfat (ml)
- N : Normalitas larutan thiosulfat (0,025)
- V : Volume botol winkler (ml)

g. Biological Oxygen Demand (BOD)

Untuk mengukur BOD, larutan sampel harus terlebih dahulu di ukur kandungan oksigen terlarutnya. Lakukan standarisasi alat DO meter dengan cara merendam elektrodanya kedalam air destilasi yang telah jenuh O₂ dan mengatur penunjukannya sesuai tabel yang ada. Lakukan pemeriksaan DO awal contoh, dengan mencelupkan elektroda kedalam contoh, selanjutnya catat penunjukannya sebagai DO awal jika kandungan DO-nya tinggi maka lakukan pengenceran. Simpan contoh dalam inkubator dengan temperature 20°C ± 1°C. Pada hari kelima dilakukan pengukuran sama halnya dengan pengukuran oksigen terlarut pada hari pertama. Perhitungan BOD₅ menggunakan rumus menurut Alaerts dan Santika (1984):

$$[BOD_5 \text{ (mg/l)} = (D1 - D2)/P]$$

Dimana:

- DO1 = DO awal, setelah sampling langsung diperiksa
- DO2 = DO setelah 5 hari disimpan diinkubator
- P = Pecahan desimal dari contoh yang digunakan, misalnya dilakukan 5 kali pengenceran

h. Chemical Oxygen Demand (COD)

Pengukuran COD dilakukan di Laboratorium dengan metode Titrimetrik. Kandungan COD di perairan, dengan melakukan langkah-langkah sebagai berikut:

- Gelas *erlenmeyer* 125 ml terlebih dahulu dibersihkan hingga bebas bahan organik, kemudian dimasukkan sampel air sebanyak 10 ml dan ditambahkan 5 ml K₂Cr₂O₇ lalu diaduk dan kemudian ditambahkan 15 ml H₂SO₄ pekat sambil diaduk.

- Tabung *Erlenmeyer* ditutup dengan kaca arloji dan dibiarkan selama 30 menit. Lalu diencerkan dengan menambah 7,5 ml aquades, diaduk dan ditambahkan 2-3 tetes indicator ferroin.
- Kemudian dititrasi dengan FAS (*Ferrous Ammonium Sulfat*) hingga terjadi perubahan warna dari kuning orange atau biru kehijauan menjadi merah kecoklatan. Untuk mengetahui kandungan COD dapat diketahui dengan rumus (Alaerts dan Santika, 1984):

$$\text{COD (mg/L)} = \frac{(B-S) \times N \times 8000}{\text{ml sampel}}$$

Dimana:

B = Volume FAS yang digunakan dalam larutan blanko (ml)

S = Volume FAS yang digunakan dalam larutan sampel (ml)

N = Normalitas FAS

i. Amonia

Pengukuran amonia mengacu pada SNI 06-6989:30-2005 dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 100 ml lalu ditambahkan aquades sebanyak 40 ml, lalu ditambahkan 1 ml ZnSO₄, 7H₂O. Lalu tambah 0,5 ml NaOH 6 N sehingga pH 10,5. Sampel dibiarkan beberapa saat hingga endapan terbentuk, lalu sampel disaring lalu ditambahkan 1 tetes *reagent* EDTA, diaduk dan ditambahkan 2 ml pereaksi *nessler*. Setelah itu sampel diencerkan dengan mengambil sampel yang telah disaring sebanyak 5 ml lalu tambahkan aquades 95 ml sehingga volume menjadi 100 ml (pengenceran 20 kali). Sampel diukur dengan menggunakan *spectrophotometer* DR 2000 dengan nomor program 380 dan panjang gelombang 425 dan dicatat.

j. NO₃ (Nitrat)

Pengukuran nitrat dengan mengambil air sampel dan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5,0 ml. Setelah itu, menambahkan larutan *Bruchine* sebanyak 0,5 ml, kemudian kocok tabung reaksi tersebut dengan cara membolak-balik tabung. Didiamkan beberapa menit. Setelah itu di tambahkan lagi larutan Asam Sulfat Pekat (H₂SO₄) sebanyak 5 ml (dilakukan didalam ruang asam). Kemudian diamkan beberapa menit sampai larutan tersebut dingin. Setelah dingin, kemudian diukur kandungan nitrat yang terdapat pada larutannya dengan menggunakan *spektrofotometer*.

Untuk larutan *Blanco* (pembanding) maka digunakan aquades dengan cara melakukan langkah seperti diatas.

Adapun cara menghitung NO₃ dengan menggunakan rumus :

$$\text{NO}_3 = \text{Nt} - \text{No}$$

Prosedur Penelitian di Laboratorium Pembuatan Media *Tryptose Sulfite Cycloserine* (TSC) Agar

Media yang digunakan pada analisis bakteri *C. perfringens* adalah TSC agar. Media selektif ini digunakan karena sesuai dengan sifat bakteri ini. Bakteri *Clostridium perfringens* akan mensintesa sulfid yang ada dalam proses metabolismenya.

Isolasi Bakteri *C. perfringens*

Penghitungan total bakteri *C. perfringens* dilakukan dengan metode tuang pada medium TSC agar, pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻⁵, dari tiap pengenceran diambil sebanyak 0,1 ml dan disebar ulaskan pada medium TSC agar, serta diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24-48 jam.

Rumus jumlah koloni bakteri *C. perfringens* menurut Fardiaz (1992) :

Jumlah bakteri (CFU/ml) = jumlah koloni x faktor pengenceran

Isolat bakteri yang didapat kemudian diidentifikasi berdasarkan morfologi (bentuk, ukuran dan warna) koloni, bentuk sel, pewarnaan Gram dan uji biokimia.

Identifikasi *C. Perfringens*

- **Pewarnaan Gram**

Sampel koloni yang diidentifikasi dengan pewarnaan gram diambil dengan menggunakan jarum ose steril, lalu dioleskan pada objek glass. Selanjutnya diberi 1 tetes larutan crystal violet, didiamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan akuades dan dikeringanginkan. Setelah itu diberi 1 tetes larutan iodin dengan perlakuan yang sama seperti sebelumnya. Kemudian objek glass diberi larutan alkohol 95% dan digoyangkan selama 15 detik. Kemudian ditetesi lagi alkohol 95% dan digoyangkan selama 15 detik kemudian dibilas dengan akuades. Objek glass ditetesi larutan safranin 1 tetes dan didiamkan selama 15 detik, kemudian dibilas menggunakan akuades dan ditutup dengan cover glass. Kemudian diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10 atau di bawah cahaya terangguna mendapatkan warna. Jika berwarna ungu maka sampel merupakan bakteri gram positif. Namun jika berwarna merah jambu atau kemerah-merahan maka sampel merupakan bakteri gram negatif.

- **Uji Motilitas**

Pengamatan untuk motilitas dilakukan dengan mengambil sel bakteri menggunakan jarum ose steril dan dioleskan pada objek glass. Selanjutnya ditetesi dengan aquades, lalu ditutup dengan cover glass. Kemudian diamati di bawah mikroskop pergerakan bakteri.

- **Uji Indol**

Tabung yang berisi media SIM disiapkan terlebih dahulu, bakteri

yang diambil dari biakan ditusukkan pada botol medium, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Bakteri yang sudah diinkubasi selama 24 jam diberikan larutan *reagen kovacs* sebanyak 5 tetes dan diamati perubahan warnanya. Hasil pengamatan jika positif media membentuk cincin diatas berwarna merah dan jika negatif media tidak membentuk cincin diatasnya atau tidak ada perubahan.

- **Uji Citrate**

Bakteri yang dimasukkan kedalam media TSC agar dipindahkan kedalam media miring *Simmon's Citrate* agar dan diinkubasi selama 1-4 hari pada suhu 28°C, kemudian diamati perubahan medianya. Hasil pengamatan, uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru. Sedangkan bakteri yang tidak mampu memfermentasi sitrate media berubah warna menjadi kuning.

- **Uji Katalase**

Uji katalase menggunakan hidrogen peroksida (H₂O₂ 3%), koloni diambil dari cawan petri dan digoreskan pada kaca objek yang kering. Teteskan H₂O₂ 3% sebanyak 2 -3 tetes pada usapan bakteri tersebut. Bila terbentuk gelembung udara, dinyatakan katalase positif.

- **Uji Sulfide (H₂S)**

Bakteri diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada medium tegak dan goresan pada medium miring, lalu inkubasikan selama 24 jam. Media yang digunakan adalah *Sulfide-Indol-Motility* (SIM) medium atau *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Hasil pengamatan positif jika terjadi warna kehitaman sepanjang goresan pada medium.

- **Uji Metil Red**

Bakteri diinokulasi menggunakan ose pada MR-VP (*methyl red-vogesproskauer medium*) inokulasi dalam waktu 24 jam pada suhu kamar, tambahkan 5 tetes *reagent methyl red*.

Hasil positif jika terbentuk warna merah dan negatif jika terbentuk warna kuning.

- **Uji Penggunaan Gula**

Bakteri yang diinokulasi ke dalam media TSC agar dipindahkan ke dalam Agar miring dan Agar tegak. Selanjutnya bakteri yang sudah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C diamati perubahan warna medianya. Hasil pengamatan jika Agar tegak berwarna merah dan Agar miring kuning menunjukkan hanya glukosa yang berfermentasi. Jika kedua Agar, baik Agar miring dan tegak berwarna merah menunjukkan glukosa dan sukrosa atau laktosa tidak berfermentasi, jika Agar tegak berwarna kuning dan Agar miring berwarna merah menunjukkan fermentasi laktosa atau sukrosa. Jika kedua Agar baik tegak atau miring berwarna kuning menunjukkan glukosa maupun sukrosa atau laktosa berfermentasi. Apabila terjadi penghitaman pada media Agar menunjukkan bakteri menghasilkan H₂S. Sedangkan apabila terjadi retakan pada media menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan gas.

- **Perhitungan Jumlah Bakteri Heterotrofik**

Sampel diencerkan menggunakan larutan fisiologis 0,9 gr NaCl dengan ditambahkan 1000 ml aquades, pengenceran dilakukan dengan ulangan 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ dimasukkan dalam tabung reaksi, setelah itu sampel dimasukkan dalam lautan fisiologis dengan pengenceran 10⁻¹ sebanyak 1 ml dan divortex sampai homogen, selanjutnya dari pengenceran 10⁻¹ diambil 1 ml dimasukkan dalam larutan fisiologis dengan pengenceran 10⁻² dan seterusnya sampai pengenceran 10⁻⁶. Pada pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ akan diambil sebanyak 0,1 ml dan ditumbuhkan pada media NA yang

salinitasnya disesuaikan dengan salinitas titik sampling.

Media yang ditumbuhkan bakteri diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C. Koloni yang tumbuh diamati secara mikroskopis meliputi perbedaan bentuk, ukuran, tekstur, dan warna. Koloni pada media Agar NA diambil secara acak dan dihitung jumlah koloninya.

- **Uji Resistensi Terhadap Antibiotik**

Langkah pertama pengambilan koloni bakteri yang telah tumbuh kemudian disuspensikan menggunakan NaCl 0,9%. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% lalu vortex untuk homogenisasi. Kemudian dipindahkan kedalam media LB (*Lactose Broth*) padat dengan menggunakan metode gores. Selanjutnya rendam antibiotik (*Chloramphenicol*, *Penicillin*, dan *Vancomycin*) yang berbentuk cakram (paperdisk antibiotik) tersebut dalam media LB padat dan Inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C, ukur diameter daya hambat yang terbentuk di sekitar cakram (*paperdisk* antibiotik) tersebut.

Analisis Data

Data persentase *C. perfringens* yang dijumpai pada sampel ditabulasikan menurut stasiun pengamatan. Selanjutnya hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif dan dihubungkan dengan parameter kualitas perairan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Perbandingan Jumlah Bakteri *C. perfringens* dan Bakteri Heterotrofik

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik dari kelima stasiun yang didapat dari perairan laut Dumai menunjukkan bahwa jumlah bakteri *C. perfringens* lebih rendah jika dibandingkan

dengan jumlah bakteri Heterotrofik yang berada pada kelima stasiun. Rata-rata jumlah bakteri *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik dari kelima stasiun dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Bakteri *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik pada Perairan Laut Dumai.

Stasiun	Titik Sampling	Jumlah bakteri <i>C. perfringens</i> (CFU/ml)	Jumlah bakteri Heterotrofik (CFU/ml)	Persentase (%)
I	1	$4,9 \times 10^5$	$8,4 \times 10^6$	
	2	$5,2 \times 10^5$	$9,8 \times 10^6$	
	3	$4,9 \times 10^5$	$10,9 \times 10^6$	
	Rata-rata	$5,0 \times 10^5$	$9,7 \times 10^6$	51.54
II	1	$3,1 \times 10^5$	$9,82 \times 10^6$	
	2	$2,3 \times 10^4$	$7,86 \times 10^6$	
	3	$4,6 \times 10^5$	$9,82 \times 10^6$	
	Rata-rata	$2,6 \times 10^5$	$9,17 \times 10^6$	2.83
III	1	$4,4 \times 10^5$	$10,0 \times 10^6$	
	2	$5,4 \times 10^5$	$9,1 \times 10^6$	
	3	$5,2 \times 10^5$	$8,9 \times 10^6$	
	Rata-rata	$1,5 \times 10^6$	$9,3 \times 10^6$	16.12
IV	1	3×10^5	$10,4 \times 10^6$	
	2	$4,1 \times 10^5$	$9,6 \times 10^6$	
	3	$2,1 \times 10^5$	$11,0 \times 10^6$	
	Rata-rata	$2,1 \times 10^5$	$10,3 \times 10^6$	2.03
V	1	$3,3 \times 10^5$	$9,75 \times 10^6$	
	2	$3,5 \times 10^5$	$8,57 \times 10^6$	
	3	$2,3 \times 10^5$	$3,79 \times 10^6$	
	Rata-rata	$3,03 \times 10^5$	$7,37 \times 10^6$	4.1

Keterangan : CFU : *Colony Forming Unit*

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat bahwa jumlah koloni bakteri *C. perfringens* berkisar antara $2,1 \times 10^5 - 1,5 \times 10^6$. Jumlah koloni bakteri *C. perfringens* tertinggi pada stasiun 3 dengan nilai rata-rata $1,5 \times 10^6$ dan terendah pada stasiun 4 dengan nilai rata-rata $2,1 \times 10^5$.

Berdasarkan Tabel 1. juga dapat dilihat bahwa jumlah koloni bakteri Heterotrofik berkisar antara $7,37 \times 10^6 - 10,38 \times 10^6$ CFU/ml. Jumlah koloni bakteri Heterotrofik tertinggi pada stasiun 4 dengan nilai rata-rata $10,3 \times 10^6$ dan terendah pada stasiun 5 dengan nilai rata-rata $7,37 \times 10^6$ CFU/ml.

Pengamatan Morfologi dan Biokimia Bakteri *C. perfringens*

Dari hasil isolasi yang dilakukan maka didapat total 25 isolat bakteri yang ditanam pada media selektif. 25 koloni bakteri selanjutnya dilakukan pengamatan secara morfologi. Pengamatan morfologi meliputi bentuk, warna, ukuran, elevasi, dan bentuk pinggiran. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri *C. perfringens*

No	Nama Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Tepian	Elevasi
1	CP1	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
2	CP2	Hitam	Bulat	Licin	Cembung
3	CP3	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
4	CP4	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
5	CP5	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
6	CP6	Hitam	Bulat	Licin	Cembung
7	CP7	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
8	CP8	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
9	CP9	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
10	CP10	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
11	CP11	Hitam	Bulat	Licin	Cembung
12	CP12	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
13	CP13	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
14	CP14	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
15	CP15	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
16	CP16	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
17	CP17	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
18	CP18	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
19	CP9	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
20	CP20	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
21	CP21	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
22	CP22	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
23	CP23	Coklat	Bulat	Licin	Cembung
24	CP24	Hitam	Bulat	Licin	Cembung
25	CP25	Coklat	Bulat	Licin	Cembung

Berdasarkan Tabel 2. dapat dilihat bahwa morfologi isolat bakteri yang diduga bakteri *Clostridium perfringens* pada media TSC umumnya berwarna coklat dan terdapat juga koloni yang berwarna hitam dengan bentuk bulat, tepian licin, dan elevasi cembung.

Hasil Uji Biokimia Bakteri *C. perfringens*

Uji Biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan menentukan bakteri melalui sifat fisiologis, karena secara morfologis biakan ataupun sel bakteri yang berbeda dapat tampak serupa. Uji yang dilakukan meliputi uji pewarnaan gram, motilitas, indol, citrate, katalase, sulfide, methyl red dan uji gula. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri *C. perfringens*

No	Nama Isolat	Gram	Motilitas	Indol	Citrate	Katalase	Sulfide (H ₂ S)	Methyl Red	Uji Gula
									G L S
1	CP1	-	-	+	+	+	+	-	- + +
2	CP2	-	-	+	+	+	+	-	- + +
3	CP3	-	-	+	+	+	+	-	- + +
4	CP4	-	-	+	+	+	+	-	- + +
5	CP5	-	-	+	+	+	+	-	- + +
6	CP6	-	-	+	+	+	+	-	- + +
7	CP7	-	-	+	+	+	+	-	- + +
8	CP8	-	-	+	+	+	+	-	- + +
9	CP9	-	-	+	+	+	+	-	- + +
10	CP10	-	-	+	+	+	+	-	- + +
11	CP11	-	-	+	+	+	+	-	- + +
12	CP12	-	-	+	+	+	+	-	- + +
13	CP13	-	-	+	+	+	+	-	- + +
14	CP14	-	-	+	+	+	+	-	- + +
15	CP15	-	-	+	+	+	+	-	- + +
16	CP16	-	-	+	+	+	+	-	- + +
17	CP17	-	-	+	+	+	+	-	- + +
18	CP18	-	-	+	+	+	+	-	- + +
19	CP9	-	-	+	+	+	+	-	- + +
20	CP20	-	-	+	+	+	+	-	- + +
21	CP21	-	-	+	+	+	+	-	- + +
22	CP22	-	-	+	+	+	+	-	- + +
23	CP23	-	-	+	+	+	+	-	- + +
24	CP24	-	-	+	+	+	+	-	- + +
25	CP25	-	-	+	+	+	+	-	- + +

Keterangan : G : Glukosa; S : Sukrosa; L : Laktosa.

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat bahwa ke 25 isolat bakteri *C. perfringens* gram positif, non motil, sitrat, katalase positif, H₂S menghasilkan sulfida, *methyl red* positif, dan pada uji gula isolat mampu memfermentasi glukosa saja.

Hasil Uji Resistensi Bakteri *C. perfringens* Terhadap Antibiotik

Uji dilakukan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik. Ketahanan bakteri akan dilihat berdasarkan daerah hambat yang terbentuk.

Hasil uji resistensi bakteri *Clostridium perfringens* terhadap antibiotik dengan nilai rata-rata dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-Rata resistensi Bakteri *C. perfringens* terhadap Antibiotik

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)		
	Chloramphenicol	Penicilin	Isoniazid
CP1	16.96	23.30	9.20
CP2	13.6	20.70	7.37
CP3	13.1	21.96	2.83
CP4	13.7	20.46	3.63
CP5	19.33	22.3	2.67
CP6	15.10	21.46	4.03
CP7	15.40	20.53	2.27
CP8	11.90	22.73	2.50
CP9	14.93	21.20	2.37
CP10	12.33	20.80	4.67
CP11	13.93	21.23	3.40
CP12	18.63	23.00	2.50
CP13	17.47	22.96	3.07
CP14	16.7	22.73	1.50
CP15	16.6	22.23	2.43
CP16	12.5	20.83	1.67
CP17	13.2	22.37	2.03
CP18	24.5	22.46	4.30
CP19	13.83	21.66	4.03
CP20	13.76	20.56	3.80
CP21	15.6	26.00	2.83
CP22	15.16	23.63	2.67
CP23	14.53	24.63	3.63
CP24	14.50	24.36	3.97
CP25	14.80	22.76	7.10

Berdasarkan rata-rata hasil pengujian terhadap antibiotik *Chloramphenicol* bahwa semua isolat bakteri termasuk Intermediet dengan zona hambat berkisar antara 11,90 – 19,33 mm, sedangkan pada pengujian terhadap antibiotik Penicillin bahwa semua isolat bakteri termasuk sensitif dengan zona hambat berkisar 20,46 – 26,00 mm dan pada pengujian antibiotik *Isoniazid* bahwa semua isolat bakteri termasuk Resistensi dengan zona hambat berkisar 1,67 – 9,20 mm.

Pembahasan

Densitas bakteri *C. perfringens* dan bakteri Heterotrofik

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah kepadatan bakteri *C. perfringens* dan bakteri heterotrofik di keima stasiun, jumlah kepadatan tertinggi untuk *C. perfringens* berada di stasiun 3 yaitu daerah pelabuhan ini disebabkan karena pada stasiun 3 kondisi perairan sudah terkontaminasi oleh tumpahan minyak yang menutupi penetrasi matahari yang menghambat proses fotosintesis bakteri-bakteri lain yang ada di perairan dan *C. perfringens* merupakan salah satu bakteri yang dapat bertahan hidup di lingkungan ekstrim dilihat pada salah satu karakteristiknya sebagai jenis bakteri anaerob. Selama bertahun-tahun, polusi bahan organik perairan telah terus meningkat karena meningkatnya limbah industri dan domestik (Allada, V and B. Kondalarao dalam Feliatra *et al* 2019)

Bakteri heterotrofik ditemukan dengan jumlah paling banyak di stasiun 4. Distribusi bakteri heterotrofik dalam laut tidak merata. Hal ini disebabkan faktor sumber nutrisi, kedalaman laut dan habitat pada ekosistem laut (seperti sungai, danau, estuari, mangrove, laut dangkal dan laut dalam). Pada zona littoral dan sublittoral pada umumnya, kandungan bakterinya lebih tinggi, dan jenisnya lebih banyak dibandingkan pada zona abissal atau hadal. Pada Hal ini disebabkan faktor komponen abiotik seperti penetrasi cahaya matahari, temperatur, pasang surut dan bahan-bahan organik terlarut banyak tersedia. Adanya hubungan timbal balik antara organisme pelagik terutama plankton golongan tumbuhan (fitoplankton), sangat berperan dalam proses fotosintesa yang akan menghasilkan bahan organik dan oksigen yang sangat dibutuhkan oleh bakteri heterotrofik dan biota laut lainnya.

Uji Resistensi Bakteri *C. perfringens*

Uji sensitifitas dilakukan dengan menggunakan antibiotik *Choramfinicol*, *Penicilin*, dan *Isoniazid*. Uji ini dilakukan untuk menetapkan sensitifitas suatu antibiotik dengan mengukur efek senyawa tersebut pada pertumbuhan suatu mikroorganisme serta berhubungan dengan waktu inkubasi untuk melihat antibiotik mana yang kerjanya lebih cepat menghambat atau membunuh mikroba.

Uji sensitifitas menggunakan metode difusi dengan prinsip dari metode ini adalah penghambatan terhadap pertumbuhan mikroorganisme, yaitu zona hambatan akan terlihat sebagai daerah jernih di sekitar cakram kertas yang mengandung zat antibakteri. Diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap zat antibakteri. Selanjutnya dikatakan bahwa semakin lebar diameter zona hambatan yang terbentuk bakteri tersebut semakin sensitif (Gaman *et al.*, 1992).

Hasil pengujian, semua isolat merespon terhadap antibiotik yang diberikan, dimana pengujian *C. perfringens* terhadap antibiotik *Choramphenicol* menunjukkan hasil *Intermediate*, pada pengujian antibiotik *Penicilin* menunjukkan hasil sensitif, dan pada *Isoniazid* termasuk resisten, dapat dilihat pada tabel 4.

Sensitivitas adalah suatu keadaan dimana mikroba sangat peka terhadap antibiotik atau sensitivitas adalah kepekaan suatu antibiotik yang masih baik untuk memberikan daya hambat terhadap mikroba. *Intermediate* adalah suatu keadaan dimana terjadi pergeseran dari keadaan sensitif ke keadaan yang resisten tetapi tidak resisten sepenuhnya. Resistensi antibiotika ialah kemampuan dari bakteri atau mikroorganisme lain untuk menahan efek antibiotika. Resistensi antibiotika terjadi ketika bakteri dapat merubah diri, dan dapat mengurangi efektifitas dari suatu obat, bahan kimia ataupun zat lain yang sebelumnya dimaksudkan untuk menyembuhkan atau mencegah penyakit

infeksi sehingga mengakibatkan bakteri tersebut tetap dapat bertahan hidup (Suwandi, 2003).

Kloramfenikol bersifat bakteriostatik dan memiliki spektrum luas dan aktif terhadap masing-masing bakteri gram positif dan negatif baik yang *aerob* maupun *anaerob*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian yang telah diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Densitas bakteri *C. perfringens* tertinggi pada stasiun 3 dan terendah pada stasiun 4.
2. Jumlah bakteri heterotrofik pada setiap stasiun lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah bakteri *C. perfringens*.
3. Rata-rata hasil pengujian terhadap antibiotik *Chloramphenicol* ditemukan bahwa semua isolat bakteri termasuk *Intermediate*, sedangkan pada pengujian terhadap antibiotik *penicillin*, semua isolat bakteri termasuk sensitif, dan pada pengujian antibiotik *isoniazid* diperoleh bahwa semua isolat bakteri termasuk resisten.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kondisi fisik yang mempengaruhi aktivitas pertumbuhan bakteri serta uji kandungan senyawa antibakteri yang dihasilkan oleh bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Aviya, M., N. Gomez-Torres, M. Hernandez, S. Garde. 2014. *Inhibitory Activity of Reuterin, Nisin, Lysozyme and Nitrite against Vegetative Cells and Spores of Dairy-related Clostridium species*. *Int. J. Food Microbiol.* 172:70-75.

- Fardiaz, Srikandi. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. PT Gramedia Pustaka Utama : Jakarta.
- Feliatra, Y. Fitria, dan Nursyirwani. 2012. Antagonis Bakteri Probiotik yang Diisolasi dari Usus dan Lambung Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*: Pekanbaru.
- Feliatra, Syahrul, D. Yoswaty. 2013. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Pekanbaru: Faperika Press.
- Feliatra, Effendi, dan Yanti, 2018. Characteristic Genetics of Heterotrophic Bacteria in Siak River Estuary, Riau Province, Indonesia as Prospective Antipathogenic Bacteria to Fish and Shrimps. Marine Microbiology Lab Department of Marine Science, Fisheries and Marine Sciences Faculty, University of Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia.
- Feliatra, Rizki Hamdani, Iesye Lukystyowati, dan Irvina Nurachmi, 2019. Sensitivity of Heterotrophic Bacteria in the Low-Salinity Water Areas and Estuary in Siak District toward Pathogenic Bacteria in Fish. Marine Microbiology Lab Department of Marine Science, Fisheries and Marine Sciences Faculty, University of Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia.
- Gaman, P. M., dan K. B. Sherrington., 1992. *Ilmu Pangan : Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi, dan Mikrobiologi*, Edisi Kedua, Yogyakarta, UGM-Press.
- Indra, D.Y., Efriyeldi. 2013. Anlalysis Of Bacteri Clostridium Perfringens on tembakul (periopthalmodon Schlosseri) In The Coastal Waters Of The District Of West Dumai. *JOM. Universitas Riau*. 1 :10.
- Meeilani, 2017. Analisis Tingkat Pencemaran Sungai Akibat Limbah Industri Karet Di Kabupaten Bengkulu Tengah. *Jurnal UMJ*. 2460 : 8416
- Suwandi, U. 2003. *Perkembangan Antibiotik*. Cermin Dunia Kedokteran No. 83. Pusat Penelitian dan Pengembangan PT. Kalbe Farma, Jakarta