

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI ANAEROB PENGURAI BAHAN ORGANIK DARI SUNGAI TERCEMAR LIMBAH DOMESTIK RUMAH TANGGA

Huuriyah Alfiatus Syarofah¹⁾, Firdaus Kamil Indatun Nikmah²⁾, Syohibul Burhan³⁾,
Muzzayanatul Hasanah⁴⁾, Isyaroh Khairatun Nisa⁵⁾, Aldy Maulana⁶⁾, Nurul Avidhah Elhany^{7*)}
^{1,2,3,4,5,6,7} Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian, Sains dan Teknologi
Universitas Abdurachman Saleh Situbondo
*Email : nurul_avidhah@unars.ac.id

Abstrak

Pencemaran sungai akibat limbah domestik rumah tangga dapat meningkatkan kandungan bahan organik yang berdampak pada perubahan komunitas mikroorganisme perairan, termasuk bakteri anaerob. Bakteri anaerob memiliki peran penting dalam proses penguraian bahan organik serta siklus biogeokimia di lingkungan perairan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri anaerob pengurai bahan organik dari air Sungai Patokan, Situbondo, yang tercemar limbah domestik rumah tangga. Penelitian dilaksanakan pada bulan September–Desember 2025. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode cawan tuang pada media Tryptic Soy Agar (TSA) dengan tingkat pengenceran hingga 10^{-6} dan diinkubasi selama ± 4 hari pada suhu 36°C . Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan pengamatan karakteristik makroskopis koloni, pewarnaan Gram, serta pengamatan mikroskopis yang selanjutnya dibandingkan dengan Bergey's Manual of Determinative Bacteria dan Cowan and Steel's Manual. Hasil penelitian menunjukkan adanya dua isolat bakteri anaerob, yaitu isolat A1 yang teridentifikasi sebagai *Clostridium* sp. (bakteri Gram positif berbentuk batang dengan endospora) dan isolat A2 yang teridentifikasi sebagai *Thiobacillus denitrificans* (bakteri Gram negatif berbentuk batang).

Kata kunci: Bakteri anaerob, Limbah domestik, Sungai patokan, *Clostridium* sp, *Thiobacillus denitrificans*

Abstract

River pollution caused by domestic household waste increases organic matter content and alters microbial communities, including anaerobic bacteria. Anaerobic bacteria play an essential role in organic matter decomposition and biogeochemical cycles in aquatic ecosystems. This study aimed to isolate and identify anaerobic bacteria involved in organic matter degradation from the Patokan River, Situbondo, which is contaminated by domestic household waste. The research was conducted from September to December 2025. Bacterial isolation was carried out using the pour plate method on Tryptic Soy Agar (TSA) with serial dilutions up to 10^{-6} , followed by incubation for approximately four days at 36°C . Bacterial identification was based on macroscopic colony characteristics, Gram staining, and microscopic observations, which were compared with Bergey's Manual of Determinative Bacteria and Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. The results showed two anaerobic bacterial isolates: isolate A1 identified as *Clostridium* sp., a Gram-positive rod-shaped bacterium with endospore formation, and isolate A2 identified as *Thiobacillus denitrificans*, a Gram-negative rod-shaped bacterium.

Keywords: Anaerobic bacteria, Domestic waste, Patokan river, *Clostridium* sp., *Thiobacillus denitrificans*

PENDAHULUAN

Sungai merupakan salah satu ekosistem perairan yang berperan penting dalam menunjang kehidupan manusia, baik sebagai sumber air, sarana irigasi, maupun sebagai tempat pembuangan limbah. Namun, meningkatnya aktivitas manusia, khususnya di kawasan permukiman, menyebabkan sungai sering menerima limpasan limbah domestik rumah tangga. Limbah domestik umumnya mengandung bahan organik tinggi yang dapat menurunkan kualitas air dan memicu pencemaran lingkungan perairan. Kondisi ini berpengaruh terhadap keseimbangan ekosistem sungai, termasuk perubahan komposisi dan aktivitas mikroorganisme (Ratnasari dkk, 2023).

Keberadaan bahan organik yang melimpah di perairan sungai tercemar limbah domestik akan mendorong aktivitas mikroorganisme pengurai, terutama bakteri. Pada kondisi tertentu, seperti rendahnya kadar oksigen terlarut, bakteri anaerob akan berkembang dan berperan dalam proses dekomposisi bahan organik. Bakteri anaerob mampu menguraikan senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana serta berperan dalam siklus biogeokimia, khususnya siklus karbon, nitrogen, dan sulfur. Oleh karena itu, bakteri anaerob memiliki peran ekologis yang penting dalam menjaga keseimbangan lingkungan perairan yang tercemar (Elhany & Husnudin, 2023).

Sungai Patokan di Kabupaten Situbondo merupakan salah satu sungai yang menerima limbah domestik rumah tangga dari aktivitas masyarakat di sekitarnya. Pencemaran ini diduga menyebabkan meningkatnya kandungan bahan organik yang berpotensi mempengaruhi keberadaan dan aktivitas bakteri anaerob. Informasi mengenai jenis bakteri anaerob yang terdapat pada perairan sungai tercemar limbah domestik masih terbatas, khususnya di wilayah Situbondo.

Berdasarkan latar belakang tersebut, diperlukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri anaerob dari perairan Sungai Patokan yang tercemar limbah domestik rumah tangga. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai jenis bakteri anaerob yang berperan dalam penguraian bahan organik serta kontribusinya terhadap siklus biogeokimia di perairan sungai tercemar.

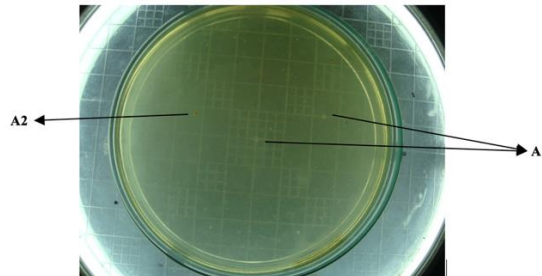
METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dari bulan September-Desember 2025. Sampel air sungai diperoleh dari sungai Patokan Situbondo yang tercemar limbah domestik rumah tangga. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode cawan tuang pada media TSA. Media TSA merupakan media bernutrisi tinggi yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi berbagai macam bakteri dan jamur yang bersifat aerobik dan anaerobik (Goktope, et al. 2005). Isolasi bakteri dilakukan dengan cara mengencerkan sampel air sungai sampai pengenceran 10^{-6} . Sampel kemudian dituang 1 ml ke dalam cawan petri yang berisi media TSA. Kemudian dilakukan inkubasi selama ± 4 hari pada suhu 36°C . Hasil isolasi bakteri kemudian dihitung dan diidentifikasi dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA kemudian dilanjutkan dengan uji pewarnaan gram dan pengamatan karakteristik mikroskopik menggunakan mikroskop (Elhany *et al.* 2022). Identifikasi bakteri dilakukan menggunakan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteria

dan Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria (3rd Ed) (Elhany, 2023).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi mikroba, didapatkan 2 koloni bakteri anaerob pada cawan petri setelah inkubasi selama 4 hari. Koloni bakteri tersebut diberi label A1 dan A2 seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



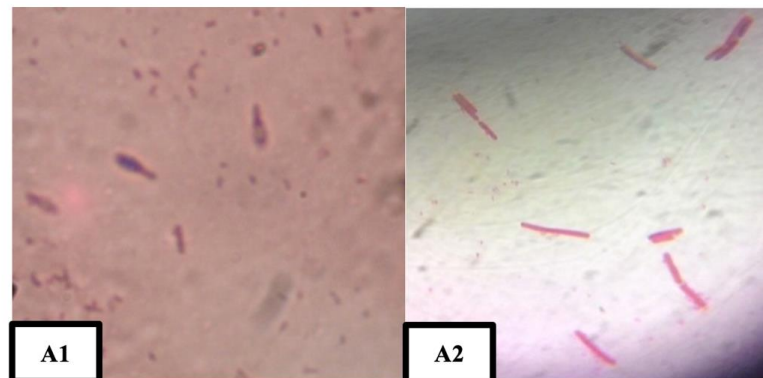
Gambar 1. Koloni Bakteri A1 dan A2 Hasil Isolasi

Dari hasil isolasi tersebut kemudian selanjutnya dilakukan pengamatan makroskopis dimana diperoleh hasil bahwa A1 berbentuk bulat, berwarna putih, tepi tidak rata, elevasi koloni datar, letak terbenam di dalam media. Sedangkan koloni A2 adalah berbentuk bulat, berwarna krem, tepi rata, elevasi koloni cembung, letak terbenam dalam media.

Tabel 1. Karakteristik Koloni Mikroba Anaerob Hasil Isolasi

Kode Koloni	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Elevasi Koloni	Letak
A1	Putih	Bulat	Tidak Rata	Datar	Terbenam dalam media
A2	Krem	Bulat	Rata	Cembung	Terbenam dalam media

Hasil pewarnaan gram yang dilakukan pada kedua koloni menunjukkan bahwa A1 merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dan terdapat bentukan khas menyerupai *drum stick*, terlihat terdapat endospora. Koloni A2 setelah dilakukan pewarnaan didapat hasil bahwa A2 merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang.



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram. Koloni A1 adalah Gram positif batang menyerupai *drumstick*; koloni A2 adalah batang gram negatif (perbesaran 1000X)

Berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis, kami berkesimpulan bahwa isolat bakteri anaerob pada sampel air seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Bakteri Anaerob pada air sungai

No.	Kode isolat	Hasil identifikasi
1.	A1	<i>Clostridium</i> sp.
2.	A2	<i>Thiobacillus</i> sp.

Koloni A1 kami identifikasi sebagai *Clostridium* karena memiliki bentuk sel yang khas menyerupai *drum stick* dan menghasilkan endospora, hal tersebut yang membedakan *Clostridium* dengan bakteri batang positif lainnya. Spesies golongan Clostridia termasuk mikroba anaerob obligat dimana tidak memiliki perlindungan terhadap radikal oksigen bebas yang dapat mematikan sel itu sendiri.

Karakteristik *Clostridium* antara lain berbentuk batang, anaerob obligat, gram positif, dapat merusak protein atau membentuk toksin, spora Clostridia biasanya lebih besar daripada diameter batang tempat spora dibentuk dan sebagian besar bergerak karena mempunyai flagel peritrikus. Ketika lingkungan tidak mendukung pertumbuhan, maka bakteri akan mulai memproduksi spora yang dapat bertahan dan toleran terhadap beberapa kondisi ekstrim (Avian Biotech, 2009).

Beberapa spesies *Clostridium* dapat memproduksi eksotoksin yang dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti tetanus, botulism, sindrom PDD, Toksin ini relatif stabil pada suhu tinggi tetapi dapat dihancurkan dengan proses perebusan. Ada 3 tipe toksin yang dihasilkan yaitu toksin tipe A dan C yang dapat menginfeksi unggas, dan tipe B yang menyebabkan penyakit pada manusia (Avian Biotech, 2009). Spesies dari *Clostridium* yang banyak mendapatkan perhatian dari saintis adalah *Clostridium tetani*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, dan *Clostridium botulinum*.

Koloni A2 kami identifikasi sebagai *Thiobacillus denitrificans*, hal ini berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. *T. denitrificans* merupakan kelompok proteobacteria uniseluler pengoksidasi sulfur yang bersifat kemoautotrof. Sel bakteri berbentuk batang, termasuk gram negatif, dan berflagel polar. *T. denitrificans* merupakan bakteri anaerob fakultatif. Bakteri ini mereduksi senyawa nitrogen seperti nitrat dan nitrit menjadi senyawa dinitrogen. Suhu optimum untuk denitrifikasi adalah 32,8°C dan pH 6,85, sedangkan untuk pertumbuhan optimum pada suhu 29,5°C dan pH 6,90.

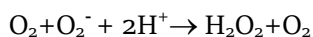
T. denitrificans menggunakan sulfida sebagai sumber energinya dan nitrat sebagai aseptor elektron pada kondisi anaerob. Garam amonium dan nitrat digunakan sebagai sumber N bagi bakteri tersebut. Kemampuan *T. denitrificans* dalam oksidasi-reduksi sulfur pada kondisi lingkungan kaya nitrat secara anaerob berhubungan dengan siklus biogeokimia terutama sulfur dan nitrogen. Distribusi yang luas dari *T. denitrificans* ini membuktikan bahwa bakteri ini memainkan peranan pada siklus biogeokimia. *T.*

denitrificans banyak ditemukan pada tanah, lumpur, perairan tawar, sedimen laut, dan pada daerah pertambangan.

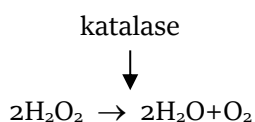
Bakteri ini merupakan organisme dominan pada habitat yang kaya akan nitrat. Bakteri ini biasanya digunakan untuk bioremediasi nitrat, dimana jika nitrat ini melimpah di lingkungan bisa menyebabkan eutrofikasi. Tidak hanya mereduksi nitrat, bakteri ini mampu mereduksi nitrit juga. *T. denitrificans* merupakan autotrofik denitrifier yang memiliki keuntungan kompetitif karena bakteri ini tidak membutuhkan sumber karbon eksternal pada proses denitrifikasi dan tidak menghasilkan banyak limbah.

T. denitrificans juga merupakan organisme *sulfide-removal* pada daerah-daerah yang banyak terdapat kandungan sulfit. Senyawa sulfur dapat menyebabkan keracunan, polusi udara, korosi. Oksidasi sulfit secara aerob banyak dipilih untuk mereduksi sulfit pada pembuangan industri, tetapi jika terdapat nitrat dan sulfit maka proses denitrifikasi lebih dipilih dengan menggunakan bakteri *T. denitrificans* (Campbell and Rui Chen, 2011).

Oksigen merupakan senyawa penting bagi organisme aerob, tetapi menjadi senyawa toksik bagi organisme anaerob, terutama anaerob obligat. Toksisitas oksigen ini dikarenakan terbentuknya senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) yang berbahaya dan superoksida (O_2^-) yang merupakan radikal bebas yang sangat toksik. Untuk menghilangkan sifat toksik dari senyawa yang terbentuk tersebut maka diperlukan enzim superoksida-dismutase (SOD) yang menyebabkan reaksi :



kemudian dilanjutkan oleh enzim katalase dan reaksi menjadi :



sehingga dihasilkan senyawa air dan oksigen yang tidak berbahaya. Bakteri aerob memiliki kedua enzim tersebut sehingga dapat hidup pada kondisi dengan oksigen. Bakteri anaerob tidak memiliki kedua enzim tersebut sehingga tidak dapat hidup, sedangkan bakteri anaerob fakultatif hanya memiliki enzim SOD yang menjadikannya masih dapat toleran dengan keberadaan oksigen (Savira, 2011).

KESIMPULAN

Hasil identifikasi mikroba pada sampel air sungai tercemar limbah rumah tangga adalah bakteri *Clostridium* sp. dan *Thiobacillus denitrificans*.

REFERENSI

AvianBiotech. 2009. Clostridium. www.avianbiotech.com/diseases/clostridium.htm

Campbell, Emily, Rui Chen. 2011. Thiobacillus denitrificans. www.microbewiki.kenyon.edu/index.php/Thiobacillus_denitrificans

- Elhany, NA, Husnudin, UB. 2022. Uji Sensitivitas Bakteri Tahan Logam Berat Pada Perairan Sungai Driyorejo Gresik. Jurnal Indigenous 5(2):73-78
<https://doi.org/10.33323/indigenous.v5i2.321>
- Elhany, NA, Husnudin, UB. 2023. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tahan Logam Berat pada Perairan Sungai Driyorejo Gresik. Jurnal Biogenic 1(1):28-33
<https://doi.org/10.36841/biogenic.v1i1.2899>
- Rahman,A.T., Elhany, N.A., Fajar. M.T.I. 2025. Isolasi dan identifikasi Mikroba Pada Sampel Minuman Youghurt Drink di Alun-Alun Situbondo. Jurnal Prima Eksakta 2(2) : 7-14
- Ratnasari, D, Elhany,NA, Fajar, MTI. 2023. Uji Kualitas Air Sungai di Desa Sumberkolak Kecamatan Panarukan Kabupaten Situbondo. Jurnal Biogenic 1(2):12-20
<https://doi.org/10.36841/biogenic.v1i2.3749>
- Savira, Maya. 2011. Bakteri Anaerob. <https://fkur2011.files.wordpress.com>
- Shovitri, Maya, Kuswytasari, Rachmasari. 2011. Anaerobic Bacteria for Biogas Production through an Organic Waste Bioremediation. Seminar Nasional Teori dan Aplikasi Teknologi Kelautan.
- Wagner, G. H. & D.C. Wolf. 1997. Carbon transformation and soil organic matter formation. p 218-258. *In* D.M. Silvia, J.J. Fuhrmann, P.G. Hartel, & D.A Zuberer (Eds.) Principles and Applications of Soil Microbiology. Prentice Hall. New Jersey.