

**KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN BOKIMIA BAKTERI
YANG DIISOLASI DARI CANDI ARGOSUMO
SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Sarjana Sains dalam Ilmu Biologi



Oleh: **IBNU SINA RAFIQ ROMAWAN**

NIM: 1908016053

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2023**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ibnu Sina Rafiq Romawan
NIM : 1908016053
Program studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN BIOKIMIA BAKTERI YANG DIISOLASI DARI CANDI ARGOSUMO

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri
kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya

Semarang, 22 Juni 2023
Pembuat pernyataan



Ibnu Sina Rafiq Romawan
NIM. 1908016053



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka, Ngaliyan, Semarang
Telp. 024-7601295 Fax. 7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini


Judul : Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Bakteri yang Diisolasi
dari Candi Argosumo
Penulis : Ibnu Sina Rafiq Romawan
NIM : 1908016053
Program Studi : Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan
Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar
sarjana dalam Ilmu Biologi.

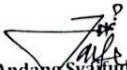
Semarang, 3 Juli 2023

DEWAN PENGUJI


Penguji I


Tara Puri Ducha Rahmani, M.Sc.
NIP: 198806132019032011


Penguji II


Andang Syafiqudin, M.Sc.
NIP: 198907192019031010


Penguji III


Eko Purnomo, M. Si.
NIP: 198604232019031010

Penguji IV


Asri Febriana, M. Si.
NIP: 198902012019032015

Dosen Pembimbing I


Tara Puri Ducha Rahmani, M.Sc.
NIP: 198806132019032011

Dosen Pembimbing II


Andang Syafiqudin, M. Sc.
NIP: 198907192019031010



NOTA DINAS

Semarang, 22 Juni 2023

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamualaikum wr. wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Karakterisasi Morfologi dan Biokimia
Bakteri Yang Diisolasi dari Candi
Argosumo

Penulis : Ibnu Sina Rafiq Romawan

NIM : 1908016053

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr. wb

Pembimbing 1

Tara Puri Dacha Rahmani M. Sc
NIP. .198806132019032011

NOTA DINAS

Semarang, 20 Juni 2023

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamualaikum wr. wb

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : Karakterisasi Morfologi dan Biokimia
Bakteri Yang Diisolasi dari Candi
Argosumo

Penulis : Ibnu Sina Rafiq Romawan

NIM : 1908016053

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr.wb

Pembimbing 2



Andang Syaifudin M.Sc
NIP. 198907192019031010

ABSTRAK

Biodeteriorasi batuan candi di Indonesia menjadi masalah dalam usaha menjaga kelestarian candi di Indonesia, Candi Argosumo menjadi salah satu masalah biodeteriorasi pada batuan candi. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis dan mengidentifikasi hasil karakterisasi dari isolasi bakteri Candi Argosumo. Penelitian ini dilakukan laboratorium mikrobiologi UIN Walisongo Semarang. Penelitian dilakukan pada Januari sampai April 2023. Pengambilan sampel bertempat di Candi Argosumo, Desa Nglimut, Kecamatan Limbangan, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah. Metode penelitian yang dilakukan yaitu pengambilan sampel, penumbuhan bakteri sampel, pengamatan koloni, subkultur sampel, pewarnaan Gram, pengujian biokimia, dan identifikasi menggunakan buku panduan *Bergey's Determination*. Hasil pengamatan didapatkan bakteri Gram negatif berbentuk batang dan bakteri Gram positif berbentuk *cocci*. Pada identifikasi menggunakan buku panduan *Bergey's Determination* didapatkan 2 genus bakteri yaitu *Klebsiella sp.* dan *Corynebacterium*.

Kata kunci: Bakteri, Karakterisasi Candi Argosumo, Uji Biokimia.

ABTRACT

Biodeterioration of temple stones in Indonesia is a problem in efforts to preserve temples in Indonesia, Argosumo Temple is one of the problems with biodeterioration of temple stones. This study's objective was to analyze and characterize the bacterial isolate of Candi Argosumo and to identify its results. This research was conducted by the microbiology laboratory of UIN Walisongo Semarang. The study was conducted from January to April 2023. Sampling took place at Argosumo Temple, Nglimut Village, Limbangan District, Kendal Regency, Central Java. The research method used was sampling, growing bacterial samples, observing colonies, subculture samples, Gram staining, biochemical testing, and assistance using the Bergey Determination manual. The results of observations of Gram-negative bacteria in the form of rods and Gram-positive cocci were obtained. With assistance using the Bergey's Determination guidebook, 2 genera of bacteria were found, namely Klebsiella sp. and Corynebacterium.

Keyword: Bacteria, Argosumo Temple, Characterization, Biochemical Test

TRANSLITERASI

Penulisan transliterasi huruf-huruf Arab latin dalam skripsi ini berpedoman pada SKB Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Ri Nomor: 158/1987 dan nomor: 0543b/U/1987. Penyimpangan penulisan kata sandang (al-) disengaja secara konsisten supaya sesuai teks Arabnya.

ا	A	ط	T
ب	B	ظ	Z
ت	T	ع	'
ث	S	غ	G
ج	J	ف	F
ح	H	ق	Q
خ	KH	ك	K
د	D	ل	L
ذ	Z	م	M
ر	R	ن	N
ز	Z	و	W
س	S	ها	H
ش	SY	ء	'
ص	S	ي	Y
ض	D		

Bacaan Mad:

a > = a Panjang

i > = I Panjang

u > = u panjang iy = اي

Bacaan Diftong:

au = او

ai = اي

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT atas rahmat dan hidayahnya yang senantiasa terlimpahkan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Bakteri yang Diisolasi dari Candi Argosumo”**. sebagai salah satu syarat guna menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan inspirasi dan menuntun umat manusia menuju jalan yang lurus dan juga menjadi anugerah terbesar bagi dunia dan seisinya penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan pihak lain sehingga pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Taufiq, M.Ag, selaku Rektor UIN Walisongo Semarang;
2. Dr. Ismail, M.Ag, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang;
3. Dr. Baiq Farhatul Wahidah, M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi;
4. Ibu Tara Puri Ducha Rahmani, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Skripsi I yang selalu bersabar merevisi, memberikan ide ide selama penelitian serta memberikan arahan dalam penulisan skripsi;

5. Bapak Andang Syaifudin, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Skripsi II yang juga sabar mengoreksi dari proposal hingga skripsi.
6. Sumiati, S.Pd., pak Erwin, laboran, staf dan juga asisten laboratorium Biologi UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan izin dan membantu penelitian;
7. Dosen dan segenap civitas akademik Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan banyak ilmu;
8. Kedua orang tua saya Bapak Masruri dan Ibu Iin Oneawanti yang senantiasa memberikan dukungan baik moral maupun materi serta memberikan doa atas kelancaran selama menyelesaikan perkuliahan dan penulisan skripsi;
9. Bapak penjual kaos di pemandian air panas Limbangan yang memberikan navigasi arah pengambilan sampel, mohon maaf belum sempat berkenalan;
10. Teman - teman keluarga Biologi 2019 yang sedang berjuang meniti mimpinya masing masing;
11. Teman-teman Jemaat Goahiro yang telah memberikan dukungan;
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan kontribusi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini;
13. Diriku sendiri yang selalu bersyukur, berani, dan sabar

Semoga yang diucapkan terimakasih mendapatkan balasan setimpal dari Allah SWT. Bahwasanya penulis menyadari adanya kesalahan maupun kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran untuk memperbaiki kesalahan dan kekurangan. Penulis berharap agar skripsi yang telah dilakukan bisa bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, pembaca, serta masyarakat, Aamiin.

Semarang, 11 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	iii
NOTA DINAS	iv
ABSTRAK	vi
TRANSLITERASI	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Bakteri	6
B. Pewarnaan Gram	8
C. Metabolisme Bakteri.....	10
D. Candi Argosumo.....	12

E. Proses Biodeteriorasi dan Hubungan dengan Siklus Biogeokimia	15
F. Bakteri Penyebab Biodeteriorasi.....	17
G. Kajian Pustaka	20
H. Kerangka Berpikir	27
BAB III METODE PENELITIAN	27
A. Tempat dan Waktu Penelitian	27
B. Alat dan Bahan.....	27
C. Metode Penelitian	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
A. Isolasi Bakteri Candi Argosumo	39
B. Morfologi Isolat	39
C. Morfologi Bakteri	42
D. Uji Biokimia.....	44
E. Penentuan Genus Bakteri.....	49
BAB V PENUTUP.....	55
A. Kesimpulan	55
B. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	68
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Bakteri	8
Gambar 2.2 Bakteri Gram positif dan negatif	10
Gambar 2.3 Candi Argosumo.....	14
Gambar 2.4 Candi Badut.....	14
Gambar 2.5 Kerangka Berpikir.....	27
Gambar 3.1 Dua wilayah independen dalam pengambilan sampel.....	32
Gambar 3.2 Jenis-jenis morfologi koloni bakteri	36
Gambar 3.3 Prosedur pewarnaan Gram.....	35
Gambar 4.1 Titik koordinat pengambilan sampel.....	39
Gambar 4.2 Suhu, kelembaban dan kecepatan angin	39
Gambar 4.3 Proses pengambilan sampel	40
Gambar 4.4 Hasil penumbuhan bakteri dari candi	42
Gambar 4.5 Hasil penumbuhan bakteri dari patung.....	42
Gambar 4.6 Pengamatan uji Gram	45
Gambar 4.7 Hasil pengamatan uji biokimia bakteri isolasi.	50
Gambar 4.8 Pengamatan <i>Klebsiella</i> sp.....	51
Gambar 4.9 Pengamatan <i>Corynebacterium</i> sp.	51
Gambar 4.11 perbandingan <i>Corynebacterium</i> sp. hasil penelitian dengan literatur	59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian relevan terdahulu.....	20
Tabel 4.1 Morfologi koloni	41
Tabel 4.2 Morfologi bakteri hasil isolasi	43
Tabel 4.3 Uji biokimia bakteri hasil isolasi (1)	46
Tabel 4.4 Uji biokimia bakteri hasil isolasi (2)	46
Tabel 4.5 Hasil identifikasi isolat Candi Argosumo	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil penumbuhan bakteri.....	60
Lampiran 2. Hasil pengkulturan bakteri	60
Lampiran 3. Uji biokimia dan pewarnaan Gram	61
Lampiran 4. Penuangan media dan inokulasi bakteri	62
Lampiran 5. Sampel yang disimpan di <i>cotton bud</i>	62

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Peninggalan sejarah merupakan warisan budaya yang menunjukkan sebuah keluhuran dan sebuah peradaban di daerah tersebut. Ciri-ciri benda itu adalah benda bersejarah atau peninggalan bersejarah yang pertama berasal dari masa lampau, terkait dengan peristiwa-peristiwa atau salah satu peristiwa masa lalu, tetap ada perwujudannya hingga sekarang. Peninggalan sejarah ada yang berupa remain dan ada yang berupa dokumen. Remain merupakan peninggalan sejarah baik sengaja atau tidak sengaja berupa bangunan fisik yang tidak tertulis. Sedangkan dokumen adalah peninggalan sejarah berupa tulisan-tulisan, biasanya terdapat pada kertas, daun, dan batu (Mursidi, 2019). Contoh dari peninggalan sejarah yang berupa bangunan adalah candi Borobudur Lawang Sewu, istana Maimun, gedung sate dan berbagai macam bangunan lainnya. Tiap daerah memiliki peristiwanya masing-masing dari setiap peninggalan sejarah (Mursidi, 2021).

Pelapukan batuan merupakan bagian dari kehidupan evolusi bumi, pembusukan sebuah artefak batu menunjukkan hilangnya warisan dan sejarah kita yang

tidak dapat diperbaiki (Warscheid, 2000). Polusi udara dan aktivitas antropogenik menyebabkan kerusakan-kerusakan daripada sebuah batu seperti oksida belerang, nitrogen dan partikel karbon lainnya, abu terbang, gas buang mobil dan pesawat meningkatkan hasil konsentrasi senyawa anorganik dan organik dalam bentuk gas, aerosol atau partikel yang diikuti pengendapan pada permukaan batu atau naik ke atas bersama awan sehingga senyawa organik dan anorganik air hujan memiliki konsentrasi yang tinggi (Dakal, 2012; Liu, 2020). Selain itu tindakan abai, vandalisme, dan perawatan konservasi yang tidak tepat juga mengikuti kerusakan batu tersebut (Charola, 2011). Menjaga peninggalan bersejarah sangat penting karena dapat digunakan sebagai media pembelajaran sejarah di dalam dunia pendidikan baik pendidikan dasar maupun menengah (Mursidi, 2019).

Pada daerah tropis yang memiliki suhu tinggi kelembaban relatif tinggi, dan curah hujan tahunan yang tinggi mendukung pertumbuhan berbagai kelompok mikroorganisme. Contohnya adalah rembesan air hujan kemudian membasahi dan melembabkan dinding monumen atau candi sehingga terjadi kolonisasi kelompok organisme seperti Cyanobacteria, ganggang, jamur dan lumut kerak yang mendorong kerusakan. Komposisi mineral sifat substrat dan kondisi lingkungan sekitarnya

juga merupakan penentu utama dari jenis luasnya kolonisasi mikroorganisme (Kumar, 1999). Efek anorganik merupakan penyebab dari efek organik dalam sebuah biodeteriorasi. Agen anorganik dianggap mengkondisikan permukaan batu dengan cara mengubah struktural dan pengayaan substrat nutrisi anorganik dan organik dari batu tersebut (Warscheid, 2000). Proses biodeteriorasi ini menyebabkan beberapa kerusakan seperti perubahan warna, pengerakan (*encrustation*), mineralisasi, dan kristalisasi (Liu, 2020; Warscheid, 2011).

Biodeteriorasi batuan candi di Indonesia menjadi masalah dalam usaha menjaga kelestarian candi di Indonesia. Pelapukan yang disebabkan oleh mikroorganisme ini disebabkan oleh jamur, tumbuhan, dan bakteri (Liu, 2020). Penelitian berfokus pada bakteri karena bakteri memiliki peran dalam biodeteriorasi sehingga bisa dilakukan *treatment* tertentu untuk pengendaliannya, dilakukan di Candi Argosumo karena belum pernah dilakukan sebelumnya, selain itu penelitian ini dilakukan agar Candi Argosumo lebih dikenal oleh masyarakat melalui karya tulis hasil dari penelitian ini. Sudut pandang ekologi melihat bahwa manusia tidak boleh ikut campur dalam urusan sebuah siklus biogeokimia karena akan berpengaruh pada organisme-organisme di dalamnya,

namun dalam sudut pandang konservasi warisan budaya perlu dilakukan semata-mata terjaga.

Penelitian tentang karakterisasi bakteri candi dan kuil sebagian besar dilakukan di luar Indonesia seperti Thailand, China, dan Kamboja (Suphaphimol, 2022; Li, 2021; Bartoli, 2014). Sebagian kecil dilakukan di Indonesia salah satunya adalah pada Candi Mendut (Nugroho, 2019). Penelitian oleh Nugroho (2014) hanya menjelaskan morfologi dan sifat-sifat biokimia dari bakteri tersebut belum dilakukan penentuan genus. Belum ada penelitian tentang karakterisasi morfologi pada candi yang lain. Karakterisasi pada candi yang lain seperti Candi Argosumo dapat berpengaruh pada jenis bakteri hidup pada candi tersebut.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakterisasi hasil identifikasi bakteri isolat yang diambil dari Candi Argosumo menggunakan buku determinasi *Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition*?
2. Apa saja jenis bakteri yang terisolasi pada Candi Argosumo?

C. Tujuan Penelitian

1. Analisis hasil karakterisasi dari isolat yang diambil dari Candi Argosumo menggunakan buku determinasi *Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition*

2. Mengidentifikasi bakteri pada Candi Argosumo

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

- a. Mempelajari teknik karakterisasi dan identifikasi suatu isolat mikroorganisme
- b. Menambah pengetahuan tentang biodeteriorasi mikroorganisme yang ada di dalamnya
- c. Menjadi acuan dalam penelitian lanjutan dalam pengendalian bakteri kontaminan pada konservasi batu candi

2. Manfaat Praktis

- a. Menjaga peninggalan bersejarah terawat agar masyarakat di generasi selanjutnya tahu bahwa tempat tersebut memiliki kebudayaan di masa lampau
- b. Memberikan pemahaman yang lebih baik tentang lingkungan mikrobiologi pada Candi Argosumo dan memahami peran mereka dalam ekosistem tersebut
- c. Memiliki kontribusi pada penelitian keanekaragaman mikroorganisme di Candi Argosumo

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri

Bakteri banyak ditemukan di sekitar kita, dari yang bertempat sedang seperti pada tanah dan air, atau yang ekstrim seperti air panas atau sungai es. meskipun bakteri menyebar secara acak namun tersebut dapat dihitung, diperkirakan terdapat $2,5 \times 10^{30}$ bakteri yang ada di bumi, lebih besar dari total karbon di bumi dikalahkan oleh tumbuhan. Namun, dalam penyerapan nitrogen dan fosfor bakteri memiliki 10 kali daripada tumbuhan (Talaro, 2002).

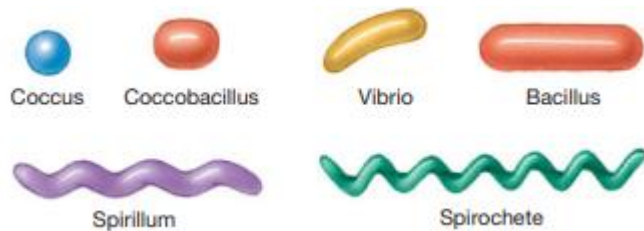
Bakteri (gambar 2.1) sebagian besar berbentuk sederhana dan memperlihatkan salah satu dari tiga struktur dasar: *bacillus* (jamak, *bacilli*) lurus dan berbentuk batang, *coccus* (jamak, *cocci*) berbentuk bola, dan *spirillus* (jamak, *spirilla*) panjang dan berbentuk heliks, juga disebut spirochetes. Bakteri *spirilla* umumnya tidak membentuk asosiasi dengan sel lain dan berenang sendiri-sendiri melalui lingkungannya. Mereka memiliki struktur kompleks di dalam membran sel mereka yang memungkinkan mereka memutar tubuh berbentuk pembuka botol yang mendorong mereka. Beberapa bakteri berbentuk batang dan bulat membentuk koloni, menempel

ujung ke ujung setelah mereka membelah, membentuk rantai yang memanjang (Black, 2015).

Pembentukan koloni bakteri pada sebuah candi disebabkan oleh kelembaban, suhu udara, intensitas cahaya, dan komposisi polutan udara, sifat kimiawi, kekuatan mekanik candi, dan kemampuan kelarutan mineral. Bakteri candi umumnya berasal dari filum Cyanobacteria tumbuh karena bersifat fotoautotrof dengan nutrisi dari batu candi yang anorganik, selanjutnya terdapat bakteri dari genus *Thiobacillus* dan *Nitrobacter* sebagai bakteri yang hidup dari sisa – sisa sel mati mikroorganismenya inisiator atau mendapatkan nutrisi berupa nitrogen oksida dan sulfur dioksida dari polutan. Bakteri dari filum Actinobacteria, genus *Streptomyces* sp. dan *Nocardia* sp. juga berperan dalam biodeteriorasi (Li, 2016).

Cyanobacteria memiliki karakteristik prokariotik, fotosintetik, uniseluler atau multiseluler, memiliki trikoma, berfilamen, dan Gram-negatif ditemukan di berbagai habitat termasuk Arktik, Antartika, dan mata air panas. Mereka dapat bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrim seperti kekeringan dan pengeringan, kisaran salinitas, kelaparan nitrogen, kejutan panas dan dingin, fotooksidasi, anaerobiosis, dan stres osmotik dan UV (Shiels, 2019). Genus *Thiobacillus* memiliki ciri-ciri Gram negatif, bentuk batang (*rod*), mengoksidasi

belerang, menghasilkan sulfat, memiliki kemampuan denitrifikasi, menimbulkan korosi pada beton dan baja. Hidup di laut dan darat (Kumar, 2020). Genus *Nitrobacter* memiliki ciri-ciri Gram negatif, bentuk batang, *chemolithoautotrophic*, memiliki kemampuan untuk fiksasi nitrogen (Karunakaran, 2016). Pada bakteri filum Actinobacteria memiliki karakteristik Gram positif, memiliki hifa dan kondia, anaerobik fakultatif, memiliki flagela, umumnya ditemukan di tanah namun di laut juga ditemukan (Chaiya, 2021).



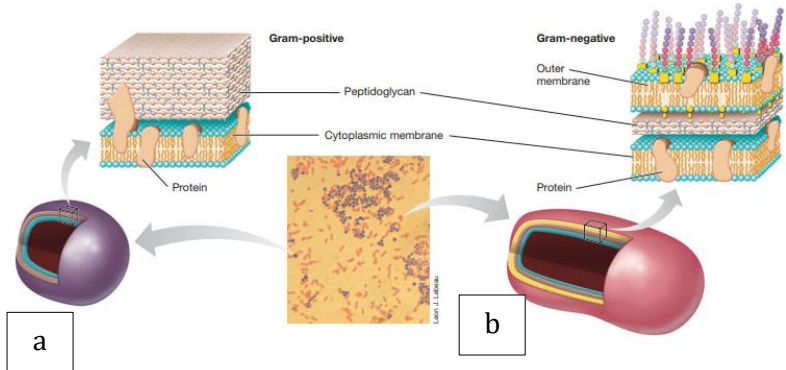
Gambar 2.1 Morfologi bakteri umumnya berbentuk *coccus*, *bacillus*, *vibrio* (koma), *spirillum*, dan *spirochete*
(Sumber : Black, 2015)

B. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah prosedur pewarnaan diferensial penting yang digunakan dalam mikrobiologi. Tes pertama lakukan dengan menggunakan larutan kristal violet, yang berfungsi sebagai pewarna pertama dinding sel bakteri. selanjutnya dilakukan tetesan menggunakan larutan iodium untuk menjaga warna dari kristal violet.

Selanjutnya dihilangkan warna menggunakan etanol atau aseton, apabila lapisan peptidoglikan dari bakteri tersebut maka warna dari kristal violet tetap ada. Namun terdapat bakteri yang memiliki lapisan lipid yang menyebabkan warna dari kristal violet tersebut menghilang karena etanol atau aseton. Selanjutnya dilakukan pewarnaan sekunder menggunakan larutan safranin untuk mewarnai yang telah terdekolorisasi etanol atau aseton (Madigan, 2010).

Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dan tunggal, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki lapisan tipis yang terdiri dari dua lapisan peptidoglikan yang terhubung oleh lipopolisakarida. Kedua jenis bakteri utama ini dapat diidentifikasi melalui proses pewarnaan Gram. Bakteri Gram positif menyerap pewarna kristal violet dengan baik dan menghasilkan kompleks warna yang tahan terhadap zat penghilang warna. Bakteri Gram negatif berwarna merah, mengandung lebih sedikit peptidoglikan sehingga tidak mempertahankan pewarna ungu (Madigan, 2010).



Gambar 2.2 a) Bakteri Gram positif dan b) Bakteri Gram negatif (Madigan, 2010)

C. Metabolisme Bakteri

Bakteri secara metabolisme memiliki kemampuan autotrof dan heterotrof. Pada bakteri autotrof, mikroorganisme tersebut memperoleh karbon dari CO_2 anorganik. Autotrof yang memperoleh energinya dari sinar matahari disebut fotoautotrof, sedangkan yang mendapatkan energi dari bahan kimia anorganik disebut kemoautotrof. Bakteri lain adalah heterotrof, organisme yang memperoleh setidaknya sebagian karbonnya dari molekul organik seperti glukosa. Heterotrof yang memperoleh energinya dari sinar matahari disebut fotoheterotrof, sedangkan yang memanen energi dari molekul organik disebut kemoheterotrof (Black, 2015).

Bakteri fotoautotrof, menggunakan energi sinar matahari untuk membangun molekul organik dari karbon

dioksida. Cyanobacteria menggunakan klorofil a sebagai pigmen penangkap cahaya utama dan menggunakan H₂S sebagai donor elektron, melepaskan gas oksigen sebagai produk sampingan. Bakteri lain menggunakan *bacteriochlorophyll* sebagai pigmen mereka dan H₂S sebagai donor elektron, meninggalkan unsur belerang sebagai produk sampingan. Kemoautotrof. Beberapa bakteri mendapatkan energinya dengan mengoksidasi zat anorganik. *Nitrifier*, memiliki kemampuan mengoksidasi amonia atau nitrit untuk mendapatkan energi, menghasilkan nitrat yang diserap tanaman. Bakteri lain ada juga yang dapat mengoksidasi belerang, gas hidrogen, dan molekul anorganik lainnya (Black, 2015).

Bakteri Heterotrof memperoleh energi dengan mengoksidasi molekul organik yang telah dibentuk sebelumnya (karbohidrat, lipid, dan protein). Metabolisme molekul ini menghasilkan ATP sebagai sumber energi. Metabolisme ada yang bersifat bersifat aerobik, di mana akseptor elektron terakhir adalah oksigen, anaerobik yang terdapat akseptor akhir berupa molekul organik atau anorganik selain oksigen. Metabolisme aerobik, pemanfaatan lengkap sumber energi seperti glukosa menghasilkan 38 molekul ATP. Metabolisme anaerob yang memanfaatkan molekul anorganik selain oksigen sebagai akseptor hidrogen akhir

tidak lengkap dan menghasilkan molekul ATP yang sedikit daripada respirasi aerobik. Metabolisme anaerobik yang menggunakan akseptor hidrogen akhir organik (fermentasi) jauh lebih tidak efisien dan hanya menghasilkan dua molekul ATP (Goering, 2012).

Bakteri fototrof menggunakan cahaya sebagai sumber energi. Proses fotosintesis pada bakteri fototrof menghasilkan hidrogen melalui aksi sistem nitrogenasenya. Berdasarkan sumber nutrisi terdapat bakteri fotoautotrof menggunakan karbon dioksida sebagai sumber karbon dan melakukan fotosintesis untuk menghasilkan energi sedangkan bakteri fotoheterotrof menggunakan senyawa organik yang sudah ada sebagai sumber karbon dan melakukan fotosintesis untuk mendapatkan energi. Berdasarkan menghasilkan oksigen terdapat bakteri oksigenik yang menghasilkan oksigen dan menggunakan air (H_2O) sebagai sumber elektron sedangkan bakteri anoksigenik tidak menghasilkan oksigen selama fotosintesis, menggunakan donor elektron selain air seperti H_2S (Madigan, 2010).

D. Candi Argosumo

Candi merupakan salah satu peninggalan bersejarah yang ada di Indonesia. Candi menurut Soekmono (1981) berasal dari kata *candika* yang artinya dewa kematian, hal ini berkaitan dengan Candi digunakan sebagai tempat

untuk memuliakan orang mati khususnya para raja dan bangsawan (Soekmono, 1981 dalam Yatmi, 2022). Candi Argosumo (Gambar 2.3) terletak di Desa Nglimut, Kecamatan Limbangan, Kabupaten Kendal, Jawa tengah. Candi Argosumo memiliki karakteristik kerusakan yang mirip dengan Candi Badut (Gambar 4.3) yang terletak di Desa Karangbesuki, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Kedua candi tersebut memiliki beberapa kerusakan, seperti patung yang tidak berbentuk lagi, serta lumut dan tumbuhan yang melapisi sebagian besar batu (Sulistio, 2018).

Candi Badut memiliki masalah kerusakan yang sama seperti pada Candi Argosumo. Tumpukan batu-batu candi tersebut sudah mulai rusak, salah satu patung dari Candi Argosumo dan Candi Badut sudah kehilangan bentukan batu yang sebenarnya seperti permukaan yang retak dan terdapat bagian-bagian yang hilang seperti beberapa batu candi dan juga memiliki struktur bangunan yang hampir sama.



Gambar 2.3 Candi Argosumo (Sumber: Dokumen penelitian, 2023)



Gambar 2.4 Candi Badut (Sulitio, 2018)

E. Proses Biodeteriorasi dan Hubungan dengan Siklus Biogeokimia

Biodeteriorasi atau *biodeterioration* adalah segala jenis perubahan yang tidak diinginkan yang disebabkan oleh organisme. Hal ini mencakup bahan organik dan anorganik (dari artefak) serta aktivitas organisme (biodeteriogen). Biodeteriorasi berdampak pada mekanik, estetika, dan kimia alam pada sebuah monumen. Bakteri biodeteriogen atau bakteri penyebab biodeteriorasi diklasifikasikan berdasarkan cara mendapatkan nutrisinya, yang pertama bakteri fotoautotrof, yang terdiri dari cyanobacteria, bakteri kemoautotrof yang terdiri dari bakteri nitrifikasi dan bakteri oksidasi sulfur, bakteri heterotrof terdapat actinomycetes, bakteri kemoorganotrof yang terdiri dari bakteri denitrifikasi, pereduksi sulfat, dan bakteri halofilik (Liu, 2020).

Bioreseptivitas (*bioreceptivity*) adalah kemampuan suatu bahan untuk dikolonisasi oleh organisme hidup diberikan. Sebagian besar, batu monumen bersejarah bersisi kolonisasi mikroflora biofilm epilitik dan/atau endolitik. Mikroflora ini termasuk bakteri, archaea, cyanobacteria, ganggang, jamur, dan lumut (Liu, 2020). Pada awal proses biodeteriorasi, pori-pori struktural material memungkinkan berbagai mikroorganisme di udara masuk. Mikroorganisme pada monumen biasanya

memulai siklus hidup mereka dengan fototrofik ketika kondisi lingkungan menguntungkan, seperti ketersediaan nutrisi dan kelembaban. Batu berpori besar memerlukan waktu yang lebih cepat untuk kolonisasi karena retensi air mereka lebih rendah daripada batu berpori kecil. Bioreseptivitas batu dipengaruhi oleh bahan kimia batu, terutama pada pertumbuhan mikroorganisme setelah kolonisasi. Keanekaragaman hayati dan aktivitas mikroorganisme dalam batu candi dipengaruhi oleh heterogenitas mineralogi penyusunnya. Semakin banyak komposisi mineral batu semakin banyak pula keanekaragaman organisme batu maka akan. Setelah didegradasi dan dicerna zat anorganik dan mengasimilasi CO₂ dalam bentuk yang larut dalam air lalu menjadi zat organik yang kemudian menjadi nutrisi organisme kemolitotrof menggunakan nutrisi tersebut yang kemudian dicerna menjadi senyawa nitrogen dan belerang menjadi asam anorganik, terutama asam nitrat dan asam sulfat jika bereaksi dengan batu bersejarah tersebut akan melepaskan ion mineral dari matriks batu dan akhirnya menjadi nutrisi bagi bakteri heterotrofik, seperti bakteri dan jamur serta polimer ekstraseluler. Mereka kemudian membentuk komunitas yang saling berhubungan yang terdiri dari hifa jamur dan matriks ekstraseluler yang terletak di antara atau di sekitar sel (Liu 2020). Hubungan tersebut menghasilkan

extracellular polymeric substances (EPS) yang membentuk biofilm yang stabil dengan menutupi dan menghubungkan sel mikroorganisme, yang memungkinkan untuk memperluas secara horizontal dan vertikal (McNamara, 2005).

Siklus biogeokimia dan polutan atmosfer berkontribusi pada pengaruh bakteri terhadap kerusakan batuan monumen kuno seperti candi atau kuil. Biodeteriogen epilitik menggunakan nutrisi ini untuk menggerakkan siklus biogeokimia karbon, nitrogen, dan belerang, yang kemudian memberikan nutrisi pada bakteri yang mendegradasi batuan, menyebabkan biodeteriorasi (Liu, 2020).

F. Bakteri Penyebab Biodeteriorasi

Actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, dan Cyanobacteria adalah filum bakteri yang berada di candi dan kuil, dalam skala genus, *Arthrobacter*, *Saccharopolyspora*, *Spirosoma*, *Rubrobacter*, *Scytonema*, *Chryseobacterium*, *Massilia*, *Flavobacterium*, *Pedobacter*, *Pseudomonas*, *Planomicrobium*, *Curtobacterium*, *Acidiphilium*, *Nitrosomonas*, dan *Nitrobacter* adalah genus yang paling umum. (Li, 2021; Suphahipmol, 2022).

Bakteri Arthrobacteria dapat membuat biofilm yang melapisi permukaan lukisan, yang mengubah warna lukisan mural menjadi kemerahan. Bakteri *Nitrosomonas*,

Pedobacteria, dan *Nitrobacteria* tidak memiliki kemampuan untuk mendegradasi, tetapi mereka berkontribusi pada penyediaan nitrogen secara tidak langsung kepada bakteri. Bakteri fototrofik pada famili cytonema, Klebsormidiaceae, dan Trebouxia menutupi monumen batu, mengakibatkan kerusakan estetika. Selain itu, mikroorganisme fototrofik ini juga dapat menyebabkan kerusakan struktur monumen batu melalui disintegrasi fisik substrat, redistribusi komponen mineral, dan biosintesis mineral sekunder. *Rubrobacter* dan *Flavobacterium* dapat menghitamkan permukaan batu dengan pigmen yang disekresikan. *Saccharopolyspora* terdeteksi secara luas pada dapat mendegradasi semen dalam pigmen dan menyebabkan pengelupasan lapisan cat (Li, 2021; Liu, 2018). Meskipun tidak berpartisipasi dalam kerusakan candi, *Spirosoma* sp. membantu nutrisi bahan organik, seperti *cystein* dan asam asetat asetil-CoA. *Scytonema* sp. melindungi cyanobacterium dari sinar ultraviolet, seperti *Brasilonema* sp., dan *Chryseobacterium* sp. dan Masilia sp. menghasilkan enzim protease keratinolitik untuk menghidrolisis protein, dan Bakteri *Pseudomonas* bertanggung jawab atas degradasi hidrokarbon. (Lee, 2016; Mondal, 2022). Penelitian tentang karakterisasi morfologi dan biokomia ini adalah bentuk dari sebuah penjagaan candi dari kerusakan

seperti yang termaktub dalam surah Al-Baqarah ayat 205
Allah berfirman:

وَإِذَا تَوَلَّى سَعَى فِي الْأَرْضِ لِيُفْسِدَ فِيهَا وَيُهْلِكَ
الْحَرْثَ وَالنَّسْلَ ۗ وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ الْفُسَادَ

Artinya: “Apabila berpaling (dari engkau atau berkuasa), dia berusaha untuk berbuat kerusakan di bumi serta merusak tanam-tanaman dan ternak. Allah tidak menyukai kerusakan.” (Kementerian Agama RI, 2015).

Menurut Al-Asyqar (2007), pada kata,

وَاللَّهُ لَا يُحِبُّ الْفُسَادَ

(dan Allah tidak menyukai kerusakan) yakni meliputi segala jenis perbuatan merusak tanpa membedakan kerusakan atas agama maupun atas urusan dunia sehingga dalam rangka melindungi kerusakan, salah satunya adalah menjaga candi Argosumo, meskipun menjaga peninggalan agama lain, di sisi lain juga menjaga bekas peradaban dahulu.

G. Kajian Pustaka

Tabel 2.1 Penelitian relevan terdahulu

No	Penulis, tahun	Judul	Metode	Hasil Temuan	Research Gap
1	Suphaphimol, 2022	Identification of microorganisms dwelling on the 19th century Lanna mural paintings from Northern Thailand using culture-dependent and-independent approaches	Sampel diambil kemudian dimasukkan dalam larutan <i>tween</i> , kemudian larutan NaCl, dilakukan pelarutan pengenceran bertingkat, selanjutnya bakteri ditumbuhkan pada media TSA kemudian bakteri dilakukan ekstraksi, dilakukan tes PCR kemudian dilakukan sekuensing	Kemampuan biodeteriorasi pada PDA dan TSA. Hanya 3 (33,33%; 3/9) isolat bakteri (BK3, BK4 dan TK3) yang memiliki kemampuan tersebut. Di sisi lain, 11 (64,7%; 11/17) koloni jamur menunjukkan aktivitas biodeteriorasi.	Belum dilakukan pengujian biokomia pada sampel tersebut

2	Wang, 2022	The Characterization of Microbiome and Interactions on Weathered Rocks in a Subsurface Karst Cave, Central China	Sampel batu diambil dengan dikikis menggunakan pisau. Dilakukan PCR dengan primer 520F dan 802R dengan target 16S rRNA V4.	Didapatkan bakteri berasal dari filum Komunitas bakteri didominasi oleh Actinobacteria (33,68%), diikuti oleh Alphaproteobacteria (8,78%), dan Planctomycetia (8,73%).	Menggunakan metode PCR
3	Li, 2021	Microbial diversity on the surface of historical monuments in Lingyan Temple, Jinan, China.	Sampel diambil menggunakan scalpel kemudian disimpan dalam tabung yang berisi sodium klorida, kemudian dilarutkan menggunakan larutan garam, setiap sampel memiliki pengulangan yang	Pada hasil mikroskop mikro morfologikal, sampel BR-L memiliki kluster hijau, yang mungkin merupakan alga hijau, dan konidium berbentuk bola juga dapat diamati. Biofilm BR-R dan ZX-B terdiri dari struktur jaring	Media masih menggunakan media LB dan PDA, belum dilakukan pada media yang lain.

			sudah diatur ada yang digunakan untuk analisis mikroskop, ada yang digunakan pada media LB yang berfungsi untuk isolasi DNA.	hitam yang terdiri dari berbagai filamen. Perbedaan antara kedua sampel tersebut adalah terdapat banyak spora jamur dan bakteri flamemen	
4	Nugroho, 2019	Karakterisasi Bakteri Dominan pada Batuan Dinding Candi Mendut, Magelang, Jawa Tengah	sampel diambil menggunakan metode suap sebanyak 5 isolator kemudian dilakukan karakterisasi morfologi, pengecatan Gram uji kunci uji motilitas, dan uji biokimia.	Beberapa karakter dengan 5 isolat dengan bermacam karakter morfologi dan kemampuan metabolisme	Belum dilakukan identifikasi bakteri
5	Li, 2017	Distribution and diversity of	Sampel diambil pada tempat yang	Pengurutan <i>throughput</i> tinggi	menggunakan culture

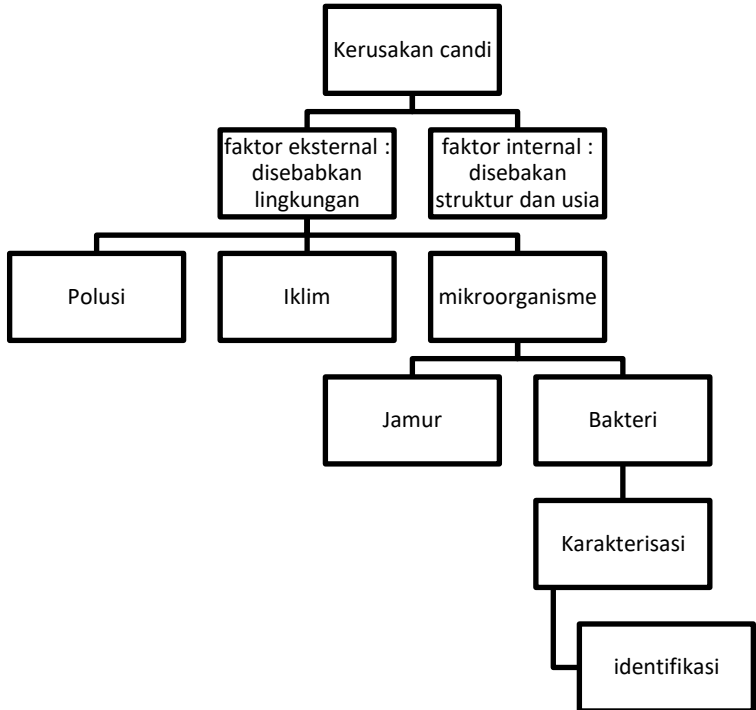
		bacteria and fungi colonizing ancient Buddhist statues analyzed by high-throughput sequencing.	terindikasi memiliki mikroorganisme biofilm, disimpan dalam tabung dengan suhu -20 derajat Celcius, sample diambil sesuai porsi untuk beberapa tes yaitu high throughput sekuensing dan uji mikroskopis.	pada 4 sampel 20 filum atau kelompok berbeda berikut membentuk sebagian besar komunitas bakteri (dengan sisanya terdiri dari bakteri yang tidak diklasifikasikan): Cyanobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Planctomycetes, Gemmatimonadetes, Verrucomicrobia, Firmicutes dan Nitrospirae.	independent, belum dilakukan culture dependent
6	Pavić, 2015	Diversity and biodeteriorative potential of	sampel diambil menggunakan cotton bud steril	Hasil identifikasi isolat bakteri berdasarkan urutan	Menggunakan Tryptic Soy Agar, belum

		bacterial isolates from deteriorated modern combined-technique canvas painting	pada area yang mengalami kolonisasi biologis atau diskolorisasi. Sampel disimpan pada larutan tween, selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat ditumbuhkan pada media TSA dan TSB. Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis, isolasi DNA, uji profil fungsional enzimatik.	gen 16S rRNA parsial, ditemukan dari filum Firmicutes, Actinobacteria, dan Proteobacteria	dilakukan pada media pertumbuhan yang lain
7	Bartoli, 2014	Biological colonization patterns on the ruins of Angkor temples	Penelitian ini menggunakan metode studi area, Pengamatan dilakukan pada	Setiap sampel wilayah terdapat komunitas yang terdapaat jenis-jenis mikroorganisme,	Hanya mengukur penetrasi, sehingga bisa dilakukan uji lain

(Cambodia) in the biodeterioration vs bioprotection debate	permukaan berwarna abu-abu coklat kekuningan, atau yang berwarna merah atau yang berwarna kehijauan. Permukaan tersebut kemudian diamati menggunakan mikroskop optik, untuk memeriksa penetrasi dari sebuah koloni menggunakan mikroskop stereo.	mulai dari Trentepohlietum yang rata-rata penetrasi 0,26 mm, Scytonemo-Gloeocapsetum rata-rata penetrasi 1,15 mm, Leprarietum memiliki penetrasi 0,8 mm, Cryptothecietum 1,13 mm, lumut rata-rata memiliki penetris 2,46 mm
--	--	---

H. Kerangka Berpikir

Bagan alir analisis kerangka berpikir dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Kerangka berpikir

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilakukan laboratorium mikrobiologi UIN Walisongo Semarang. Pengambilan sampel dilakukan di Candi Argosumo, Desa Nglimut, Kecamatan Limbangan, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah. Penelitian dilakukan pada Januari sampai April 2023.

B. Alat dan Bahan

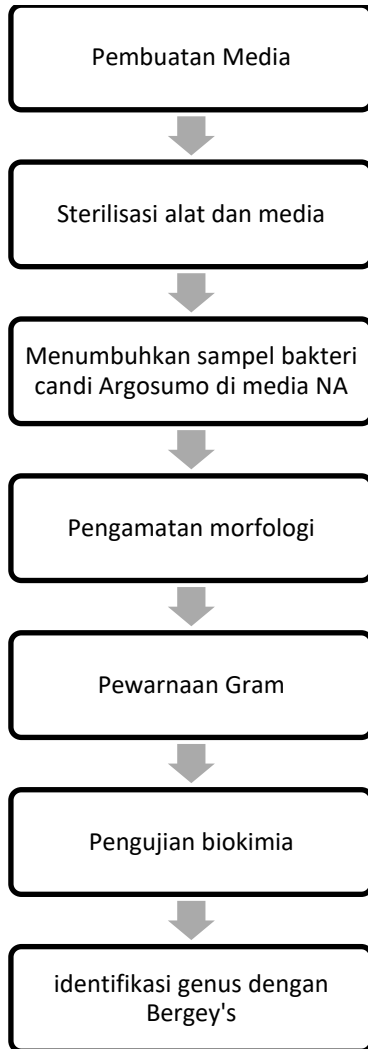
Penelitian ini menggunakan alat cawan petri, ose, gelas preparat, tabung reaksi (Iwaki CTE33), pembakar spirtus, mikroskop, Erlenmeyer (Iwaki CT32), *inkubator* (memmert), *ice box*, *ice pack*, *beaker glass* (Iwaki CTE33), pengaduk kaca, mikropipet (BIO-RAD), pipet ukur (Pipette PUMP), *Autoclave* (Hirayama HVE-50), *Laminar Air Flow* (Esco Sentinel Gold), buku "*Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition*".

Bahan yang digunakan adalah aquades, alkohol 70%, H₂O₂, *cotton bud*, media NA (*Nutrient Agar*), media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), media SCA (*Simmons Citrate Agar*), media SIM (*Sulfide indole motility*), pepton, *beef extract*, gelatin, kristal violet, iodium, etanol 95%, dan safranin.

C. Metode Penelitian

1. Alur Prosedur Kerja

Bagan alir 2.1. Prosedur Kerja



Gambar 3.1 Prosedur kerja penelitian

2. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) menggunakan media NA bubuk 20 gram, dengan penambahan aquades 1000 ml. Pembuatan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), dengan menyiapkan bubuk TSIA 65 gram ke dalam aquades 1000 ml. Pada pembuatan media SCA (*Simon Citrate Agar*) dengan menyiapkan 23 gram bubuk SCA dengan penambahan aquades 1000 ml. Pada pembuatan media SIM (*Sulfide Indole Motility*) menggunakan bubuk SIM 30 gram dengan aquades 1000 ml. pembuatan media gelatin untuk uji gelatin dilakukan dengan komposisi 5 gram pepton, *beef extract*, dan gelatin 120 gram dan aquades 1000 ml. Pembuatan media MR-VP Broth (*Glucose Phosphate Broth*) timbang bubuk MR-VP 8,5 gram dilarutkan dengan 500 ml aquades. Media FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*) menggunakan 1,4 gram bubuk FTM dilarutkan dengan aquades 50 ml. Pembuatan media Setelah media-media pertumbuhan dilarutkan masing-masing dipanaskan, dihomogenkan dan diautoklaf selama 20 menit.

3. Sterilisasi Alat dan Media

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian seperti gelas beker, cawan petri, Erlenmeyer, tabung reaksi dll. disterilisasi menggunakan *autoclave*. Media

untuk inokulasi dan biokimia pertumbuhan juga disterilasi menggunakan autoclave. Suhu optimum untuk sterilisasi alat dan media yaitu 121° Celsius selama 15 menit (Kurniawansyah, 2013).

4. Penuangan Media

Dilakukan penuangan medium NA pada cawan petri membutuhkan sterilisasi yaitu dengan menuang di dekat api bunsen yang telah dinyalakan untuk menghindari dari kontaminasi. Setelah dituangkan maka ditunggu selama 10 menit untuk menunggu sampai agar mengeras dan siap digunakan untuk inokulasi bakteri. Pada media untuk biokimia dilakukan penuangan menggunakan ke tabung reaksi sebanyak 5 ml. pada media gelatin, SCA dan TSIA dilakukan pemiringan setelah penuangan selesai dilakukan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu disimpan dalam refrigator

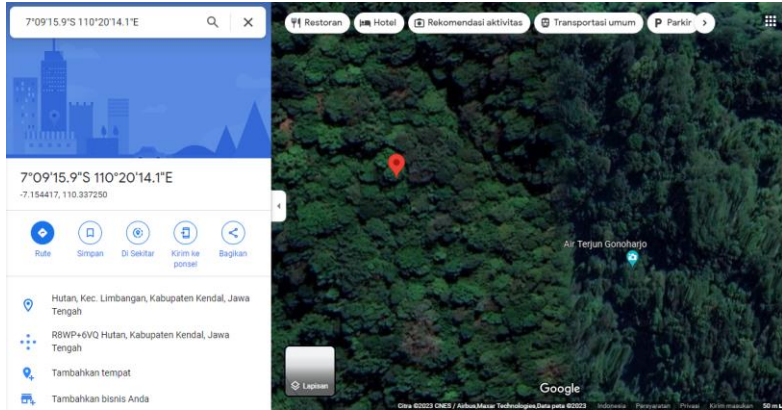
5. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel pada sisi candi dipilih pada 2 wilayah independen (Gambar 3.1), yang pertama adalah pada patung ganesha (1) dan candi argosumonya (2) (Li, 2022). Sebelum melakukan pengambilan sampel dilakukan pengerokan pada candi yang berlumut menggunakan spatula. Selanjutnya ambil *cotton bud* yang sudah disterilkan kemudian

dilakukan teknik swab, ya itu teknik mengusapkan pada dinding tembok kira-kira 5 x 5 cm di atas api bunsen. Setelah itu disimpan pada plastik klip, untuk menjaga kesterilan (Ekarini, 2021). Kemudian dibawa ke laboratorium mikrobiologi UIN Walisongo Semarang, kemudian langsung dilakukan penumbuhan bakteri.



Gambar 3.1. Dua wilayah independen (titik 1 dan 2) digunakan dalam pengambilan sampel (Dokumentasi Penelitian, 2023)



Gambar 4.1 Titik koordinat pengambilan sampel terletak di titik $S7^{\circ}09'15.9408''$ $E110^{\circ}20'14.0892''$ (Sumber: Google Earth, 2023)

● Hasil untuk Hutan, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah · Pilih area

Cuaca

Apakah sedang turun hujan? Login untuk melaporkan cuaca [LOGIN](#)

Sekarang

22° 

Terasa seperti 26°

Sebagian besar cerah

Presipitasi: 30%
Kelembaban: 89%
Angin: 11 km/j

Gambar 4.2 Suhu, kelembaban dan kecepatan angin saat pengambilan sampel adalah 22° Celsius, 89%, 11 km/jam (Google Cuaca, 2023)



Gambar 4.3 Proses pengambilan sampel pada candi dan patung Ganesha di kompleks Candi Argosumo (Dokumentasi penelitian, 2023)

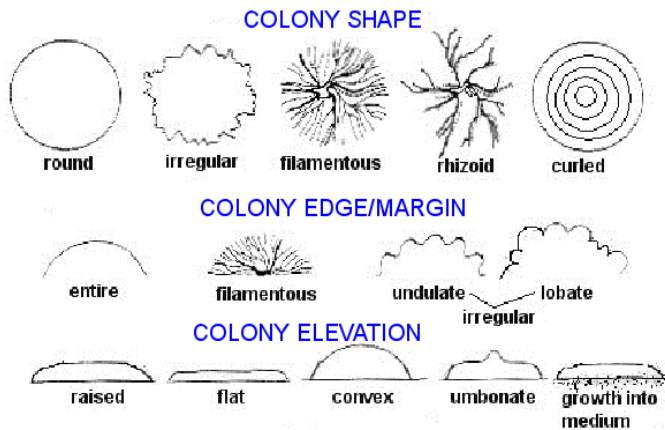
6. Inokulasi dan Pertumbuhan Sampel

Proses inokulasi ke media NA dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang telah dicahaya oleh UV selama 30 menit. Kemudian dilakukan pembersihan pada LAF menggunakan alkohol. Ketika api bunsen menyala buka media padat di sampingnya, kemudian lakukan streak plate menggunakan *cotton bud* hasil pengambilan sampel candi. Kemudian ditutup dan dilapisi dengan *plastic wrap*, disimpan dalam inkubator dalam suhu 37° Celcius selama 1 hari. Selanjutnya dilakukan karakterisasi pada bakteri yang ditemukan dengan teknik identifikasi koloni dan pewarnaan Gram. Selanjutnya dilakukan uji biokimia dilakukan dengan dilakukan, seperti uji gula-gula, uji

hidrolisis pati, uji reduksi nitrat, uji indol, dan uji fermentasi karbohidrat.

7. Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi diidentifikasi setiap koloni mulai dari bentuk keseluruhan seperti *round*, *irregular*, *filamentous*, *rhizoid* dan *curled*. Bentuk dari samping seperti *entire*, *filamentous*, *undulate*, dan *lobate*. Bentuk margin seperti *raised*, *flat*, *convex*, dan *umbonate*. Pengamatan juga meliputi warna dan daya tembus cahaya.

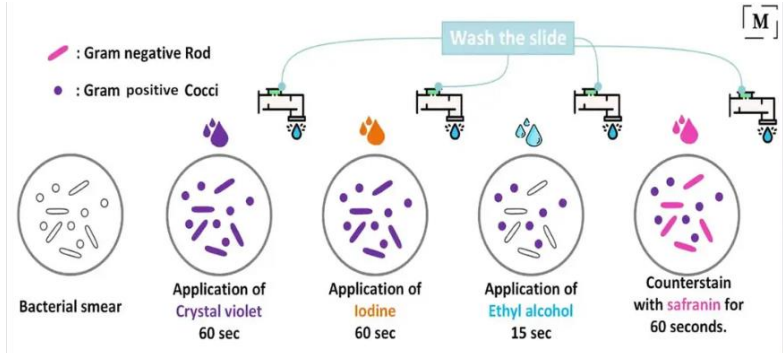


Gambar 3.2 Jenis-jenis morfologi koloni bakteri (Breakwell, 2007)

8. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan meneteskan aquades ke kaca preparat kemudian

masukan isolat yang isolat bakteri ke preparat yang berisi aquades tersebut, kemudia difiksasi dengan pemanasan menggunakan api bunsen, selanjutnya ditetesi kristal violet kemudian dan jangan sampai mengenai pulasan. Ditetaskan iodin, diamkan 1 menit, dibuang sisanya dengan air mengalir. Ditetaskan alkohol selama 5 detik, disiram dengan air mengalir, ditetaskan safranin biarkan 1 menit, dicuci dengan air mengalir, kemudian diangin-anginkan. Kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan dengan larutan yodium, yang berfungsi sebagai mordan. Pewarnaan ini berfungsi untuk meningkatkan interaksi antara sel bakteri dan pewarna sehingga pewarna terikat lebih erat atau pewarnaan sel lebih kuat. Apusan kemudian dihilangkan warna dengan mencuci dengan substansi seperti etanol 95% atau isopropanol-aseton kemudian ditetesi dengan pewarna safranin. Hasil akhirnya adalah bakteri Gram positif berwarna ungu tua dan bakteri Gram negatif berwarna merah muda sampai merah (lihat gambar 3.3).



Gambar 3.3 Prosedur pewarnaan Gram (Tankeshwar, 2015)

9. Uji Biokimia

Uji TSIA menggunakan media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Isolat diinokulasikan dengan goresan zig zag. Diinkubasi pada suhu 37°Celsius selama 24 jam. Bila berwarna kuning bakteri tersebut memiliki kemampuan fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Apabila pewarna merah terang terjadi fermentasi glukosa saja. Apabila terdapat warna hitam maka terjadi pembentukan hidrogen sulfida (Kosasi, 2019).

Uji sitrat, inokulasikan media SCA miring dengan teknik zig-zag. Perubahan warna biru menunjukkan bahwa hasil tersebut adalah positif (Kusnadi, 2020). Uji SIM, Inokulasikan bakteri ke media SIM menggunakan ose tusuk dengan cara menusukkan ose yang terisi isolat ke media tersebut

kemudian ditunggu selama 24 jam. Hasil positif H₂S adalah terjadi warna hitam pada medianya, bila ada kekeruhan berarti motil. Uji katalase, siapkan hidrogen peroksida (H₂O₂) 10% - 30% satu tetes ke kaca preparat, ambil isolat bakteri menggunakan ose bulat. Oleskan ose bulat ke H₂O₂. Apabila terdapat gelembung-gelembung hasil tersebut adalah positif. Uji gelatin, tusuk media gelatin menggunakan ose tusuk yang berisi isolat bakteri sedalam $\frac{3}{4}$ bagian media. Tunggu selama 24 jam. Terdapat zona bening bakteri tersebut adalah positif (Kusnadi, 2020). Uji VP, inokulasikan bakteri pada media MR-VP Broth (*Glucose Phosphate Broth*) diinkubasi selama 48 jam, tambahkan alpha-naftol kemudian diinkubasi selama 30 menit amati perubahan warna, merah menunjukkan hasil positif, coklat atau tidak berubah menunjukkan hasil negatif (Sari, 2019). Uji oksidase, inokulasikan bakteri pada kertas saring dan kemudian ditetaskan reagen oksidase amati bercak biru pada kertas saring (Wadjudjy, 2020). Uji FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*), inokulasikan bakteri ke media FTM dengan menusuk $\frac{3}{4}$ bagian media, inkubasi selama 24 jam, amati, amati tabung pada pertumbuhan dan kekeruhan (Downes, 2001).

10. Identifikasi Bakteri Menggunakan *Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition*

Setelah uji morfologi, Gram dan biokimia maka dilakukan identifikasi genus bakteri menggunakan *Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition* yang meliputi morfologi, karakteristik pewarnaan, motilitas, kemampuan biokimia, dan aktivitas enzim.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi Bakteri Candi Argosumo

Pengambilan sampel dan isolasi dilakukan pada tanggal 3 Februari 2023. Penumbuhan bakteri menggunakan 2 sisi pada sampel Candi Argosumo pada candi dan patung yang terletak di hutan Desa Nglimut, Kecamatan Limbangan, Kabupaten Kendal dengan titik koordinat $S7^{\circ}09'15.9408''$ $E110^{\circ}20'14.0892''$ (Gambar 4.1). Pada candi menggunakan 1 sisi sedangkan pada patung menggunakan 1 sisi (Gambar 4.2). Pengambilan sampel dilakukan pada 2 tempat ini karena antara candi dengan patung memiliki warna batu yang berbeda, pada candi memiliki batu berwarna abu-abu sedangkan pada patung memiliki batu berwarna coklat. Isolasi bakteri menggunakan metode *streak plate* yang bertujuan untuk menumbuhkan bakteri pada cawan petri yang berisi media *nutrient agar* merupakan media umum yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri dimurnikan dengan metode *streak plate* yang bertujuan agar mempermudah pemisahan koloni bakteri menjadi koloni tunggal.

B. Morfologi Isolat

Morfologi koloni bakteri dapat dilihat secara makroskopis seperti bentuk koloni, elevasi, *margin*, warna

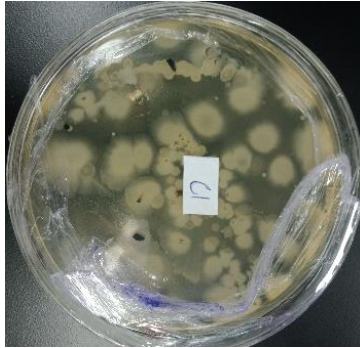
dan daya tembus cahaya yang berbeda-beda antara isolat satu dengan yang lainnya. Sampel C menandakan bahwa sampel tersebut diisolasi dari sisi Candi, sampel P menandakan bahwa sampel tersebut berasal dari sisi Patung. Nomor setelah huruf C menandakan sisi-sisi yang diisolasi. Huruf kecil setelah nomor dan huruf "P" menandakan koloni yang akan di kulturkan. Berikut tabel dari 3 isolat tersebut.

Tabel 4.1 Morfologi koloni isolat Candi Argosumo

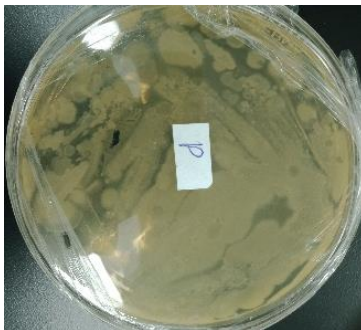
Morfologi Koloni	Isolat		
	C1	P	Pa
Bentuk	<i>Filamentous</i>	<i>Iregular</i>	<i>Rizoid</i>
Margin	<i>Lobule</i>	<i>Filametous</i>	<i>Filametous</i>
Elevasi	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>
Warna	Putih	Putih	Putih
Tampilan	Kusam	Halus	Halus

Morfologi koloni bakteri (Gambar 4.4) dapat dilihat secara makroskopis seperti bentuk koloni, elevasi, Bentuk tepi, warna dan daya tembus cahaya yang berbeda-beda antara isolat satu dengan yang lainnya. Pada isolat C1 memiliki bentuk koloni *filamentous*, elevasi *flat*, warna putih, tampilan kusam dan bentuk tepi *lobule*. Isolat P memiliki bentuk koloni iregular, elevasi *flat*, warna putih, tampilan halus dan bentuk tepi *filamentous*. Pada isolat Pa memiliki bentuk koloni *rizoid*, elevasi *flat*, warna putih, tampilan halus dan bentuk tepi *filamentous*. isolat Pa

memiliki morfoogi yang sama dengan isolat P namun yang berbeda hanya pada bentuk isolatnya yaitu *rizoid* (Gambar 4.5). ketiga isolat ini kemudian di kulturkan lagi ke media baru agar mendapatkan isolat yang banyak untuk karakterisasi.



Gambar 4.4 Hasil penumbuhan bakteri dari candi umur 3 x 24 jam (Dokumentasi penelitian, 2023)



Gambar 4.5 Hasil penumbuhan bakteri dari patung umur 3 x 24 jam (Dokumentasi penelitian, 2023)

C. Morfologi Bakteri

Setelah mengamati bentuk morfologi dari bakteri secara makroskopis kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis. Bakteri yang telah didapatkan terlihat memiliki perbedaan dan kesamaan bentuk sel. Hasil identifikasi bakteri melalui pewarnaan Gram dan bentuk sel disajikan pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Morfologi bakteri hasil isolasi

Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Bakteri	
		Bentuk	Warna
C1	-	Batang	Merah
P	+	Bulat	Biru
Pa	+	Bulat	Biru

*(+) = positif, (-) = negatif

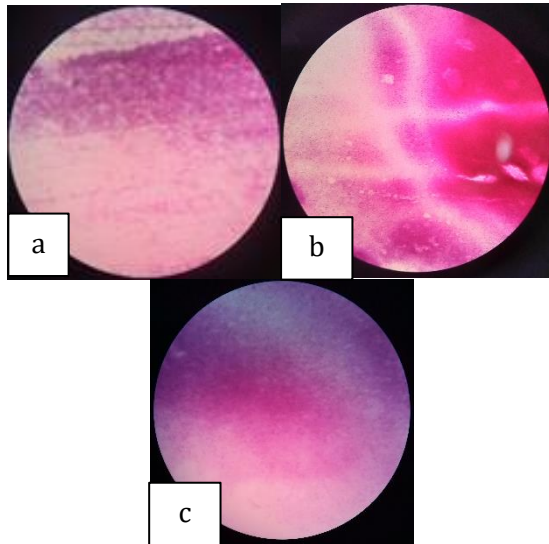
Berdasarkan pengamatan pewarnaan Gram bakteri (Gambar 4.6) yang telah didapatkan pada tabel 4.4 memiliki perbedaan dan kesamaan bentuk sel. Pengamatan mikroskopis yaitu pengamatan untuk membedakan struktur dari dinding sel, dan permeabilitas antara kedua kelompok dinding sel bakteri yang menyebabkan perbedaan warna Gram positif dan Gram negatif pada bakteri, pewarnaan Gram bakteri yang termasuk Gram positif pada isolat P (gambar 4.6 b dan c) bewarna ungu karena bakteri menyerap zat warna dari kristal violet dan yodium meskipun diberi alkohol, Gram negatif pada bakteri

berwarna merah karena bakteri melepas warna dari kristal violet ketika diberi alkohol, Gram negatif menyerap zat warna safranin sehingga menjadi warna merah (Akhnah *et al.*, 2022).

Bakteri Gram negatif pada isolat C1 (gambar 4.6 a) memiliki lapisan terluar yaitu lipopolisakarida yang terdiri dari membran dari lapisan peptidoglikan tipis pada periplasma antara lapisan luar dan membran sitoplasma, bakteri Gram positif (gambar 4.6 b dan c) memiliki dinding sel peptidoglikan yang tebal, jika dilarutkan dengan alkohol pori-pori pada dinding sel akan menyempit karena terjadi dekolonisasi sehingga dinding sel tetap menahan kristal violet (Lolita & Putri, 2018).

Kristal violet, iodine, ethanol 96% and safranin solution are dyes used in Gram staining. Gram positive bacteria retain the violet color after treatment with alcohol, while Gram negative bacteria lose the color. The reason is that Gram positive bacteria have a thick peptidoglycan layer that traps the dye, while Gram negative bacteria have a thin layer and an outer membrane that allows the dye to be washed away. The alcohol step in Gram staining is crucial for differentiating between the two types of bacteria. In Gram positive bacteria, the alcohol dehydrates the peptidoglycan layer, causing it to shrink and trap the dye. In Gram negative bacteria, the alcohol dissolves the outer membrane, allowing the dye to be washed away. The final color of the bacteria after staining is determined by the presence or absence of the dye. Gram positive bacteria appear purple, while Gram negative bacteria appear pink.

bertujuan untuk pengontras saat pewarnaan sel bakteri (Hafsan, 2014).



Gambar 4.6 hasil pengamatan uji Gram a) pengamatan isolat C1: Gram negatif dan bentuk batang, b) pengamatan isolat P: Gram positif bentuk *cocci* dari isolat P c) pengamatan isolat Pa: Gram positif bentuk *cocci* dari isolat Pa (Dokumentasi penelitian, 2023)

D. Uji Biokimia

Setelah dilakukan pewarnaan Gram kemudian dilakukan uji biokimia untuk melihat karakteristik terhadap beberapa bahan kimia dan untuk menyamakan

tanda yang ada pada buku *Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition*.

Tabel 4.3 Uji biokimia bakteri hasil isolasi (1)

Isolat	Uji TSIA		Uji	Uji	Uji	Oksi dase
	Gores	Tusuk	Sitrat	VP	Katalase	
C1	M	M	-	-	+	-
P	M	M	-	+	+	-
Pa	M	TB	-	+	+	-

*(+) = positif, (-) = negatif, M = merah, TB=tak berwarna

Tabel 4.4 Uji biokimia bakteri hasil isolasi (2)

Isolat	Uji gelatin	Uji SIM		Uji FTM
		motilitas	Tampilan	
C1	-	Non-motil	<i>Transparent</i>	Aerob obligat
P	-	Non-motil	<i>Tarnsparent</i>	Anaerob fakultatif
Pa	-	Non-motil	<i>Transparent</i>	Anaerob fakultatif

*(+) = positif, (-) = negatif, *transparent* = tembus pandang,

Uji sitrat bertujuan untuk mengetui kemampuan bakteri dapat memfermentasikan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon oleh enzim sitrat permease, hasil positif uji sitrat hasil positif ditandai dengan perubahan media menjadi warna biru, namun pada pengujian semua isolat menunjukkan hasil negatif. Hasil negatif ditandai

dengan warna hijau. Media sitrat yang berwarna hijau dalam suasana asam akan berubah menjadi warna biru dengan suasana basa karena bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber karbohidrat untuk pertumbuhannya (Pattuju *et al.*, 2014).

Uji indol dilakukan untuk mengetahui bakteri motil atau non motil. Uji ini dilakukan menggunakan media SIM (*Sulfide Indol Motility*). Hasil yang teramati bahwa semua isolat menunjukkan hasil negatif atau non-motil. Motilitas ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar pada bekas tusukan yang menandakan bahwa isolat tersebut berflagel, sedangkan non motil tidak memiliki pergerakan atau tidak akan terjadi perubahan di sekitar tusukan jarum inoculum (Kosasi *et al.*, 2019).

Hasil pada uji katalase semua isolat bakteri menunjukkan hasil positif karena terbentuknya gelombang gas pada semua isolat menunjukkan bakteri memiliki enzim katalase yang berfungsi menguraikan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dan memiliki sifat toksik yang dapat merusak komponen pada sel bakteri (Ulfa *et al.*, 2016).

Uji VP (*Voges Proskauer*) bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memiliki kemampuan untuk membentuk asetil metil karbinol yaitu hasil fermentasi glukosa (Ulfa *et al.*, 2016). Hasil positif uji VP ditandai dengan perubahan menjadi warna merah setelah

ditambahkan α naphthol 5% dan KOH 40% Hasil menunjukkan bahwa semua isolat kecuali C1 menunjukkan hasil negatif.

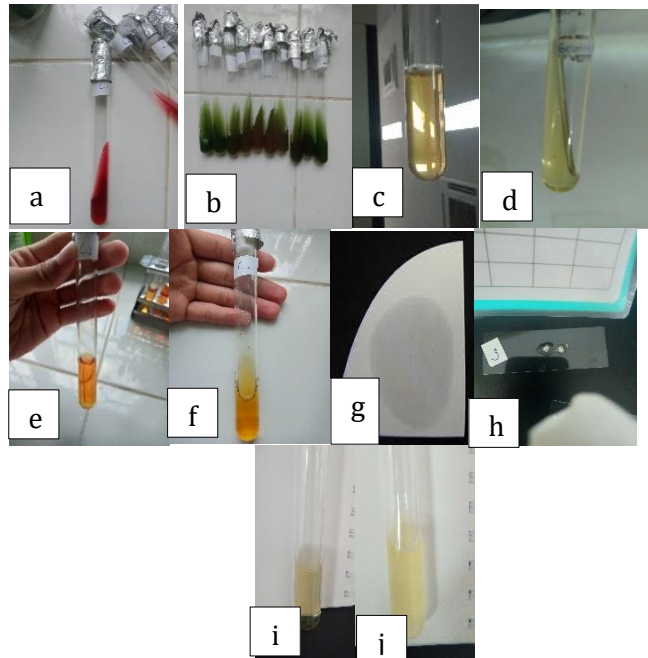
Hasil pada uji oksidase pada penelitian ini adalah negatif semua. Hal ini dikarenakan bakteri tersebut tidak menghasilkan sitokrom c oksidase, sehingga tidak terjadi perubahan warna. Uji oksidase dengan hasil positif, bakteri akan menghasilkan sitokrom c oksidase, enzim akan mengkatalisis transfer elektron dari reagen ke oksigen, sehingga terbentuk warna biru-ungu (Ariani, 2018).

Uji TSIA bertujuan untuk mengetahui bakteri yang dapat memfermentasikan glukosa, laktosa sukrosa dan pembentukan gas atau H_2S (Sari, 2014). Hasil uji Isolat P dan Pa menunjukkan hasil lereng media berwarna merah dengan dasar media berwarna kuning yang berarti bakteri dapat memfermentasikan glukosa. Jika media menunjukan lereng dan dasar media berwarna kuning yang menunjukan bakteri dapat memfermentasikan gula dan memproduksi gas dan jika isolat menunjukan hasil lereng berwarna kuning dan dasar media berwarna merah menunjukan bakteri dapat memfermentasikan glukosa.

Uji hidrolisis gelatin digunakan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim gelatinase yang mampu menghidrolisis gelatin. Pada semua isolat bakteri tersebut tidak mampu menghidrolisis gelatin,

jika ada memiliki kemampuan menghidrolisis gelatin maka akan terjadi degradasi substrat gelatin dan terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri (Lubis, 2015).

Penentuan bakteri mikroorganisme aerob, anaerob, dan menggunakan media FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*). pada bakteri aerob disediakan nutrisi dari media seperti glukosa, pepton, dan ekstrak ragi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri, sehingga tumbuh pada bagian permukaan. Pada bakteri anaerob fakultatif pada isolat C1, P dan Pa menyediakan zat pereduksi, natrium tioglikolat, yang menghilangkan oksigen molekuler dari media dan menetralkan efek toksik dari pengawet merkuri dan peroksida yang terbentuk di media, sehingga meningkatkan anaerobiosis, bakteri anaerob fakultatif juga memetabolisme glukosa, pepton, dan ekstrak ragi dari media sehingga terlihat tumbuh menyeluruh dari media FTM (Omoregie, 2019).



Gambar 4.7 Hasil pengamatan uji biokimia bakteri isolasi a) Hasil positif TSIA, b) Hasil negatif SCA, c) Hasil non-motil SIM, d) Hasil negatif uji gelatin, e) Hasil positif VP, f) hasil negatif uji VP, g) Hasil negatif uji oksidase, h) Hasil positif katalase, i) Hasil uji FTM untuk bakteri aerob obligat, j) Hasil uji FTM untuk bakteri anaerob fakultatif (Dokumentasi penelitian, 2023).

E. Penentuan Genus Bakteri

Identifikasi dan determinasi pada isolat bakteri dapat dilakukan dengan pengamatan sifat morfologi koloni serta pengujian biokimia, bakteri dapat diidentifikasi dengan mengetahui reaksi biokimia dari bakteri tersebut.

Proses identifikasi bakteri berdasarkan pada buku *Bergey's Manual of determination Bacteriology 9th Edition* dan didapatkan 2 genus yaitu:

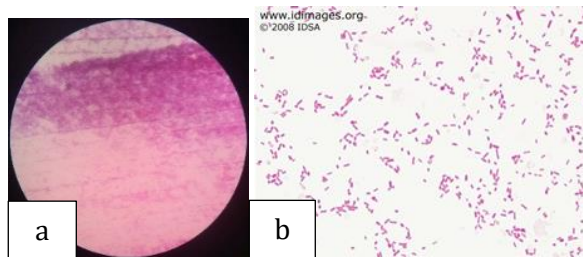
1. *Klebsiella* sp.

Hasil penelitian pada isolat C1 adalah Gram negatif, batang, anaerob fakultatif, katalase positif, oksidase negatif, uji VP negatif, non-motil, tidak menghasilkan H₂S, dan tidak mencairkan gelatin. Bakteri ini bisa berpasangan, berpisah satu sama lain, atau membentuk rantai pendek. Kemoorganotrof, sel berkapsul, dapat respirasi dan fermentasi. Tumbuh paling baik pada 37°C. menghasilkan gas dan asam sebagai hasil dari metabolisme glukosa dan karbohidrat. Uji *lysine decarboxylase* biasanya menunjukkan hasil positif. Test arginin dihidrolase menunjukkan hasil negatif. Beberapa varian memiliki kemampuan untuk menghidrolisis urea. Ada kemungkinan untuk tumbuh pada kalium sianida. mereduksi nitrat, dan kebanyakan spesies dapat memfermentasi karbohidrat kecuali *erythritol* dan *dulcitol*, yang menunjukkan bahwa bakteri ini adalah *Klebsiella* sp. (Bergey, 1993).

Selain pada Candi Argosumo, *Klebsiella* sp. juga ditemukan pada Kuil Buak Krok Luang dan Kuil Tha Kham di Thailand, Kuil Beishiku di Cina, Kuil Preah

Vihear di Kamboja, Kuil Lingyan di Cina dan pahatan lukisan kuno di Gua Maijishan di Cina, meski tidak disebutkan secara langsung (hanya menyebut filum Proteobacteria) (Duan 2017; Li, 2021; Meng, 2020; Suphaphimol, 2022; Zhang, 2023). *Klebsiella* sp. hidup di tanah, air, tumbuhan dan manusia sebagai patogen oportunistik. Bakteri patogen oportunistik adalah bakteri yang tumbuh di luar habitatnya namun tumbuh dari pencemar limbah manusia. Beberapa spesies *Klebsiella* sp. dapat resistan terhadap antibiotik (Rocha, 2022; Wahyuni, 2017).

<i>Kingdom</i>	: Bacteria
<i>Phylum</i>	: Proteobacteria
<i>Class</i>	: Gammaproteobacteria
<i>Order</i>	: Enterobacterales
<i>Family</i>	: Enterobacteriaceae
<i>Genus</i>	: <i>Klebsiella</i> sp. (Trevisan, 1885)



Gambar 4.8 a) *Klebsiella* sp. hasil penelitian, b) *Klebsiella* sp. literatur dari Munoz-Price (2013)

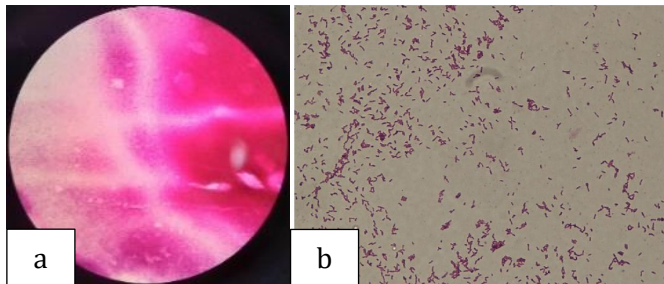
2. *Corynebacterium* sp.

Karakteristik isolat P dan Pa adalah bulat, Gram positif, anaerob fakultatif, non-motil, uji VP positif, uji sitrat negatif, tidak menghasilkan H₂S, dan tidak mencairkan gelatin. Sel biasanya tersusun tunggal atau berpasangan, dengan serin dalam formasi V atau dalam palisade dari beberapa sel paralel, pewarnaan merata, sel membentuk metakromatik granula dari polimetafosfat, tidak berspora, dan tidak mudah rusak. Kemoorganotrof yang memiliki metabolisme seperti fermentasi memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam dari glukosa dan karbohidrat lainnya. Mereduksi jumlah nitrat dan *tellurite*. Jarang menghasilkan asam dari laktosa dan raffinosa, menunjukkan bahwa bakteri ini adalah *Corynebacterium* sp. (Bergey, 1993).

Selain di Candi Argosumo, *Corynebacterium* sp. juga ditemukan pada Kuil Buak Krok Luang dan Kuil Tha Kham di Thailand, Kuil Beishiku di Cina, Kuil Preah Vihear di Kamboja, Kuil Lingyan di Cina dan pahatan lukisan kuno di Gua Maijishan di Cina, meski tidak disebutkan secara langsung (hanya menyebut filum Actinomycetota) (Duan 2017; Li, 2021; Meng, 2020; Suphaphimol, 2022; Zhang, 2023). *Corynebacterium* sp. dapat ditemukan di alam seperti tanah dan air. Genus

ini dapat juga hidup di permukaan kulit hewan dan mukosa manusia (Ott, 2018).

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Actinomycetota
Class	: Actinomycetia
Order	: Mycobacteriales
Family	: Corynebacteriaceae
Genus	: <i>Corynebacterium</i> Sp. (Lehmann, 1896)



Gambar 4.9 a) *Corynebacterium* sp. hasil penelitian, b) *Corynebacterium* sp. literatur dari Govindaswamy (2019)

Penelitian ini berdasarkan morfologi dan sifat biokimia dari apa yang tertera dari buku *Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed* sehingga hasil pada buku tersebut belum tentu sama menggunakan teknik molekuler seperti PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Berikut tabel dari hasil penentuan genus bakteri.

Tabel 4.5 Hasil identifikasi isolat Candi Argosumo

No	Lokasi	Isolat	Genus
1.	2	C1	<i>Klebsiella</i> sp.
2.	2	P	<i>Corynebacterium</i> sp.
3	1	Pa	<i>Corynebacterium</i> sp.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Pada sampel C1 memiliki bentuk *filamentous*, elevasi *flat*, putih kusam dan tepi *lobule*. Pada sampel P memiliki bentuk *irregular*, elevasi *flat*, warna putih halus dan tepi *filamentous*. Isolat Pa memiliki bentuk koloni *rizoid*, elevasi *flat*, warna putih, tampilan halus dan bentuk tepi *filamentous*. Hasil karakterisasi dari isolat C adalah Gram negatif bentuk batang, pada isolat P adalah Gram positif bentuk bulat, pada isolat Pa adalah Gram positif bentuk bulat.
2. Berdasarkan hasil penelitian bakteri pada candi Argosumo maka ditarik kesimpulan bahwa dari 2 isolat teridentifikasi 3 bakteri yaitu *Klebsiella* sp., dan *Corynebacterium* sp.

B. Saran

Hasil penelitian yang telah diperoleh diharapkan dilakukan uji dan penelitian tambahan untuk memperkuat keabsahannya seperti menguji endospora dan flagella, penumbuhan pada media khusus, dan uji fermentasi menggunakan media umum lain seperti *Tryptic Soy Agar* (TSA), penelitian selanjutnya bisa dilakukan uji antibiotik, dan uji biodeteriorasi, dan identifikasi secara molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Asyqar, Muhammad Sulaiman Abdullah. (2007). *Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir*, Oman: Darunnafaais
- Afandi, Z. (2022). Studi Tentang Candi Ngetos Di Kabupaten Nganjuk Ditinjau Dari Kajian Ikonografi. *Efektor*, 9(1), 66-75.
- Akhnah, A. M., Widyastuti, D. A., & Rachmawati, R. C. (2022). Identifikasi Genera Bakteri Coliform Pada Air Sungai Desa Datar Kabupaten Jepara. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*. 14(2). 124–131.
- Anggraini., R, Aliza., D, Mellisa.,S. (2016). Identifikasi Bakteri Aeromonas Hydrophila Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah* Volume 1, nomor 2 : 270-286 Mei – Agustus 2016 ISSN. 2527- 6395
- Alton, G. G. (1990). *Brucella suis*. Animal brucellosis, 412-422.
- Ariani, F. (2018). *Isolasi dan Karakterisasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dari Pertanaman Padidi Desa Penyasawan Kabupaten Kampar*, S1 thesis, Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

- Bartholomew, J. W., & Mittwer, T. (1952). The gram stain. *Bacteriological reviews*, 16(1), 1-29.
- Bartoli, F., Municchia, A. C., Futagami, Y., Kashiwadani, H., Moon, K. H., & Caneva, G. (2014). Biological colonization patterns on the ruins of Angkor temples (Cambodia) in the biodeterioration vs bioprotection debate. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 96, 157-165.
- Black, Jacquelyn G, Black, Laura J. (2015). *Microbiology: principles and explorations, 9th Edition* (9 th. Ed). Hoboken, NJ: Wiley.
- Breakwell, D., MacDonald, B., Woolverton, C., Smith, K., & Robison, R. (2007). Colony morphology protocol. *American Society for Microbiology*, 1-7.
- Bergey, D. H. 1., & Holt, J. G. (1993). *Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed.* Baltimore, Williams & Wilkins.
- Chaiya, L., Kumla, J., Suwannarach, N., Kiatsiriroat, T., & Lumyong, S. (2021). Isolation, characterization, and efficacy of actinobacteria associated with arbuscular mycorrhizal spores in promoting plant growth of chili (*Capsicum flutescens* L.). *Microorganisms*, 9(6), 1274.
- Charola, A. E., McNamara, C., & Koestler, R. J. (2011). Biocolonization of Stone: Control and Preventive Methods. *Proceedings from the MCI Workshop Series*.

- Dakal, T. C., & Cameotra, S. S. (2012). Microbially induced deterioration of architectural heritages: routes and mechanisms involved. *Environmental Sciences Europe*, 24(1), 1-13.
- Doelle, Horst Werner. (2014). *Bacterial metabolism*. New York : Academic Press.
- Downes, F.P. and K. Ito. (2001). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4th ed. APHA: Washington, D.C.
- Duan, Y., Wu, F., Wang, W., He, D., Gu, J. D., Feng, H., ... & An, L. (2017). The microbial community characteristics of ancient painted sculptures in Maijishan Grottoes, China. *PLoS One*, 12(7), e0179718.
- Ekarini, F. D. (2021). Minyak Atsiri Untuk Pengendalian Mikroorganisme Pada Situs Candi Surowono. *Borobudur*, 15(2), 34-43.
- Favero-Longo, S. E., & Viles, H. A. (2020). A review of the nature, role and control of lithobionts on stone cultural heritage: Weighing-up and managing biodeterioration and bioprotection. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(7), 1-18.
- Goering, R., Dockrell, H., Zuckerman, M., Roitt, I., & Chiodini, P. L. (2012). *Mims' medical microbiology*. Elsevier Health Sciences.

- Govindaswamy, A., Trikha, V., Gupta, A., Mathur, P., & Mittal, S. (2019). An unusual case of post-trauma polymicrobial cutaneous diphtheria. *Infection*, *47*, 1055-1057.
- Hafsan, Hafsan. (2014). *Mikrobiologi Analitik*. Alauddin University Press, Makassar. ISBN 978-602-237-889-1
- Hanifah, A. (2018). Potensi Minyak Atsiri dalam Menghambat Pertumbuhan Isolat Bakteri yang ditemukan di Candi Borobudur. *Borobudur*, *12*(2), 11-22.
- Jurtshuk, P. (1996). Bacterial metabolism. *Medical microbiology*, *4*.
- Karunakaran, G., Jagathambal, M., Gusev, A., Van Minh, N., Kolesnikov, E., Mandal, A. R., & Kuznetsov, D. (2016). Nitrobacter sp. extract mediated biosynthesis of Ag₂O NPs with excellent antioxidant and antibacterial potential for biomedical application. *IET nanobiotechnology*, *10*(6), 425-430.
- Kementerian Agama RI, (2015). *Alquran dan Terjemahannya*, Jakarta : Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Quran.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi dan uji aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan alga turbinaria ornata (turner) j. Agardh serta identifikasi secara biokimia. *Pharmacon*, *8*(2), 351-359.
- Kumar, M., Zeyad, M. T., Choudhary, P., Paul, S., Chakdar, H., & Rajawat, M. V. S. (2020). Thiobacillus. In *Beneficial*

- Microbes in Agro-Ecology* (pp. 545-557). Academic Press.
- Kumar, R., & Kumar, A. V. (1999). Biodeterioration of stone in tropical environments: an overview. Google book
- Kurniawansyah, I. S. (2016). Penentuan Tingkatan Jaminan Sterilitas Pada Autoklaf Dengan Indikator Biologi Spore Strip. *Farmaka*, 14(1), 59-69.
- Lailiya, N. R. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran terhadap Logam Berat Pb pada Air Sedimen di Sungai Porong Sidoarjo Jawa Timur. *Skripsi*. Surabaya: Program Sarjana UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Lee, J. J., Lee, Y. H., Park, S. J., Lim, S., Jeong, S. W., Lee, S. Y., ... & Jung, H. Y. (2016). Spirosoma fluminis sp. nov., a gamma-radiation resistant bacterium isolated from sediment of the Han River in South Korea. *Current microbiology*, 73(5), 689-695.
- Lehmann KB, Neumann R (1896). *Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik* [Atlas and outline of bacteriology and textbook of special bacteriological diagnostics] (1st ed.). München: J.F. Lehmann.
- Li, T., Cai, Y., & Ma, Q. (2021). Microbial diversity on the surface of historical monuments in Lingyan Temple, Jinan, China. *Microbial ecology*, 85(1), 76-86.

- Li, Q., Zhang, B., He, Z., & Yang, X. (2016). Distribution and diversity of bacteria and fungi colonization in stone monuments analyzed by high-throughput sequencing. *PLoS One*, *11*(9), e0163287.
- Liu, X., Koestler, R. J., Warscheid, T., Katayama, Y., & Gu, J. D. (2020). Microbial deterioration and sustainable conservation of stone monuments and buildings. *Nature Sustainability*, *3*(12), 991-1004.
- Liu, X., Meng, H., Wang, Y., Katayama, Y., & Gu, J. D. (2018). Water is a critical factor in evaluating and assessing microbial colonization and destruction of Angkor sandstone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *133*, 9-16.
- Lolita, A., & Putri, O. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia from Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*. *1*(2). 6-12.
- Lubis, S., Riwayat, R., & Idramsa, I. (2015). Seleksi dan karakterisasi bakteri endofit dari tumbuhan Raru (*Cotilelobium melanoxyton*) pendegradasi selulosa. *JBIO: jurnal biosains (the journal of biosciences)*, *1*(3), 100-106.

- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D., Clark, D. P. (2010). *Brock Biology of Microorganisms (13th Edition)*. Benjamin Cummings.
- McNamara, C. J., & Mitchell, R. (2005). Microbial deterioration of historic stone. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3(8), 445-451.
- Meng, H., Zhang, X., Katayama, Y., Ge, Q., & Gu, J. D. (2020). Microbial diversity and composition of the Preah Vihear temple in Cambodia by high-throughput sequencing based on genomic DNA and RNA. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 149, 104936.
- Mondal, A., Mandal, S., & Rath, J. (2022). Seasonal diversity of cyanobacteria and new report of *Brasilonema* sp. colonizing the monuments of Santiniketan and Bishnupur (India). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 167, 105350.
- Muharani, E. (2020). *Isolasi dan Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Penghasil Enzim Amilase Dalam Produkfermentasi Biji Kecipir (Psophocarpus tetragonolobus L.)* (Doctoral dissertation, UNIMUS).
- Munoz-Price, L. S., Poirel, L., Bonomo, R. A., Schwaber, M. J., Daikos, G. L., Cormican, M., ... & Quinn, J. P. (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of

- Klebsiella pneumoniae carbapenemases. The Lancet infectious diseases, 13(9), 785-796.*
- Mursidi, A., & Sutopo, D. (2019). Peninggalan Sejarah Sebagai Sumber Belajar Sejarah Dalam Penanaman Nilai-Nilai Kebangsaan Di Kecamatan Muncar Kabupaten Banyuwangi. *Khazanah Pendidikan, 13(1).*
- Mursidi, A., Adinata, T. P., Shomad, A., Soetopo, D., & Hariadi, A. (2021). Implementation of Community Service in The Introduction of History in the Sembulungan Peninsula, Banyuwangi Regency, East Java Province Indonesia. *GANDRUNG: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat, 2(2), 276-291.*
- Nugroho, Daniel Hendy. (2019) *Karakterisasi Bakteri Dominan pada Batuan Dinding Candi Mendut, Magelang, Jawa Tengah.* S1 thesis, UAJY.
- Omoregie, A. I., Ngu, L. H., Ong, D. E. L., & Nissom, P. M. (2019). Low-cost cultivation of *Sporosarcina pasteurii* strain in food-grade yeast extract medium for microbially induced carbonate precipitation (MICP) application. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 17, 247-255.*
- Ott, L. (2018). Adhesion properties of toxigenic corynebacteria. *AIMS microbiology, 4(1), 85.*
- Pakpahan, M., Ekowati, C.N., dan K. Handayani. (2013). *Karakterisasi Fisiologi Dan Pertumbuhan Isolat*

Bakteri Bacillus Thuringiensis Dari Tanah Naungan Di Lingkungan Universitas Lampung. Lembaga Penelitian Universitas Lampung.

- Pattuju, S. M., & Manampiring, A. (2014). Identifikasi bakteri resisten merkuri pada urine, feses dan kalkulus gigi pada individu di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *eBiomedik*, 2(2).
- Pavić, A., Ilić-Tomić, T., Pačevski, A., Nedeljković, T., Vasiljević, B., & Morić, I. (2015). Diversity and biodeteriorative potential of bacterial isolates from deteriorated modern combined-technique canvas painting. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 97, 40-50.
- Rahayu, S. A., & Gumilar, M. M. H. (2017). Uji cemaran air minum masyarakat sekitar Margahayu Raya Bandung dengan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian journal of pharmaceutical science and technology*, 4(2), 50-56.
- Rocha, J., Henriques, I., Gomila, M., & Manaia, C. M. (2022). Common and distinctive genomic features of *Klebsiella pneumoniae* thriving in the natural environment or in clinical settings. *Scientific Reports*, 12(1), 10441.
- Sari, D. P., Rahmawati, R., & PW, E. R. (2019). Deteksi dan identifikasi genera bakteri coliform hasil isolasi dari

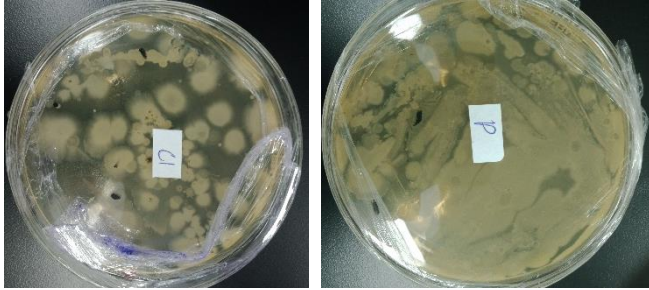
- minuman lidah buaya. *Jurnal Labora Medika*, 3(1), 29-35.
- Sari, N. I. (2014). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattallassang Kabupaten Gowa*. S1 thesis. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.
- Shiels, K., Browne, N., Donovan, F., Murray, P., & Saha, S. K. (2019). Molecular characterization of twenty-five marine cyanobacteria isolated from coastal regions of Ireland. *Biology*, 8(3), 59.
- Sulistio, A., Natadjaja, L., & Febriani, R. (2018). Perancangan Buku Fotografi Historis Candi Badut sebagai Candi Tertua di Jawa Timur. *Jurnal DKV Adiwarna*, 1(12), 9.
- Suphaphimol, N., Suwannarach, N., Purahong, W., Jaikang, C., Pengpat, K., Semakul, N., & Disayathanoowat, T. (2022). Identification of microorganisms dwelling on the 19th century Lanna mural paintings from Northern Thailand using culture-dependent and-independent approaches. *Biology*, 11(2), 228.
- Talaro, Kathleen P. (2002). *Foundations in microbiology*. Boston: McGraw-Hill.
- Tankeshwar, A. (2015). Gram Staining: Principle, Procedure and Results. *Bacteriology staining Techniques in microbiology*, 1.

- Trevisan, V. (1885). Caratteri di alcuni nuovi generi di Batteriacee. *Atti della Accademia Fisio-Medico-Statistica in Milano. Series, 4*(3), 92-107.
- Triyana, K., & Soesilo, H. (2008). Metode Konservasi Benda Cagar Budaya Berbasis Elektro-osmosis. *Borobudur, 2*(1), 22-24.
- Ulfa, Atiqa., Suarsini, Endang., Henie, Mimien. (2016). Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat. *Proceeding Biology Education Conference. 13*(1).
- Ummamie, L. dkk. (2017). Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Keumamah di Pasar Tradisional Lamboro, Aceh Besar, 1(3), pp. 574–583. Available at: <http://jim.unsyiah.ac.id/FKH/article/view/4073>. diakses tanggal 25 Desember 2018
- Wadjdjy, E. F., & Setiadi, S. (2020). Teknik Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri pada Ikan Toman (*Channa micropeltes*). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, 17*(2), 155-159.
- Wahyuni, Yusnita, It Jamilah, and Dwi Suryanto. "Isolasi Bakteri Patogen Oportunistik dari Tambak Udang Sumatera Utara." *Jurnal AGROHITA: 1.2* (2018): 71-75.

- Warscheid, T., & Braams, J. (2000). Biodeterioration of stone: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 46(4), 343-368.
- Warscheid, T., & Leisen, H. (2011). Microbiological studies on stone deterioration and development of conservation measures at Angkor Wat. In *Biocolonization of Stone: Control and Preventive Methods, Proceedings from the MCI Workshop Series* (Vol. 2, pp. 1-18). Washington, DC: Smithsonian Institution Scholarly Press.
- Wiradnyana, K. (2018). *Michel Foucault: Arkeologi Pengetahuan dan Pengetahuan Arkeologi*. Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Yanuardi, M. H. (2009). Penyebab Kerusakan dan Pelapukan Beserta Penanganannya. *Jurnal Sejarah Lontar*, 6(2), 29-37.
- Zhang, Y., Su, M., Wu, F., Gu, J. D., Li, J., He, D., ... & Feng, H. (2023). Diversity and Composition of Culturable Microorganisms and Their Biodeterioration Potentials in the Sandstone of Beishiku Temple, China. *Microorganisms*, 11(2), 429.

LAMPIRAN

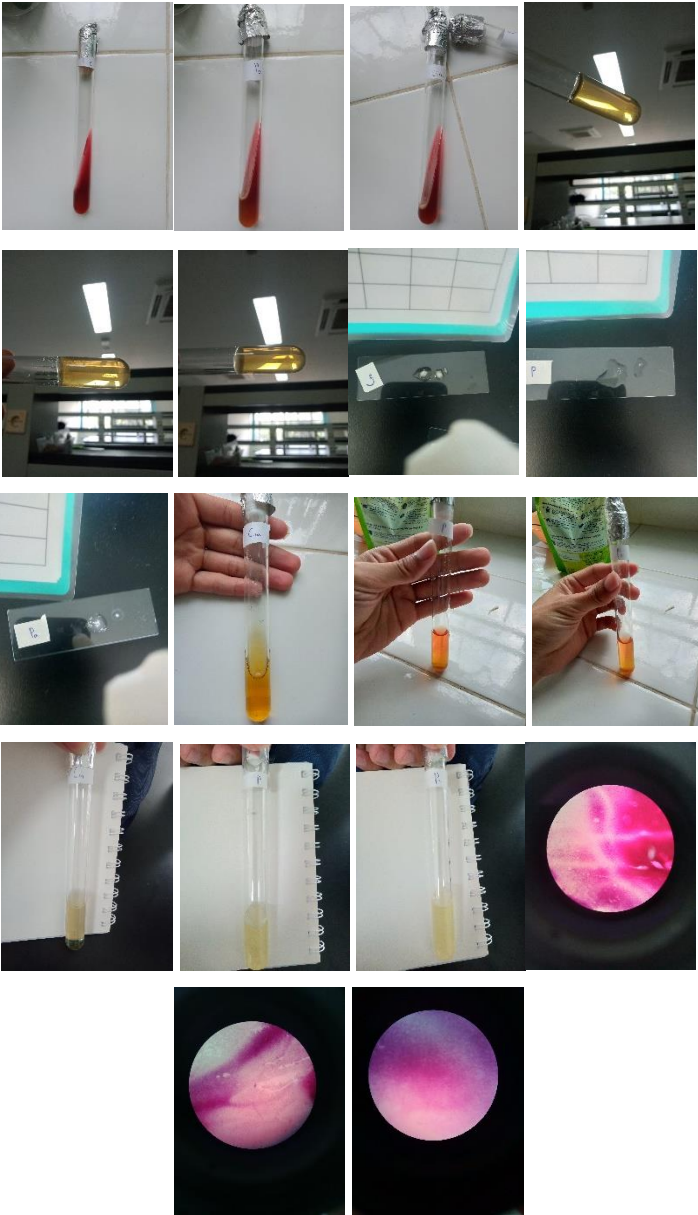
Lampiran 1. Hasil penumbuhan bakteri



Lampiran 2. Hasil pengkulturan bakteri



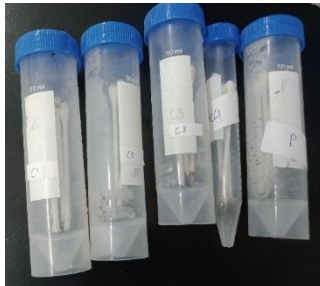
Lampiran 3. Uji biokimia dan pewarnaan gram



Lampiran 4. Penuangan media dan inokulasi bakteri



Lampiran 5. Sampel yang disimpan di *cotton bud*



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama Lengkap : Ibnu Sina Rafiq Romawan
2. Tempat, Tanggal Lahir : Pangakalan Bun, 13 Oktober 2000
3. Alamat Rumah : Rt 39 Rw 03 Desa Kejene, kecamatan Randudongkal, Kabupaten Pemalang
4. No HP : 082322177876
5. Email : Ibnusinarafiq6@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. SDN 02 Randudongkal
 - b. SMP Pondok Modern Selamat
 - c. SMA Al-Hikmah 2 Brebes

Semarang, 20 Juni 2023

Ibnu Sina Rafiq Romawan
NIM. 1908016053