

Isolasi, Keanekaragaman Koloni dan Karakterisasi Bakteri Metanogenik pada Sedimen Kolam Ikan Lele (*Clarias* sp.)

Isolation, Colony Diversity and Characterization of Methanogenic Bacteria in Pond Sediment of Catfish (*Clarias* sp.)

Badi'ah Lailun Nahdhli^{1*}, Ahmad Syauqi^{2**}, Hasan Zayadi³
¹²³Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Bakteri metanogenik adalah bakteri penghasil gas metan. Bakteri ini digolongkan sebagai Archaeobacteria yang secara alami hidup di rawa-rawa, tanah becek, kolam dan dalam alat pencernaan hewan besar. Sedimen pada kolam ikan mengandung elemen nutrisi yang terbentuk dari aktivitas makhluk hidup seperti sisa pakan dan kotoran ikan sehingga menjadi habitat yang sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Penelitian bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri metanogenik dan nilai indeks keanekaragaman pada sedimen kolam ikan lele (*Clarias* sp.) serta karakter bakteri metanogenik. Pengambilan sampel berasal dari kolam ikan lele (*Clarias* sp.) di Desa Bendosewu, Kecamatan Talun, Kabupaten Blitar. Metode yang digunakan yaitu teknik isolasi anaerobik menggunakan media thioglikolat, morfologi sel dengan pewarnaan gram dan fisiologi dengan MR-VP. Hasil yang didapatkan adalah dalam sedimen kolam ikan lele (*Clarias* sp.) terdapat bakteri metanogenik dengan nilai indeks keanekaragaman koloni kolam A lebih tinggi dibanding kolam B. Keduanya menunjukkan keanekaragaman rendah.

Kata kunci : bakteri, metanogenik, sedimen.

ABSTRACT

*Methanogenic bacteria are methane gas producing methane. This bacteria are classified as Archaeobacteria which naturally live in swamps, muddy soil, ponds and in the digestive organs of large animals. Sediments in fish ponds contain nutrient elements which are formed from the activity of living things such as food waste and fish feces making it a habitat that strongly supports the growth of microorganisms. The study aimed to determine the presence of methanogenic bacteria and the diversity index value in catfish (*Clarias* sp.) pond sediments and the characteristics of methanogenic bacteria. Sampling came from catfish (*Clarias* sp.) ponds in Bendosewu village, Talun sub-district, Blitar district. The method used is anaerobic isolation technique using thioglycolate medium, cell morphology with gram staining and physiology with MR-VP. The result obtained were in catfish (*Clarias* sp.) pond sediments there were methanogenic bacteria with a diversity index of pond A colonies higher than pond B colonies. Both are showing low diversity.*

Keywords : bacteria, methanogenic, sediment.

^{*}) Badi'ah Lailun Nahdhli, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp. 082232866077
email: badiahlailun97@gmail.com

^{**}) Ir. Ahmad Syauqi, M.Si. Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT Haryono 193, Malang 65144 Telp. 082331449560
Email: syauqi.fmipa@unisma.ac.id

Diterima Tanggal 19 Juli 2019 – Publikasi 25 Agustus 2020

Pendahuluan

Bakteri berukuran mikroskopik serta memiliki peran besar dalam kehidupan. Peran dari bakteri salah satunya adalah memproduksi energi dengan mengubah bahan organik menjadi metana, ammonia, oksigen, hidrogen sulfida dan hidrogen. Proses perubahan bahan organik itu terjadi secara anaerobik dengan mengandalkan beberapa bakteri. Bakteri hidrolitik, bakteri fermentatif, bakteri asetogenik dan bakteri metanogenik [1].

Bakteri penghasil gas metan disebut bakteri metanogenik. Proses produksi gas metana sebagai metabolit bakteri disebut metanogenesis. Gas yang dihasilkan bakteri tersebut digunakan sebagai penyedia energi seperti energi panas, listrik atau bahan baku produksi metanol untuk bahan bakar mesin. Dekomposisi bahan-bahan organik yang lepas ke atmosfer digunakan bakteri untuk memproduksi gas metan. Bahan organik hasil fotosintesis yang difermentasi oleh mikroorganisme merupakan limbah atau sisa-sisa yang berasal dari tanaman misalnya tebu, rumput-rumputan dan lainnya; dari peternakan misalnya kotoran sapi, kotoran unggas dan lain-lain; dari laut misalnya algae laut, tumbuh-tumbuhan air laut dan lainnya; dari limbah industri misalnya tembakau, pengolahan buah dan sayuran, dedak, kapas, ampas tebu dan lain-lain. Contoh bakteri penghasil metana atau bakteri metanogenik diantaranya adalah *Methanobacterium ameliamskii*, *Methanobacterium sobugenii*, *Methanosarcina*, *Methanococcus mazei*, *Methanobacterium subaxydans*, *Methanobacterium propionicum* dan *Bacillus perfrijius* [2]. Salah satu contoh klasifikasi bakteri metanogen adalah sebagai berikut [8,9,10] :

Domain	: Archaeobacteria
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Eucaryota
Classis	: Methanococci
Ordo	: Methanococcales
Familia	: Methanocaldococcaceae
Genus	: Methanocaldococcus
Species	: <i>Methanococcus vannielli</i>

Bakteri metanogenik secara alami hidup di rawa-rawa, tanah becek, kolam dan dalam alat pencernaan hewan besar [3]. Sebesar 43% emisi metan berasal dari lahan basah dan sawah [4]. Dari jumlah tersebut, masing-masing 20% berasal dari sawah dan rawa [5]. Metan yang diproduksi pada bagian anaerob sebagian akan mengalami oksidasi di bagian permukaan sedimen [6].

Sedimen terbentuk melalui interaksi antara atmosfer dan hidrosfer pada kerak bumi, kemudian diikuti oleh proses pengendapan. Endapan ini telah mengalami proses pelapukan oleh berbagai proses alam, karena itu biasanya membawa elemen nutrien. Kandungan nutrien pada sedimen menjadi habitat yang sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme [7]. Sedimen kolam ikan terbentuk dari adanya aktivitas tumbuhan ataupun hewan. Selain itu, terbentuknya sedimen dipengaruhi oleh suhu dan tekanan yang tinggi. Sedimen memiliki bau yang busuk, hal ini membuktikan adanya proses pembusukan oleh bakteri dengan perubahan protein [2].

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel sedimen kolam ikan, aquades steril, kertas sampul coklat, karet, kapas, label nama, anaerogen atau gaspak, media thioglikolat, agar batang, spiritus, aluminium foil, kristal violet, iodine, alkohol 96 %, safranin, tissue, minyak emersi, pepton, metil merah, dextrosa dan buffer fosfat.

Alat digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan, rak tabung reaksi, tabung reaksi, cawan petri plastik, pipet tetes, gelas arloji, pengaduk, gelas ukur, erlenmeyer, inkubator, autoklaf, gelas beaker, hot plate, oven, box ice, laminar air flow, colony counter, magnetic stirrer, botol steril tertutup, anaerobic jar, mikroskop, corong kaca, jarum ose, kaca benda dan kaca penutup.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif eksploratif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian untuk membuat deskripsi, gambaran atau lukisan secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki. Jenis data adalah data diskrit yaitu koloni mikroorganisme (CFU).

Cara Kerja

Pengambilan sampel: Sampel berasal dari kolam ikan lele (*Clarias* sp.) di Desa Bendosewu, Kecamatan Talun, Kabupaten Blitar. Sampel sedimen diambil dari dua kolam ikan lele dengan ketebalan sedimen yang berbeda. Kolam A dengan ketebalan 20 cm dan kolam B dengan ketebalan 10 cm. Penetapan lokasi pengambilan sampel di lapangan secara acak terpilih. Pengambilan di lima titik. Diambil sampel sedimen dengan menenggelamkan botol steril tertutup pada sedimen kolam, kemudian dibuka perlahan agar sedimen dapat masuk ke dalam botol. Selanjutnya sampel dimasukkan ke box yang sudah berisi es batu kemudian dibawa ke laboratorium.

Sterilisasi Alat: Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini, dicuci kemudian dikeringkan. Alat-alat seperti botol steril tertutup, cawan petri, pipet tetes, gelas ukur dibungkus dengan kertas sampul dan diikat dengan benang. Sedangkan alat-alat seperti erlenmeyer dan tabung reaksi ditutup terlebih dahulu bagian mulut alat dengan kapas kemudian ditutup dengan kertas sampul dan diikat dengan benang. Bahan yang disterilisasi adalah aquades. Kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 15 pounds. Saat suhu dan tekanan telah tercapai, dibiarkan selama 15 menit. Proses sterilisasi alat dan bahan dalam kegiatan penelitian atau penanganan sampel mikroba sangat dibutuhkan. Apabila teknik sterilisasi tidak diterapkan maka hasil yang dicapai tidak maksimal karena menimbulkan berbagai kontaminasi baik dari alat maupun media tumbuh mikroba.

Pembuatan Media Thioglikolat: Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri metanogenik adalah media thioglikolat. Media thioglikolat ditimbang sebesar 15 gram kemudian dilarutkan dalam aquades steril 500 ml. Dipanaskan hingga homogen dengan menggunakan hot plate dan magnetic stirrer. Setelah homogen, ditutup dengan kapas dan aluminium foil untuk di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi pada suhu 121°C pada tekanan 15 pounds. Saat suhu dan tekanan telah tercapai, dibiarkan selama 15 menit. Kemudian, tambahkan 10 gram agar batang. Seperti sebelumnya, dipanaskan hingga homogen dengan hot plate dan magnetic stirrer. Setelah itu, kembali dilakukan sterilisasi dengan autoklaf untuk kedua kalinya.

Isolasi Bakteri: Sampel sedimen kolam ikan ditimbang 1 gram, kemudian diencerkan dengan aquades steril sampai volume 100 ml hingga homogen. Disiapkan 4 tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril. Masing-masing tabung diberi label 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Diambil 0,1 ml sampel dan diencerkan pada tabung reaksi 10^{-1} dan pengenceran terus dilakukan sampai pada tabung reaksi 10^{-5} . Diambil 0,1 ml dari tabung reaksi 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} dengan pipet tetes steril secara duplo dan ditanam ke dalam media thioglikolat yang telah disiapkan. Cawan diputar seperti angka delapan tanpa mengangkat cawan tersebut. Kemudian diinkubasi dalam wadah anaerobic jaryang telah diisi dengan gaspak pada suhu 37-40°C selama 24-48 jam.

Perhitungan Koloni Bakteri: Koloni bakteri dibedakan berdasarkan warna koloni untuk dihitung menggunakan colony counter. Syarat perhitungan jumlah bakteri yang tumbuh pada medium adalah sebagai berikut: Jumlah koloni yang didapat dihitung kemudian dikalikan faktor pengenceran. Dihitung reratanya apabila terdapat ulangan. Untuk mendapat keakuratan data maka diambil 2 digit angka setelah koma untuk menghindari kesalahan ketelitian dan akurasi. Tiap ulangan pada pengenceran yang sama apabila menghasilkan jumlah koloni yang berurutan maka dihitung reratanya.

Jumlah jenis ke I per jumlah seluruh jenis dihitung dari perkalian jumlah genus dari setiap divisi (ni) dengan logaritma natural jumlah genus dari semua divisi ($\ln N^{-1}$), indeks keanekaragaman (H') dihitung dari perkalian jumlah pi dengan $\ln pi$ sehingga diperoleh persamaan sebagai berikut :

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

Setelah didapatkan indeks keanekaragaman, maka di kategorikan termasuk dalam kriteria keanekaragaman tinggi, sedang atau rendah sesuai dengan Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria Keanekaragaman Shannon-Wiener

Indeks Keanekaragaman	Klasifikasi
$H' < 1$	Keanekaragaman rendah
$1 \leq H' \leq 3$	Keanekaragaman sedang
$H' > 3$	Keanekaragaman tinggi

Karakterisasi Bakteri: Karakterisasi bakteri terdiri dari tiga tahap yaitu karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel dan fisiologi. Pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk dan warna koloni. Pengamatan morfologi sel dilakukan dengan uji gram positif dan negatif. Sedangkan pengamatan fisiologi dengan reaksi biokimia.

Morfologi Koloni: Pengamatan morfologi koloni dengan mengamati bentuk koloni dan warna secara makroskopik. Data yang didapatkan dicatat dan lakukan dokumentasi.

Morfologi Sel: Tahapan yang dilakukan yaitu diambil akuades, diteteskan pada kaca objek ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu difiksasi di atas api. Tetesi pewarnaan kristal violet dan biarkan selama 1 menit, cuci dengan air mengalir, kemudian tetesi lugol biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya tetesi alkohol 96% biarkan selama 10-20 detik, cuci dengan air mengalir dan tambahkan safranin biarkan selama 20-30 detik kemudian cuci lagi dengan air mengalir. Tahap selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan kertas serap dan tambahkan minyak emersi dan diamati di bawah mikroskop.

Fisiologi: Dilakukan uji Methyl Red – Voges Proskeuer (MR-VP Test). Pembuatan media MR-VP yaitu pepton 7,0 gram, D-glukosa 5 gram dan buffer fosfat 5 ml yang dilarutkan hingga homogen dalam 1 liter aquades steril. Media yang telah jadi, dimasukkan dalam tabung reaksi. Setiap tabung reaksi diisi 9 ml media MR-VP. Tutup dengan kapas dan aluminium foil. Setelah itu, disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian, bakteri yang telah ditumbuhkan dalam cawan petri diinokulasi ke dalam media MR-VP. Terakhir, inkubasi pada suhu 37°C. Untuk menguji terbentuknya asam organik, ditambahkan beberapa tetes indikator metil red.

Analisis Data: Data yang dianalisa hasil pengukuran parameter kimia dan biologi. Parameter kimia merupakan hasil pengukuran *potent hydrogen* (PH), sedangkan biologi berupa hasil yang diukur dari analisa komunitas mikroorganisme menggunakan rumus indeks keanekaragaman. Kemudian, untuk mengetahui adanya perbedaan diantara kedua indeks keanekaragaman kolam, maka digunakan uji beda dua nilai indeks keanekaragaman dengan rumus :

$$t_s = \left| H'_A - H'_B \right| - \mu_o / S_{AB}$$

dimana $t_s \geq t_{0,05(2), db}$ hipotesis null ditolak [11].

Hasil dan Diskusi

Koloni Bakteri Metanogenik: Bakteri metana termasuk anaerob obligat. Anaerob obligat tidak dapat tumbuh jika ada oksigen. Oleh karena itu, metode penanaman menggunakan anaerobic jar dan gaspak untuk menghindari masuknya oksigen. Metode penanaman bakteri metana sedimen kolam ikan lele

(*Clarias* sp.) dilakukan secara anaerobik dengan menggunakan anaerobic jar. Ikan lele (*Clarias* sp.) merupakan hewan nocturnal yaitu hewan yang suka hidup di habitat gelap dan kotor. Karena habitat dari lele tersebut, menyebabkan tingkat sedimen tinggi. Sedimen terbentuk dari sisa-sisa pakan dan kotoran ikan serta berasal dari aktivitas ikan lele tersebut.

Sedimen yang sudah dilarutkan dalam aquades, kemudian dilakukan pengenceran hingga 10^{-5} . Media yang digunakan dalam penanaman ini adalah media thioglikolat yang khusus diperuntukkan untuk bakteri anaerob. Setelahnya, diinkubasi dalam inkubator selama 24-48 jam dengan suhu 37-40°C. Selang waktu 24 jam, bakteri yang telah tumbuh diamati. Hasil yang didapatkan, koloni bakteri telah tumbuh sangat cepat. Karena hampir memenuhi seluruh cawan. Ada dua kolam yang dilakukan pengujian. Kolam A dengan ketebalan sedimen 20 cm dan kolam B dengan ketebalan sedimen 10 cm. Parameter yang diukur adalah PH atau derajat keasaman. PH sedimen untuk kolam A adalah 6,5 sedangkan untuk kolam B 6,8.

Tabel 2. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Koloni Bakteri Sedimen Kolam Ikan Lele (*Clarias* sp.) pada Kolam A dengan Ketebalan Sedimen 20 cm

No.	Karakteristik Makroskopis			Karakteristik Mikroskopis			Rerata Koloni (CFU)
	Warna	Bentuk	Ukuran	Bentuk Sel	Gram	Metil Red	
1.	Putih susu	<i>Coccus</i>	Kecil	<i>Bacil</i>	Negatif	Positif	29
2.	Putih bening	<i>Coccus</i>	Kecil	<i>Bacil</i>	Negatif	Positif	47,4
Σ							76,4

Pada kolam A, seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2, ditemukan koloni bakteri berwarna putih susu dan putih bening. Koloni yang berwarna putih susu berbentuk *coccus* dengan ukuran kecil, namun beberapa menyebar. Sama halnya dengan koloni putih susu, koloni yang berwarna putih bening berbentuk *coccus* dan berukuran kecil, namun beberapa menyebar. Menurut Kapahang *et al* [1] bakteri metanogenik memiliki bentuk koloni *coccus*, dengan warna koloni abu-abu, putih susu, putih bening dan merah.

Perbedaan morfologi sel, terlihat dari mikroskop. Untuk koloni bakteri putih susu, bentuk selnya *bacil* (batang halus) sementara untuk koloni bakteri putih bening, bentuk selnya *bacil* (batang bergerigi). Keduanya didapatkan hasil berwarna merah yang menunjukkan gram negatif. Menurut Kapahang *et al* [1], bakteri metanogenik dengan koloni berwarna putih dan merah memiliki bentuk sel *bacil* gram positif. Sementara menurut Silalahi *et al* [12], bakteri metanogenik dengan koloni berwarna putih, kuning dan merah memiliki bentuk sel *bacil* gram negatif. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri metanogenik ada yang memiliki gram positif dan gram negatif.

Sedangkan uji metil red, keduanya didapatkan hasil positif dengan adanya warna merah pada permukaan media. Warna merah ini menunjukkan terjadinya proses metabolisme secara asam. Rerata koloni bakteri berwarna putih susu 29 CFU dan putih bening 47,4 CFU. Total keseluruhan yang didapatkan adalah 76,4 CFU.

Pada kolam B, dapat dilihat hasil pada Tabel 3, didapatkan koloni yang sama yaitu koloni berwarna putih susu dan putih bening. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis sama seperti pada kolam A. Koloni putih susu memiliki ukuran kecil namun beberapa menyebar dan berbentuk *coccus*. Bentuk sel koloni putih susu *bacil* (batang halus) yang termasuk dalam gram negatif. Untuk uji metil red, didapatkan hasil positif. Koloni putih bening memiliki ukuran kecil namun beberapa menyebar dan berbentuk *coccus*. Untuk bentuk selnya *bacil* (batang bergerigi) dan termasuk gram negatif. Uji metil red, menghasilkan warna merah menunjukkan positif. Rerata koloni putih susu adalah 31,6 CFU dan koloni putih bening 11,4 CFU. Total keseluruhan rerata koloni bakteri metanogenik adalah 43 CFU.

Tabel 3. Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Koloni Bakteri Metanogenik Sedimen Kolam Ikan Lele (*Clarias* sp.) pada Kolam B dengan Ketebalan Sedimen 10 cm.

No	Karakteristik Makroskopis			Karakteristik Mikroskopis			Rerata Koloni (CFU)
	Warna	Bentuk	Ukuran	Bentuk Sel	Gram	Metil Red	
1.	Putih susu	<i>Coccus</i>	Kecil	<i>Bacil</i>	Negatif	Positif	31,6
2.	Putih bening	<i>Coccus</i>	Kecil	<i>Bacil</i>	Negatif	Positif	11,4
Σ							43

Hasil karakteristik morfologi sel terlihat dengan menggunakan pewarnaan gram. Berdasarkan pewarnaan gram, bakteri yang diisolasi dari kedua kolam digolongkan bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif akan menghasilkan warna merah bila terlihat dari bawah mikroskop. Sedangkan untuk bakteri gram positif, akan terlihat berwarna ungu. Hasil dari pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pewarnaan Gram Bakteri pada Sedimen Kolam Ikan Lele (*Clarias* sp.) Perbesaran 1000x (A. Bentuk Sel *bacil* Koloni Putih Susu ; B. Bentuk Sel *bacil* Koloni Putih Bening)

Bakteri gram negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna kristal violet saat proses pewarnaan gram. Sehingga warna yang dihasilkan adalah merah bila diamati dengan mikroskop. Bakteri gram negatif memiliki susunan membran ganda dimana membran plasmanya akan diselubungi oleh membran luar permeabel. Pseudopeptidoglikan terletak diantara kedua membran. Lapisan ini terdiri dari suatu lapisan yang tersusun dari N-asetilglukosamin dan N-asam asetiltalosaminuronik. Serta memiliki lapisan polisakarida yang merupakan polimer tebal yang terdiri dari galaktosamin, asam glukoronat, glukosa dan asetat.



Gambar 2. Hasil Warna Merah pada Uji Metil Red- Voges Proskuer

Sementara untuk uji metil red – voges proskuer, dilakukan untuk melihat fisiologi dari bakteri. Hasil yang didapatkan semua positif. Hasil positif menunjukkan adanya proses metabolisme secara asam oleh bakteri.

Bila warna merah tidak hilang, maka hal ini menunjukkan adanya proses fisiologi secara asam oleh bakteri. Metil merah ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) adalah indikator warna yang berubah menjadi merah dalam

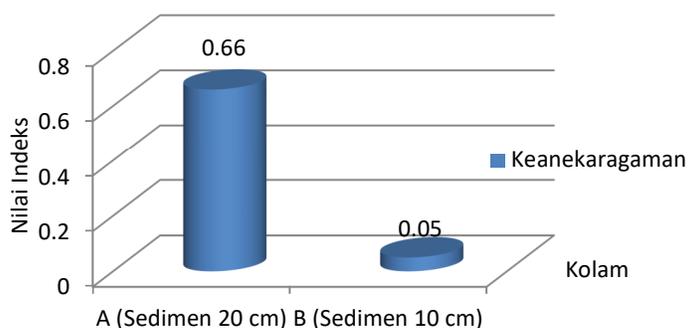
larutan asam. Dalam mikrobiologi, metil merah digunakan sebagai uji untuk mengidentifikasi bakteri yang melakukan metabolisme secara asam dan bakteri yang menghasilkan asam sebagai produknya.

Keanekaragaman Koloni Bakteri Metanogenik: Kolam A dengan ketebalan sedimen 20 cm didapatkan jumlah koloni $1,45 \times 10^8$ CFU berwarna putih susu dan $2,37 \times 10^8$ CFU berwarna putih bening. Sedangkan untuk kolam B didapatkan $1,58 \times 10^8$ CFU untuk koloni berwarna putih susu dan $5,7 \times 10^7$ CFU untuk koloni berwarna putih bening. Hasil yang didapatkan, dihitung dengan menggunakan rumus Shannon-Wiener agar dapat diketahui nilai indeks keanekaragaman.

Indeks keanekaragaman (H') adalah hasil perkalian antara nilai perbandingan jumlah dan total koloni (π), jumlah individu koloni (n_i) dan jumlah total koloni keseluruhan (N). Nilai indeks keanekaragaman kolam A dengan ketebalan sedimen 20 cm adalah 0,66. Sedangkan untuk kolam B didapatkan nilai indeks keanekaragaman sebesar 0,057.

Keanekaragaman bakteri metanogenik pada kedua kolam ikan dengan ketebalan sedimen yang berbeda yaitu 20 cm dan 10 cm memiliki perbedaan pula dalam nilai indeks keanekaragaman. Nilai indeks keanekaragaman kolam A dengan ketebalan sedimen 20 cm lebih tinggi dibandingkan dengan kolam B dengan ketebalan sedimen 10 cm. Namun, kedua kolam dikategorikan sama yaitu keanekaragaman rendah. Kriteria keanekaragaman dikategorikan mengikuti Shannon-Wiener dimana dilihat berdasarkan rentang H' . $H' < 1$ menunjukkan keanekaragaman rendah. Indeks keanekaragaman tergolong rendah menunjukkan bahwa keanekaragaman koloni bakteri metanogenik di sedimen kolam ikan lele (*Clarias* sp.) rendah (jumlah koloni yang ditemukan sedikit) dan kestabilan komunitas juga rendah. Sebaliknya, keseimbangan suatu ekosistem dapat bertahan karena keanekaragaman yang tinggi. Jadi, keanekaragaman rendah disebabkan oleh tidak stabilnya komunitas hingga menyebabkan ketidakseimbangan ekosistem. Adanya bakteri lain yang dominan juga berpengaruh pada keanekaragaman bakteri metanogenik yang rendah. Dibawah ini merupakan histogram nilai indeks keanekaragaman dari bakteri metanogenik pada sedimen kolam ikan lele terlihat pada Gambar 4.

Gambar 4. Histogram Nilai Keanekaragaman Pada Tiap Kolam Ikan Lele (*Clarias* sp.)



Untuk melihat perbedaan nilai antara dua sampel tersebut dilakukan perhitungan dengan uji beda dua nilai indeks keanekaragaman. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah parameter dua sampel tersebut berbeda. Membandingkan rata-rata yang didapatkan dengan memasukkannya dalam rumus. Berdasarkan hasil, dapat disimpulkan bahwa $t_s \geq t_{0,05(2)}$, di mana $2,912917349 \geq 1,85955$ menunjukkan hipotesis null ditolak. Oleh karena itu, H_A diterima yang berarti keanekaragaman koloni kolam A dan B berbeda. Alasan terjadinya perbedaan karena perbedaan ketebalan sedimen kolam ikan. Semakin tebal sedimen pada kolam ikan lele, maka semakin banyak nutrisi dalam sedimen. Hal ini menyebabkan semakin tinggi pula pertumbuhan dari bakteri metana. Sehingga menyebabkan nilai keanekaragaman semakin tinggi. Oleh karena itu, kolam A dengan ketebalan sedimen 20 cm memiliki nilai keanekaragaman lebih tinggi dibanding dengan kolam B yang memiliki ketebalan sedimen 10 cm.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat diambil kesimpulan bahwa pada kolam ikan lele (*Clarias sp.*) ditemukan bakteri metanogenik dengan ciri morfologi koloni *coccus* berwarna putih susu dan putih bening. Morfologi sel koloni putih bening memiliki bentuk sel *bacil* (batang halus) dan untuk koloni putih bening memiliki bentuk sel *bacil* (batang bergerigi). Keduanya termasuk kategori gram negatif dan dalam proses metabolisme bakteri metanogenik terbentuk secara asam. Nilai indeks keanekaragaman koloni bakteri metanogenik untuk kolam dengan ketebalan sedimen 20 cm sebesar 0,66 dan untuk kolam dengan ketebalan sedimen 10 cm sebesar 0,05. Jadi, nilai indeks keanekaragaman kolam A lebih tinggi dibanding kolam B.

Daftar Pustaka

- [1]Kapahang, A., Bintang, M., Hawab, M., Sastraatmadja, D. D., dan Solichin, D. D. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Metanogenik Asal Limbah Air Kelapa. *Jurnal Penelitian Institut Pertanian Bogor Forum Pascasarjana*. Bogor. Vol. 30, No. 1, 25-35.
- [2]Syauqi, A. 2017. *Mikrobiologi Lingkungan Peranan Mikroorganisme dalam Kehidupan*. Penerbit Andi-Unisma. Yogyakarta.
- [3]EREC Briefs. 2013. *Methane (Biogas) from Anaerobic Digesters*. Office of Energy Efficiency and Renewable Energy. US Department of Energy.
- [4]Wild, A. 2015. *Soils and The Enviroment: An Introduction*. Cambrigde. Cambrigde University.
- [5]Bouwman, A.F, Sombroek, W.G. 2018. *Inputs to climate change by soil and agriculture related activities. Scharpenseel HW*. Scomacker M, Ayoup A. Soil on a Warmer Earth. Elvisier. Amsterdam, 15-30.
- [6]Margareth, M. 2013. *Isolasi dan Seleksi Bakteri Metanotrof Pemeriksaan Nitrogen dari Sawah di Sragen Jawa Tengah*. Jurnal Penelitian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [7]Dubey, S.K. 2005. Microbial Ecology of Methane Emission in Rice Ecosystem. *Applied and Ecological Environment*. 3 : 1-27.
- [8]Woese C., Kandler O., Wheelis, M. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 87 (12) : 4576-9.
- [9]Cavalier-Smith, T. 2004. Only Six Kingdom of Life. Departement of Zoology University Oxford South Parks Road. *Proc Biol Sci*. 271 (1545) : 1251-62.
- [10]Kluyver A.J., van Niel C.B .1936. Prospects for a natural system of classification of bacteria. *Zentralbl. Bakterol. Parasitenkd. Infectinskr. Hyg., Abt. II*. 94: 369.
- [11]Syauqi, A. 2015. *Biostatistika Kuantifikasi Parameter Statistika*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unisversitas Islam Malang (Unisma). Malang.
- [12]Silalahi, F.E., Melki dan Surbakti, H. 2012. Karakterisasi Bakteri Penghasil Gas Metana pada Rumput Laut Jenis *Gracilaria sp.* *Maspari Journal Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya*, 4 (1) 83-91.