

## **BAKTERI PADA ORNAMEN GUA BABA SUMATERA BARAT YANG MEMILIKI AKTIVITAS UREASE SEBAGAI DASAR KAJIAN BIOGROUTING**

### ***BACTERIA OF SPELEOTHEM THAT HAVE THE ACTIVITY OF UREASE AS A BASE STUDY OF BIOGROUTING TECHNOLOGY***

**Fuji Astuti Febria<sup>1</sup>, Rahman Saputra<sup>1</sup>, Nasril Nasir<sup>1</sup>**

Biology Department, Andalas University, Kampus Unand Limau Manis<sup>1</sup>  
Padang 25163

#### **ABSTRACT**

*This study was to find bacteria from speleothem (stalaktit, stalagmit, limestone, and flowstone) that have the activity of urease as a base study of biogrouting technology. Survey method and purposive sampling were used in this study. Bacteria was cultured in B-4 medium. As results, 42 isolates were found from Baba Cave in the medium with urea as a carbon source. There were 21 isolates from stalaktit, 9 isolates from limestone, and 12 isolates from flowstone. We found 10 out of 12 isolates of bacteria having the activity of urease from flowstone.*

**Keywords :** *bacteria, spelothem, cave, biogrouting, urease activity*

#### **ABSTRAK**

*Penelitian ini bertujuan untuk menemukan isolate bakteri dari ornament gua (stalaktit, stalagmit, limestone, and flowstone) yang memiliki aktivitas urease sebagai dasar kajian biogrouting. Metode penelitian adalah survei dengan teknik purposive sampling. Medium yang digunakan adalah medium B-4. Hasil penelitian ditemukan sebanyak 42 isolat bakteri. Masing-masing 21 isolat dari stalaktit, 9 isolat dari batu gamping, dan 12 isolat dari flowstone. Aktivitas urease hanya diujikan terhadap isolat dari ornamen flowstone. Dari 12 isolat yang diujikan 10 isolat diantaranya positif memiliki aktivitas enzim urease.*

**Kata Kunci :** *bakteri, ornament, gua, biogrouting, aktivitas urease*

#### **1. PENDAHULUAN**

Karst merupakan bentangan alam yang terbentuk dari pelarutan batuan kapur. Kawasan karst di Indonesia mencakup luas sekitar 15,4 juta hektar atau 20 persen dari total luas wilayah Indonesia. Ekosistem karst merupakan ekosistem unik dengan adanya endokarst dan eksokarst yang membentuk gua-gua [16]. Gua merupakan salah satu ekosistem dengan ciri lingkungannya gelap, dengan terjadi fluktuasi suhu, oksigen dan ketersediaan energi sehingga kondisi ini merupakan habitat unik untuk mikroorganisme. Sejauh ini, kehadiran mikroorganisme telah dipelajari hampir di berbagai habitat termasuk habitat mikroorganisme di gua [1], [2], [3], [4], [7], [15].

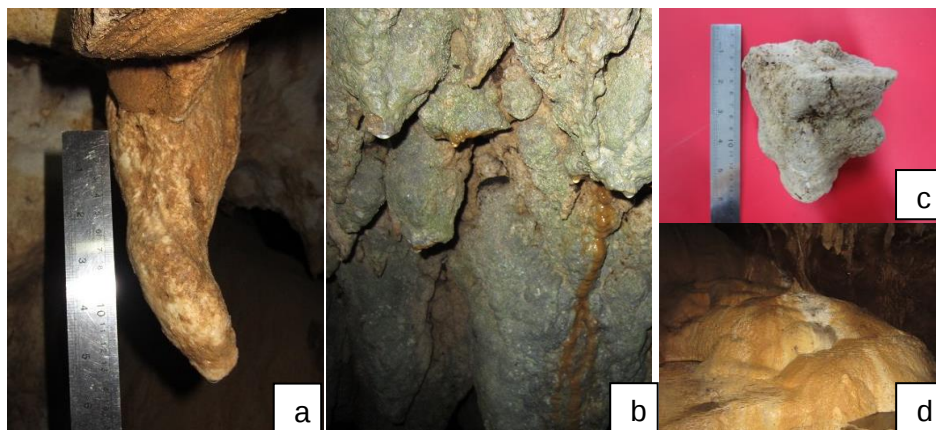
Beberapa peneliti melaporkan ditemukannya habitat bakteri yang diisolasi dari ornamen-ornamen pada gua kapur. Bakteri ini mempunyai peranan penting dalam pembentukan ornamen-ornamen tersebut [5], [8], [11]. Ornamen-ornamen (*speleothem*) pada gua kapur terdiri dari stalaktit, stalagmit, pilar, dan *flowstone* [17]. Bakteri pada ornamen-ornamen gua diketahui mampu untuk membentuk/presipitasi kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ).

Bakteri pembentuk/presipitasi kalsit ( $\text{CaCO}_3$ ) mempunyai peranan penting dalam teknologi *biogrouting*. Teknologi *biogrouting* diaplikasikan dengan menginjektikan bakteri urease, bersama dengan nutriennya (urea) dan bahan lain, yaitu  $\text{CaCl}_2$  dengan komposisi dan tahapan tertentu. Enzim urease akan mengkatalis urea sehingga melepas ion karbonat, yang selanjutnya akan terikat dengan ion kalsium dari  $\text{CaCl}_2$  dan mempresipitaskan kalsium karbonat/kalsit ( $\text{CaCO}_3$ ). Kalsit yang terbentuk dari teknologi *biogrouting* akan menjadi jembatan antara butiran pasir sehingga menyebabkan proses sementasi, dan mengubah pasir menjadi batuan pasir [12].

Sejauh ini penelitian tentang bakteri gua yang mempunyai aktivitas enzim urease asal gua di Sumatera Barat belum dilakukan. Oleh karena itu dilakukan studi awal dengan lokasi pengambilan sampel di Gua Baba, Indarung, Kota Padang yang berada dalam lokasi penambangan batu kapur PT.Semen Padang untuk mendapatkan isolat bakteri gua yang mempunyai aktivitas enzim urease sebagai dasar kajian *biogrouting*.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan metoda survey. Pengambilan sampel dilakukan di Gua Baba, Indarung, Kota Padang berupa sampel stalaktit dalam, stalaktit luar, batu gamping, dan *flowstone* dengan teknik purposive sampling.



**Gambar 1.** a. Stalaktit dalam, b. Stalaktit luar, c. Batu gamping, d. *Flowstone*

#### a. Bakteri Pada Ornamen Gua

Bakteri yang terdapat pada ornamen gua (stalaktit, stalagmit, batu gamping, dan *flowstone*) diisolasi menggunakan teknik pengenceran, penanaman dilakukan secara *pour plate* pada media B-4 agar (Urea,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , NA, yang dilarutkan dalam 1 liter aquades). Inkubasi dilakukan selama seminggu pada suhu ruang. Selanjutnya koloni yang ditemukan dimurnikan.

#### b. Penapisan Aktivitas Enzim Urease

Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium urea agar (Gelatin, NA, Dextrose, Sodium Chloride, Monopotassium Phosphate, Urea, Phenol Red dalam 1 l aquades ) lalu diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 5 hari. Isolat bakteri yang memiliki aktivitas urease akan mengubah warna media dari warna kuning menjadi warna merah muda.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai bakteri pada ornamen Gua Baba Sumatera Barat yang memiliki aktivitas urease sebagai dasar kajian biogrouting, maka didapatkan hasil sebagai berikut.

#### a. Bakteri Pada Ornamen Gua

Bakteri pada ornamen Gua hasil isolasi ditemukan beberapa isolat bakteri (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri yang ditemukan di Gua Baba, Indarung, Padang

| No.   | Sampel          | Jumlah Isolat |
|-------|-----------------|---------------|
| 1.    | Stalaktit Dalam | 9             |
| 2.    | Stalaktit Luar  | 12            |
| 3.    | Batu Gamping    | 9             |
| 4.    | Flowstone       | 12            |
| Total |                 | 42            |

Empat puluh dua isolat bakteri yang ditemukan merupakan bakteri yang mampu tumbuh pada medium B-4 yang kaya urea. Menurut Lisdiyanti dkk. (2011) bakteri biogrouting berkaitan erat dengan kemampuannya untuk bertahan dan toleran terhadap konsentrasi urea yang tinggi. Pengamatan makroskopis terhadap empat puluh dua isolat tersebut, ditampilkan berdasarkan masing-masing jenis sampel ornamen pada Tabel 2, 3, 4, dan 5.

Tabel 2. Pengamatan makroskopis isolat bakteri stalaktit dalam gua Baba.

| Kode Isolat | Makroskopis      |               |           |           |
|-------------|------------------|---------------|-----------|-----------|
|             | Warna Koloni     | Bentuk Koloni | Pinggiran | Permukaan |
| ISD 1       | Coklat           | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISD 2       | Krem             | Circular      | Undulate  | Raised    |
| ISD 3       | Putih Kekuningan | Circular      | Entire    | Raised    |
| ISD 4       | Putih            | Circular      | Entire    | Raised    |
| ISD 5       | Putih Kekuningan | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISD 6       | Kuning Pekat     | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISD 7       | Krem             | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISD 8       | Krem             | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISD 9       | Putih Kekuningan | Circular      | Undulate  | Raised    |

Tabel 3. Pengamatan makroskopis isolat bakteri stalaktit luar gua Baba.

| Kode Isolat | Makroskopis      |               |           |           |
|-------------|------------------|---------------|-----------|-----------|
|             | Warna Koloni     | Bentuk Koloni | Pinggiran | Permukaan |
| ISL 1       | Krem             | Circular      | Entire    | Umbonate  |
| ISL 2       | Putih Kekuningan | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISL 3       | Krem             | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISL 4       | Putih-Kuning     | Circular      | Entire    | Umbonate  |
| ISL 5       | Orange           | Circular      | Entire    | Convex    |
| ISL 6       | Krem             | Irregular     | Lobate    | Raised    |
| ISL 7       | Krem             | Irregular     | Undulate  | Raised    |
| ISL 8       | Putih            | Rhizoid       | Filiform  | Raised    |
| ISL 9       | Putih            | Irregular     | Undulate  | Raised    |
| ISL 10      | Krem             | Irregular     | Undulate  | Raised    |
| ISL 11      | Krem             | Irregular     | Undulate  | Raised    |
| ISL 12      | Krem             | Circular      | Entire    | Raised    |

Tabel 4. Pengamatan makroskopis isolat bakteri batu gamping gua Baba.

| Kode Isolat | Makroskopis      |               |           |           |
|-------------|------------------|---------------|-----------|-----------|
|             | Warna Koloni     | Bentuk Koloni | Pinggiran | Permukaan |
| IBG 1       | Putih Kekuningan | Circular      | Undulate  | Umbonate  |
| IBG 2       | Kuning Muda      | Irregular     | Undulate  | Raised    |
| IBG 3       | Orange           | Circular      | Entire    | Raised    |
| IBG 4       | Krem             | Irregular     | Lobate    | Raised    |
| IBG 5       | Kuning Kecoklat  | Circular      | Entire    | Raised    |
| IBG 6       | Krem             | Circular      | Undulate  | Raised    |
| IBG 7       | Putih            | Circular      | Entire    | Raised    |
| IBG 8       | Putih Kekuningan | Circular      | Entire    | Raised    |
| IBG 9       | Putih            | Circular      | Entire    | Convex    |

**Tabel 5.** Pengamatan makroskopis isolat bakteri *flowstone* gua Baba.

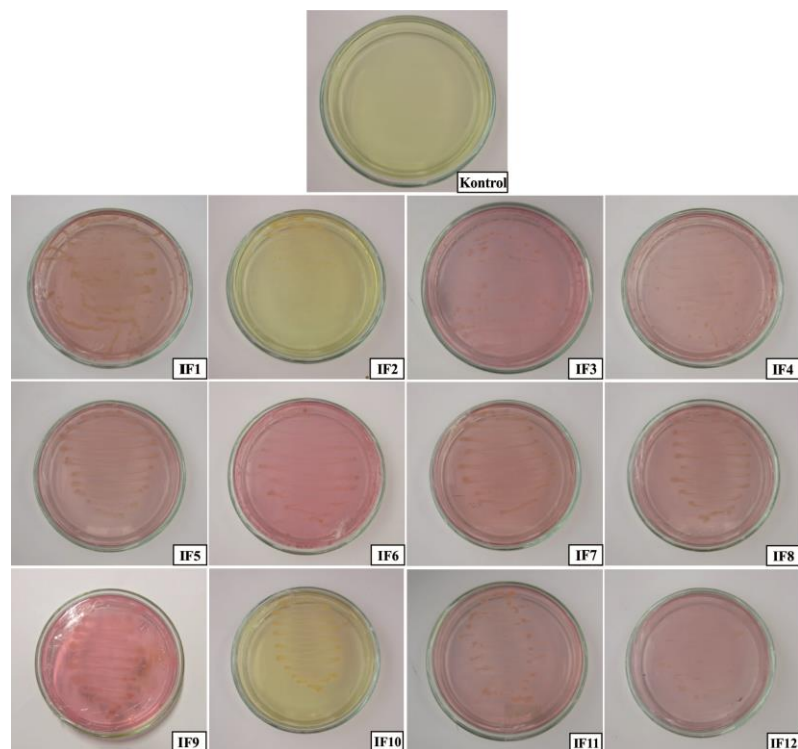
| Kode Isolat | Makroskopis      |               |           |           |
|-------------|------------------|---------------|-----------|-----------|
|             | Warna Koloni     | Bentuk Koloni | Pinggiran | Permukaan |
| IF 1        | Kuning Tua       | Circular      | Entire    | Convex    |
| IF 2        | Putih Susu       | Circular      | Entire    | Raised    |
| IF 3        | Putih Kekuningan | Circular      | Undulate  | Convex    |
| IF 4        | Putih Kekuningan | Irregular     | Lobate    | Raised    |

|       |                  |           |          |        |
|-------|------------------|-----------|----------|--------|
| IF 5  | Coklat Bening    | Circular  | Entire   | Convex |
| IF 6  | Coklat           | Circular  | Entire   | Convex |
| IF 7  | Putih            | Circular  | Entire   | Raised |
| IF 8  | Kuning Muda      | Circular  | Entire   | Convex |
| IF 9  | Putih Beig       | Circular  | Entire   | Convex |
| IF 10 | Putih Susu       | Irregular | Undulate | Raised |
| IF 11 | Putih Kekuningan | Circular  | Entire   | Convex |
| IF 12 | Putih Kekuningan | Circular  | Undulate | Convex |

Menurut [8] bahwa bakteri yang diisolasi dari ornamen gua mempunyai kemampuan untuk mempresipitasi kalsit. Isolat bakteri dari *flowstone* mempunyai kemampuan presipitasi kalsit yang lebih tinggi dibandingkan yang lain.

#### b. Penapisan aktivitas Urease Bakteri *flowstone* Gua

Bakteri dalam proses *biogrouting* harus mampu menghasilkan enzim urease. Pada tahap penapisan aktivitas urease, ke-12 isolat *flowstone* diujikan dengan menggunakan medium urea agar. Hasil penapisan aktivitas urease ditampilkan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Penapisan aktivitas enzim urease oleh bakteri. Hidrolisis urea oleh aktivitas enzim urease menyebabkan warna medium dari kuning menjadi merah muda.

Gambar 2 menunjukkan bahwa dari 12 isolat bakteri *flowstone*, 10 isolat bakteri mempunyai aktivitas enzim urease ( isolat IF1, IF3, IF4, IF5, IF6, IF7, IF8, IF9, IF11 dan IF12). Isolat bakteri yang mempunyai aktivitas enzim urease akan mengubah warna pada

medium dari kuning menjadi merah muda. Menurut [13], aktivitas enzim urease (urea amidohydrolase, EC 3.5.1.5) diketahui dari perubahan warna yang terjadi dalam medium.

Perubahan warna pada medium merupakan dasar penapisan aktivitas enzim urease oleh bakteri. Terjadinya perubahan warna medium disebabkan oleh perubahan pH dengan penambahan indikator phenol red. Medium Urea Agar memiliki pH awal 7,0 (netral) yang berwarna kuning. Kultur bakteri yang menghasilkan enzim urease mampu menghidrolisis urea dan menghasilkan amonium ( $\text{NH}_3$ ). Amonium inilah yang menyebabkan pH medium menjadi basa dan mengubah warnanya menjadi merah muda. Indikator phenol red berada dalam bentuk zwitter ion dengan grup sulfat bermuatan negatif dan grup keton membawa tambahan 1 proton. Jika pH meningkat ( $\text{pK}_a = 7,7$ ) akibat adanya amonium, proton dari grup keton ini hilang, dan menghasilkan ion merah yang disebut  $\text{PS}^{2-}$ . Hal inilah yang menyebabkan warna medium berubah dari kuning menjadi merah muda [9].

Peran utama urease adalah menyediakan energi internal dan eksternal bagi organisme untuk menggunakan urea atau hidroksi urea sebagai sumber N. Beberapa mikroba yang mensintesis urease antara lain: *Bacillus magaterium*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* sp., *Brevibacillus brevis*, *Pasteurella* sp. [6], [11].

#### 4. DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Barton, H.A., Taylor, M.R., and Pace, N.R. Molecular phylogenetic analysis of a bacterial community in an oligotrophic cave environment. *Geomicrobiol J.* 2004; 21: 11-20.
- [2]. Barton, H.A., Taylor, N.M., Kreate, M.P., Springer, A.C., Oehrle, S.A., and Bertog, J.L. The Impact of Host Rock Geochemistry on Bacterial Community Structure in Oligotrophic Cave Environments. *Int J Speleol.* 2007; 36: 93-104
- [3]. Barton, H.A. Introduction to cave microbiology: A review for the non-specialist. *Journal of Cave and Karst Studies.* 2006; v. 68, no. 2, p. 43–54.
- [4]. Barton, H.A., and Northup, D.E. Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives. *Journal of Cave and Karst Studies.* 2007; v. 69, no. 1, p. 163–178.
- [5]. Baskar, S., Baskar, R., Mauclaire, L., and McKenzie, J. Microbially induced calcite precipitation in culture experiments: Possible origin for stalactites in Sahastradhara caves, Dehradun, India. *Current Science.* 2006; 90, 58-64.

- [6]. Cacchio, P., Ercole, C., Cappuccio, G., and Lepidi, A. Calcium carbonate precipitation by bacterial strains isolated from a limestone cave and from a loamy soil. *Geomicrobiology Journal*. 2003; 20, 85-98.
- [7]. Engel, A.S., Stern, L.A., and Bennett, P.C. Microbial contributions to cave formation: New insights into sulfuric acid speleogenesis: *Geology*. 2004; v. 32, p. 369–372.
- [8]. Ercole, C., Cacchio, P., Cappuccio, G., and Lepidi, A. Deposition of calcium carbonate in karst caves: Role of bacteria in sticce's cave. *International Journal of Speleology*. 2001; 30, 69-79.
- [9]. Gusmawati, N. F., Savitri, C. K., Puspita, L., dan Fahrulozy. Seleksi Bakteri Urease Untuk Teknologi Biogrouting. *Jurnal Kelautan Nasional*. 2001; Vol.5, No.1.
- [10]. Hall-Stoodley, L., J.W. Costerton, and P. Stoodley. Bacterial Biofilms: From The Natural environment to Infectious Diseases. *Nature*. 2004; 2, 95-108.
- [11]. Komala, T., and Khun, T.C. Calcite-Forming Bacteria Located In Limestone Area Of Malaysia. *Journal of Asian Scientific Research*. 2013; 3(5):471-484.
- [12]. Lee, Y.N. Calcite production by *Bacillus amyloliquefaciens* CMB01. *Journal of Microbiology*. 2003; Vol. 4, no. 4.
- [13]. Lisdiyanti, P., Eko, S., Shant, R., Fahrurrozi, Miranti, N. S., dan Niken, F. G. Bakteri Pembentuk Karbonat Dalam Aplikasi Pada Proses Biogrouting. *Makalah Prosiding Simposium Nasional Ekohidrologi*. 2011; Jakarta
- [14]. Moore, G.W., and Sullivan, G.N. *Speleology: the study of caves*, rev 2nd ed. St. Louis, MO: Cave Books, 1978; Inc. 150 p.
- [15]. Northup, D.E. and Lavoie, K.H. Geomicrobiology of caves: A review. *Geomicrobiol. J*. 2001; 18, 199–222.
- [16]. Rahmadi, C. Ekosistem Karst dan Gua. *Makalah Bidang Zoologi Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong*. 2007.
- [17]. Wardani, P.I. Morfometri Ornamen Gua (Speleothem) Di Kawasan Kars Buniayu, Sukabumi, Jawa Barat. *Skripsi FMIPA Universitas Andalas*. 2008.