

**PRESIPITASI KALSIUM KARBONAT (CACO_3) SERTA ANALISIS
Extracellular Polymeric Substances (EPS) BAKTERI KARBONOKLASTIK
ASAL LUKISAN PRASEJARAH PADA KARST MAROS-PANGKEP**

**PRECIPITATION OF CALCIUM CARBONATE (CACO_3) AND ANALYSIS OF
Extracellular Polymeric Substances (EPS) CARBONATOGENIC BACTERIA
FROM HISTORICAL PAINTING OF KARST MAROS-PANGKEP**



NUR AFIFAH ZHAFIRAH

H052222005



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

**PRESIPITASI KALSIUM KARBONAT (CACO_3) SERTA ANALISIS
Extracellular Polymeric Substances (EPS) BAKTERI KARBONOKLASTIK
ASAL LUKISAN PRASEJARAH PADA KARST MAROS-PANGKEP**

**PRECIPITATION OF CALCIUM CARBONATE (CACO_3) AND ANALYSIS OF
Extracellular Polymeric Substances (EPS) CARBONATOGENIC BACTERIA
FROM HISTORICAL PAINTING OF KARST MAROS-PANGKEP**

NUR AFIFAH ZHAFIRAH

H052222005



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

**PRESIPITASI KALSIUM KARBONAT (CACO_3) SERTA ANALISIS
Extracellular Polymeric Substances (EPS) BAKTERI KARBONOKLASTIK
ASAL LUKISAN PRASEJARAH PADA KARST MAROS-PANGKEP**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Biologi

Disusun dan diajukan oleh

NUR AFIFAH ZHAFIRAH

H052222005

Kepada



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

Optimized using
trial version
www.balesio.com

TESIS

PRESIPITASI KALSIUM KARBONAT (CaCO_3) SERTA ANALISIS EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES (EPS) BAKTERI KARBONOKLASTIK ASAL LUKISAN PRASEJARAH KARST MAROS-PANGKEP

NUR AFIFAH ZHAFIRAH .

H052222005

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal Juni 2024

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Magister Biologi

Departemen Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

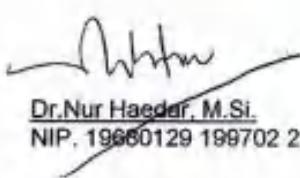
Universitas Hasanuddin

Makassar

Mengesahkan:

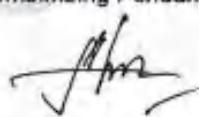
Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping.



Dr. Nur Haeder, M.Si.
NIP. 19660129 199702 2 001

Ketua Program Studi
Magister Biologi,



Dr. Slamet Santosa, M.Si.
NIP. 19620726 198702 1 001

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,




Dr. Eng. Amiruddin, M.Si.
NIP. 19720515 199702 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "PRESIPITASI KALSIUM KARBONAT (CACO₃) SERTA ANALISIS Extracellular Polymeric Substances (EPS) BAKTERI KARBONOKLASTIK ASAL LUKISAN PRASEJARAH PADA KARST MAROS-PANGKEP" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Dr. Nur Haedar, M.Si dan Dr. Slamet Santosa, M.Si). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal (Biodiversitas, 25(2), 2139-2147, DOI: 10.13057/biodiv/d250532) sebagai artikel dengan judul "Micromorphology characterization of crystal calcium carbonate and exopolysaccharides quantification carbonatogenic bacterial LTP4-d isolated from historical painting of Maros-Pangkep karst area, Indonesia". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 28-Mei-2024



UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Dr. Nur Haedar, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Slamet Santosa, M.Si sebagai Pembimbing Pertama. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada yang bersangkutan. Ucapan terima kasih juga saya hantarkan kepada Dr. Rosana Agus, M.Si, Dr. Magdalena Litaay, M.Sc dan Dr. Elis Tambar, M.Si sebagai dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan terhadap penelitian dan penulisan tesis ini. Saya juga mengucapkan banyak terima kasih kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam yang telah memfasilitasi saya dalam menempuh program magister ini serta kepada para dosen yang telah melimpahkan banyak ilmu selama saya duduk dibangku perkuliahan.

Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada Kak Riu Wardhani, S.Si., M.Si, Kak Fuad Gani, S.Si dan Kak Heryadi, S.Si, M.Si atas arahan dan bantuannya selama proses penelitian ini berlangsung. Tidak lupa juga saya menghantarkan banyak terima kasih kepada Sarwan dan kawan-kawan teman asisten laboratorium mikrobiologi yang selalu menemani saat proses penelitian berlangsung serta kepada seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian dan penulisan tesis ini, saya hantarkan banyak terima kasih.

Tidak lupa saya hantarkan banyak terima kasih kepada Kak Arifah Zakaria, S.Si, Kak Asniarti, S.pd, Kak Windi Egidya, S.Si, Hebrianti, S.Pd, Ikram Mooduto, S.Si, Khaeriah, S.Si, Kak Andi Darmawansya, S.Si, Kak Ilin Kusmawati, M.Si dan Ibu Sitti Rahmah, S.P, teman-teman magister biologi, terima kasih banyak atas seluruh bantuan dan memori yang telah diukirkan selama saya menempuh program magister. Mari tetap berkomunikasi setelah perkuliahan ini berakhir.

Tidak lupa kepada Khofifah Nur, S.Arch (C), Sahrina Abduh, S.Kep dan Tri Kusuma Wardhani, teman-teman seperjuangan tugas akhir selama proses magister ini berlangsung. Terima kasih sudah menemani dan mendengarkan keluh kesah penulis yang tiada habisnya.

Tak luput juga kepada Abang, Kakak, Kak Tri, Kak Awal, Adek Tolha, Abang Olid dan Adek Qonit, terima kasih sudah menjadi benar-benar rumah tempat pulang bagi penulis. Akhirnya, kepada kedua orang dengan ketulusan yang tidak melebihi apapun kepada penulis, Bapak Sumariyono dan Ibu Siti Arfa, bahkan kata terima kasih pun tidak cukup, tidak ada pengorbanan yang lebih besar yang pernah penulis rasakan selain darimu. Terimakasih.



Makassar, 27 Mei 2024

Nur Afifah Zhafirah

ABSTRAK

NUR AFIFAH ZHAFIRAH. **PRESIPITASI KALSIUM KARBONAT (CaCO_3) SERTA ANALISIS EPS (Extracellular Polymeric Substances) BAKTERI KARBONOKLASTIK ASAL LUKISAN PRASEJARAH PADA KARST MAROS-PANGKEP** (dibimbing oleh Nur Haedar, Slamet Santosa).

Kawasan karst di Indonesia merupakan kawasan karst terbesar kedua didunia setelah Cina. Salah satu kawasan karst terbesar di Indonesia adalah Kawasan Karst Maros-Pangkep. Pada kawasan ini, ditemukan lukisan prasejarah di permukaan dinding batuan karst yang seiring berjalannya waktu, lukisan-lukisan tersebut mulai mengalami kerusakan akibat berbagai faktor salah satunya adalah penumpukan presipitat kalsium karboat yang menutupi permukaan lukisan. Presipitat ini merupakan hasil metabolisme bakteri karbonoklastik yang ditemukan pada permukaan dinding karst. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah Karst Maros-Pangkep tersebut kemudian menganalisi kemampuannya dalam mempresipitasi kalsium karbonat. Selain itu, pada penelitian ini juga dilakukan penentuan kadar produksi EPS dengan metode *congo red binding assay* dan pengukuran kadar amonia yang dihasilkan. Penelitian ini juga menganalisis karakteristik mikro-morfologi dari presipitat kalsium karbonat menggunakan SEM-EDS. Diantara 60 isolat bakteri yang diperoleh, terdapat 24 isolat yang dikonfirmasi positif sebagai bakteri karbonoklastik dengan kemampuan presipitasi yang berbeda-beda. Diantaranya, produksi presipitat tertinggi diperoleh dari isolat bakteri LTP4-d dengan berat presipitat sebesar $37.61 \pm 0.12 \text{ mg/mL}$. Kadar amonia dan kadar EPS tertinggi juga diperoleh dari isolat LPE4-d dengan jumlah masing-masing adalah $884.72 \pm 1.04 \text{ ppm}$ dan $64.39 \pm 0.02 \text{ mg/mL}$. Hasil SEM menunjukkan bahwa presipitat CaCO_3 dari LTP4-d termasuk kedalam golongan veterite dan mengandung unsur C 0,32%; O 15,24%; Ca 84,53%.

Kata Kunci: Kalsium karbonat, Karst Maros-Pangkep, Lukisan Prasejarah



ABSTRACT

NUR AFIFAH ZHAFIRAH. **PRECIPITATION OF CALCIUM CARBONATE (CACO_3) AND ANALYSIS OF EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) CARBONATOGENIC BACTERIA FROM HISTORICAL PAINTING OF KARST MAROS-PANGKEP** (supervised by Nur Haedar, Slamet Santosa).

The karst region in Indonesia is the second largest karst area in the world after China. One of the largest karst areas in Indonesia is the Maros-Pangkep Karst Area. In this area, prehistoric paintings are found on the surface of karst rock walls which, over time, have begun to deteriorate due to various factors, one of which is the accumulation of calcium carbonate precipitate covering the surface of the paintings. This precipitate is the result of the metabolism of carbonoclastic bacteria found on the surface of karst walls. This study aims to isolate carbonoclastic bacteria from the prehistoric paintings of the Maros-Pangkep Karst and then analyze their ability to precipitate calcium carbonate. In addition, this study also determines the level of EPS production using the congo red binding assay method and measures the level of produced ammonia. This research also analyzes the micro-morphological characteristics of calcium carbonate precipitates using SEM-EDS. Out of the 60 bacterial isolates obtained, 24 isolates were confirmed positive as carbonoclastic bacteria with varying precipitation abilities. Among them, the highest precipitate production was obtained from the LPE4-d bacterial isolate with a precipitate weight of 37.61 ± 0.12 mg/mL. The highest levels of ammonia and EPS were also obtained from the LPE4-d isolate, with respective amounts of 884.72 ± 1.04 ppm and 64.39 ± 0.02 mg/mL. SEM results show that the CaCO_3 precipitate from LTP4-d belongs to the veterite group and contains 0.32% C; 15.24% O; and 84.53% Ca.

Keywords: *Calcium carbonate, Limestone Maros-Pangkep, Carbonatogenic Bacteria*



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGAJUAN TESIS	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Daftar Singkatan	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Berpikir	4
BAB II METODE PENELITIAN.....	5
2.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian.....	5
2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	5
2.3 Alat Penelitian.....	5
2.4 Bahan Penelitian.....	5
2.4 Prosedur Penelitian.....	5
2.4.1 Pengambilan Sampel.....	5
 dia.....	5
rbonoklastik	6
kasi Bakteri Karbonoklastik	6
m Urease.....	7

2.8 Karakterisasi Bakteri Karbonoklastik.....	7
2.8.1 Pengamatan Koloni Bakteri.....	7
2.8.2 <i>Gram staining</i>	7
2.8.3 Uji Biokimia	7
2.9 Analisis Presipitat Kalsium Karbonat	8
2.9.1 Uji Potensi Presipitasi CaCO_3 Bakteri Karbonoklastik.....	8
2.9.2 Perhitungan Berat Presipitasi CaCO_3	8
2.9.3 Analisa Kadar Amonia	9
2.9.4 Karakterisasi Mikro-Morfologi Kristal Kalsium Karbonat CaCO_3	9
2.10 Kuantifikasi EPS	9
2.11 Analisis Data.....	9
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	10
3.1 Lokasi Pengambilan Sampel.....	10
3.1.1 Kerusakan Pada Lukisan Karst Maros-Pangkep.....	10
3.1.2 Faktor Penyebab Kerusakan Lukisan Prasejarah	13
3.2 Isolasi Bakteri Asal Lukisan Prasejarah Karst Maros-Pangkep.....	14
3.3 Seleksi Bakteri Karbonoklastik.....	17
3.4 Uji Kualitatif Enzim Urease.....	20
3.5 Karakterisasi Bakteri Karbonoklastik.....	21
3.5.1 Pengamatan Bakteri Karbonoklastik	21
3.5.1.1 Pengamatan Makroskopis.....	21
3.5.1.2 Pengamatan Mikroskopis.....	23
3.5.2 Uji Biokimia	25
3.5.2.1 Uji SIM (Sulfide Indole Motility)	25
3.5.2.2 Uji Sitrat	26
3.5.2.3 Uji MR-VP (<i>Methyl Red Voges Proskauer</i>)	27
3.5.2.4 Uji Katalase.....	29
3.6 Uji Potensi Presipitasi CaCO_3 Bakteri Karbonoklastik.....	29
3.6.1 Presipitasi CaCO_3	30
3.6.2 Analisa Kadar Amonia	31
3.6.3 Analisa Kadar EPS	33
3.6.4 Analisa Mikro-Morfologi Kalsium Karbonat	35
Optimized using trial version www.balesio.com	38



4.1 Kesimpulan	38
4.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
Daftar Riwayat Hidup ...	72



Optimized using
trial version
www.balesio.com

Daftar Tabel

Tabel 1. Hasil Pemurnian Isolat Bakteri Asal Wilayah Karst Sulawesi Selatan	14
Tabel 2. Hasil Seleksi Bakteri Karbonoklastik pada media CCP Agar.....	18
Tabel 3. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni.....	21
Tabel 4. Hasil Pengamatan Mikroskopis.	24
Tabel 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri Karbonoklastik.	25
Tabel 6. Hasil perhitungan berat presipitat kalsium karbonat yang dihasilkan oleh bakteri karbonoklastik.....	30
Tabel 7. Hasil perhitungan kadar produksi amonia oleh bakteri karbonoklastik.	32
Tabel 8. Hasil perhitungan kadar EPS yang dihasilkan bakteri karbonoklastik setelah masa inkubasi 21 hari.....	34
Tabel 9. Komposisi kandungan penyusun presipitat kalsium karbonat isolat LTP4-d..	37
Tabel 10. Hasil Perhitungan Berat Presipitat CaCO ₃	61
Tabel 11. Perhitungan kadar EPS.	64
Tabel 12. Hasil Perhitungan Amonia.	67



Daftar Gambar

Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel Bakteri Asal Lukisan Prasejarah	10
Gambar 2. Lukisan Prasejarah Pada Dinding Gua Karst Maros-Pangkep	11
Gambar 3. Lukisan prasejarah yang mulai mengalami kerusakan	12
Gambar 4. Kerusakan lukisan prasejarah tahun 2018-2019	13
Gambar 5. Hasil Pengamatan Isolat Bakteri LTP1-a.....	17
Gambar 6. Uji Kualitatif Aktifitas Urease Bakteri Karbonoklastik Isolat PRW4-c.....	20
Gambar 7. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Karbonoklastik.....	22
Gambar 8. Hasil Uji SIM (Sulfide Indol Motility).....	26
Gambar 9. Hasil Uji Sitrat Bakteri Karbonoklastik	27
Gambar 10. Hasil Uji Methyl Red Bakteri Karbonoklastik.....	28
Gambar 11. Hasil Uji Voges Preskauer Bakteri Karbonoklastik	28
Gambar 12. Hasil Positif Uji Katalase Bakteri Karbonoklastik Pada Isolat LPE5-B.....	29
Gambar 13. Histogram perhitungan berat presipitat kalsium karbonat yang dihasilkan oleh bakteri karbonoklastik.....	31
Gambar 14. Histogram kadar produksi amonia oleh bakteri karbonoklastik.....	32
Gambar 15. Histogram perhitungan kadar EPS yang dihasilkan bakteri karbonoklastik.....	35
Gambar 16. Karakterisasi morfologi presipitat kalsium karbonat asal isolat LTP4-d menggunakan scanning electrrone microscope.	36
Gambar 17. Grafik kadar senyawa penyusun presipitat kalsium karbinat isolat LTP4-d.	37
Gambar 18. Hasil Uji Kualitatif Enzim Urease Pada Media Christensen Urea Agar....	48
Gambar 19. Hasil Isolat Bakteri Karbonoklastik Pada Media SIM.....	49
Gambar 20. Hasil Uji Sitrat Isolat Bakteri Karbonoklastik.....	50
Gambar 21. Hasil Uji Methyl Red Isolat Bakteri Karbonoklastik Pada Media MR-VP.....	51
Gambar 22. Hasil Uji Voges Preskauer Isolat Bakteri Karbonoklastik.....	52
Gambar 23. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Karbonoklastik.....	53
Gambar 24. Hasil Gram Staining Pada Isolat Bakteri Karbonoklastik.	54
Gambar 25. Hasil Seleksi Isolat Bakteri Karbonoklastik.....	55
Gambar 26. Hasil Isolasi Bakteri Asal Lukisan Prasejarah Karst Maros-Pangkep	57
Gambar 27. Sampel EPS Bakteri Karbonoklastik.....	58
Gambar 28. Hasil Inkubasi Bakteri Karbonoklastik Pada Media NB U/Ca.	59
Gambar 29. Presipitat CaCO_3 Asal Bakteri Karbonoklastik.....	60
Gambar 30. Hasil analisis EDS Isolat LTP4-d.....	70
Gambar 31. Lokasi pengambilan sampel isolat bakteri karbonoklastik.....	71
.....ngambilan Sampel Isolat Bakteri Karbonoklastik	71



Daftar Lampiran

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian.....	45
Lampiran 2. Skema Kerja Pengambilan Sampel, Isolasi dan Seleksi Bakteri Karbonoklastik.....	46
Lampiran 3. Skema Kerja Uji Presipitat CaCO ₃ yang Dihasilkan Bakteri.....	47
Lampiran 4. Hasil Uji Kualitatif Enzim Urease	48
Lampiran 5. Hasil Uji SIM (Sulfid Indole Motiliy)	49
Lampiran 6. Hasil Uji Sitrat Isolat Bakteri Karbonoklastik	50
Lampiran 7. Hasil Uji Methyl Red Isolat Bakteri Karbonoklastik.....	51
Lampiran 8. Hasil Uji Voges Preskauer Isolat Bakteri Karbonoklastik	52
Lampiran 9. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri Karbonoklastik.....	53
Lampiran 10. Hasil Karakterisasi Gram Staining Pada Bakteri Karbonoklastik	54
Lampiran 11. Hasil Seleksi Isolat Bakteri Karbonoklastik	55
Lampiran 12. Hasil Isolasi Bakteri Karbonoklastik	56
Lampiran 13. Sampel Eksopolisakarida Asal Bakteri Karbonoklastik	58
Lampiran 14. Uji Potensi Presipitat CaCO ₃ Oleh Bakteri Karbonoklastik Pada Media NB U/Ca	59
Lampiran 15. Hasil Presipitasi CaCO ₃ Asal Bakteri Karbonoklastik.....	60
Lampiran 16. Hasil Perhitungan Berat Presipitat CaCO ₃ Asal Bakteri Karbonoklastik	61
Lampiran 17. Perhitungan Kadar EPS.....	64
Lampiran 18. Hasil Perhitungan Kadar Amonia.....	67
Lampiran 19. Analisis Energy Dispersive Spectroscopy.....	70
Lampiran 20. Lokasi dan Foto Pengambilan Sampel	71



Daftar Singkatan

Lambang/singkatan	Arti dan Penjelasan
EPS	= <i>extracellular Polymeric substances</i>
IUPAC	= <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
NA	= <i>nutrient agar</i>
NB	= <i>nutrient broth</i>
ha	= hektare
g	= gram
L	= liter
EDS	= <i>energy dispersive spectroscopy</i>
SEM	= <i>scanning electron microscope</i>
CR	= <i>congo red</i>
mg	= miligram
VP	= voges proskauer
MR	= methyl red
SIM	= <i>sulfide indole motility</i>
CCP	= <i>alcium carbonate precipitation</i>
LAF	= <i>laminar air flow</i>
ACC	= <i>amorf calcium carconate</i>
MICP	= <i>microbially induced calcite precipitation</i>
BBCB	= balai besar cagar budaya
UNESCO	= <i>united nations educational scientific and cultural organization</i>



Optimized using
trial version
www.balesio.com

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kawasan karst di Indonesia merupakan kawasan karst terbesar kedua di dunia setelah Cina. Kawasan ini terbentang luas diseluruh wilayah Indonesia dengan total menghampiri 15,4 juta hektare. Salah satu kawasan karst terbesar di Indonesia adalah Kawasan Karst Maros-Pangkep yang terletak di Sulawesi Selatan. Sejak 24 Mei 2023, UNESCO menetapkan bahwa kawasan karst Maros-Pangkep termasuk kedalam daftar UNESCO Global Geopark serta diakui sebagai 10 situs geopark terbaik di Indonesia. Kawasan karst Maros-Pangkep ini dikenal menyimpan seni batu tertua di dunia berupa lukisan prasejarah pada dinding-dinding gua batuan karst yang diperkirakan minimal berumur 39.900 tahun (Duli *et al.*, 2019). Terdapat berbagai bentuk lukisan yang telah teridentifikasi ditemukan pada kawasan karst Maros-Pangkep yang didominasi oleh lukisan berbentuk cap tangan. Selain itu, terdapat bentuk lukisan lainnya seperti gambar cap kaki pada Gua Bulu Sipong, lukisan berbentuk hewan seperti anjing pada Gua Leang Pettae, ataupun babirusa serta anoa yang dikabarkan merupakan hewan endemik khas Sulawesi Selatan. Lukisan-lukisan ini ditemukan dalam beberapa warna yang berbeda yaitu cokelat, hitam dan umumnya berwarna merah. Mitos yang beredar dimasyarakat, diketahui bahwa lukisan-lukisan tersebut dilukis menggunakan darah hewan pada masa itu, namun hal ini dipatahkan oleh penelitian terbaru oleh Thosibo *et al.*, 2019 bahwa lukisan-lukisan tersebut tidak dilukis menggunakan darah melainkan menggunakan hematid yang berbentuk seperti bata merah dengan perlakuan terlebih dahulu mengubah hematid padat menjadi pewarna cair sebelum digunakan. Lukisan-lukisan ini merupakan salah satu artefak yang menjadi ciri khas dari gua karst Maros-Pangkep. Namun seiring berjalannya waktu, diketahui bahwa lukisan-lukisan tersebut sudah mulai mengalami kerusakan. Berdasarkan data yang diperoleh Thosibo *et al.*, 2019, sekitar 60% dari lukisan prasejarah yang telah ditemukan pada lingkungan karst Maros-Pangkep ini sudah mulai mengalami kerusakan.

Kerusakan yang terjadi pada lukisan ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah faktor antropogenik seperti kegiatan penebangan pohon yang dilakukan oleh manusia di sekitar lingkungan gua karst mengakibatkan degradasi ataupun erosi pada lingkungan karst juga akan menurunkan kualitas air pada lingkungan gua dan mempengaruhi rusaknya vegetasi di sekitar gua menyebabkan mulut gua menjadi terbuka dan paparan sinar matahari dapat masuk ke dalam gua. Paparan sinar matahari secara terus menerus akan menyebabkan kerusakan pada lukisan prasejarah yang terletak pada permukaan dinding gua (Deli *et al.*, 2019). Faktor antropogenik lainnya juga dapat berupa perlakuan manusia yang berkunjung kedalam gua, seperti mencoret



ua, mengelupas lapisan batuan ataupun makan di dalam gua yang uap air, minyak dan berbagai partikel lainnya menempel pada prasejarah dan menyebabkan perubahan kimia pada lukisan seperti perubahan warna ataupun perubahan struktur.

an prasejarah juga dapat diakibatkan oleh faktor alam seperti perubahan signifikan dan menyebabkan penyusutan pada batu hingga retak pada permukaan batuan dan ikut merusak lukisan prasejarah

yang terdapat pada permukaannya. Kelembaban juga berperan dalam terjadinya kerusakan pada lukisan prasejarah. Kelembaban yang cukup akan mendukung pertumbuhan organisme baik bakteri ataupun lumut serta jamur pada permukaan batuan. Namun, pada musim panas berikutnya, organisme tersebut akan mengalami kematian dan meninggalkan bekas berwana hitam ataupun cokelat yang akan menutupi lukisan. Air hujan juga dapat menyebabkan kerusakan pada lukisan prasejarah. Mulut gua yang tidak terlindungi akan terpapar oleh air hujan secara terus menerus dan bereaksi dengan karbon dioksida sehingga membentuk asam karbonat yang merusak lukisan pada permukaan batuan (Yusriana *et al.*, 2020).

Faktor lain penyebab kerusakan lukisan prasejarah juga adalah pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan batuan. Adesso *et al.* (2020) menjelaskan bahwa berbagai jenis mikroorganisme dapat ditemukan dari permukaan batuan karst, baik dalam golongan bakteri ataupun jamur. Disisi lain, mikroorganisme ini juga memiliki peran penting dalam pembentukan gua dan sedimen yang sangat mempengaruhi berbagai proses biogeokimia. Mikroorganisme ini akan bertindak sebagai promotor presipitasi ataupun pelarutan mineral dalam batuan serta air gua yang akan menghasilkan pembentukan baru dan speleotem. Salah satu mikroorganisme yang memiliki peran penting dalam proses presipitasi batuan adalah bakteri dengan kemampuan presipitasi kalsit atau yang dikenal sebagai *microbially induced calcite precipitation* (MICP). Menurut Balch (2017), aktifitas MICP menghasilkan presipitat kalsium karbonat membentuk batuan kalsit. Proses presipitasi kalsium karbonat ini dapat terjadi pada berbagai lingkungan seperti tanah, gua karst, sedimen air tawar ataupun air laut. (García G. *et al.*, 2016) menjelaskan bahwa kelompok bakteri MICP dapat berasal dari *actinobacteria*, *epsilon proteobacteria*, *gamma proteobacteria*, *alpha proteobacteria* ataupun *firmicutes*. Salah satu jenis bakteri MICP yang umumnya ditemukan pada permukaan batuan karst adalah bakteri karbonoklastik.

Presipitasi kalsium karbonat oleh bakteri karbonoklastik terjadi dengan bantuan enzim. Presipitasi kalsium karbonat dimulai dengan adanya keberadaan senyawa urea yang diperoleh dari hasil produk sampingan metabolisme protein oleh organisme hidup dan kemudian dihidrolisis oleh enzim urease yang dieksresikan oleh bakteri (Kim *et al.*, 2015). Hidrolisis senyawa urea ini menghasilkan amonia (NH_3) dan bikarbonat (HCO_3^-). Senyawa amonia (NH_3) yang dihasilkan pada tahapan tersebut akan bereaksi dengan air membentuk ion hidroksida (OH^-) yang menyebabkan peningkatan pH disekitar bakteri dan menginduksi ion kalsium (Ca^{2+}) yang tersedia dilingkungan karst berikatan dengan senyawa karbonat (CO_3^{2-}) sehingga menyebabkan terjadinya presipitasi kalsium karbonat. Presipitasi kalsium karbonat oleh bakteri karbonoklastik akan membentuk *layer* atau lapisan kalsium karbonat pada permukaan batuan. Jika lapisan kalsium karbonat terus-menerus terbentuk diatas permukaan batuan terutama permukaan yang terdapat lukisan prasejarah maka lapisan tersebut akan menutupi lukisan yang ada atau yang

overlayering pada permukaan lukisan prasejarah. Hal inilah yang



ktor rusaknya lukisan-lukisan tersebut.
sium karbonat erat kaitannya dengan peranan EPS (*Extracellular Polysaccharides*). EPS merupakan polimer dengan kandungan polisakarida, protein, serta lipid yang dieksresikan oleh bakteri dan memegang peranan penting dalam aktivitas bakteri itu sendiri. Diantara peranan EPS bagi bakteri adalah

sebagai perlindungan bagi sel bakteri terhadap lingkungan luar, mengikat nutrisi bagi bakteri ataupun menginduksi pembentukan biofilm. Pada proses presipitasi kalsium karbonat, peran EPS digunakan sebagai matriks pembentukan presipitat kalsium karbonat yang menjadikan EPS sangat dibutuhkan dalam proses pengendapan mineral.

Kajian mengenai bakteri karbonoklastik ini tentunya sangat dibutuhkan sebagai langkah awal dalam upaya preservasi maupun restorasi lukisan prasejarah utamanya pada wilayah batuan Karst Maros-Pangkep dikarenakan bakteri ini merupakan salah satu mikroba yang menyebabkan kerusakan pada lukisan prasejarah. Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukanlah penelitian “Presipitasi Kalsium Karbonat (CaCO_3) dan Analisis EPS (*Extracellular Polymeric Substances*) Oleh Bakteri Asal Lukisan Prasejarah Pada Karst Maros-Pangkep” yang diharapkan dapat digunakan sebagai acuan untuk lebih mengetahui mengenai bakteri karbonoklastik sebagai penyebab kerusakan pada lukisan prasejarah.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun permasalahan yang dikaji pada penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana karakteristik bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep?
2. Bagaimana kemampuan bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep dalam mempresipitasi kalsium karbonat?
3. Bagaimana kadar *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang dihasilkan oleh bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep?
4. Bagaimana struktur mikro-morfologi presipitat kalsium karbonat yang dihasilkan oleh bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini diataranya yaitu:

1. Menganalisis karakteristik bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep.
2. Menganalisis kemampuan bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep dalam mempresipitasi kalsium karbonat?
3. Menganalisis kadar *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang dihasilkan oleh bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep.
4. Menganalisis struktur mikro-morfologi presipitat kalsium karbonat yang dihasilkan oleh bakteri karbonoklastik asal lukisan prasejarah karst Maros-Pangkep.

1.4 Manfaat Penelitian



Penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman mengenai aktifitas bakteri mempresipitasi kalsium karbonat dan menyebabkan kerusakan pada lukisan prasejarah. Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan awal dalam taupun restorasi lukisan prasejarah yang ditemukan pada dinding rumah atau pada batuan karst Maros-Pangkep, Sulawesi Selatan. Hasil penelitian ini memiliki relevansi ilmiah dalam beberapa bidang ilmu lainnya seperti konservasi serta memberikan sumbangan mengenai pengetahuan tentang warisan budaya.

1.5 Kerangka Berpikir

