ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SPESIES BAKTERI AMILOLITIK YANG BERASAL DARI TANAH MANGROVE DI MARGOMULYO, BALIKPAPAN, KALIMANTAN TIMUR

Isolation and Identification of Amylolytic Bacteria from Mangrove Soil at Margomulyo, Balikpapan, East Borneo

Utami Sri Hastuti[1], Febriani Sarwendah Asri Nugraheni [2], Putri M. Al Asna[1]
[1]Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Malang
[2]Pascasarjana Pendidikan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Malang
Jl. Semarang No. 5 Malang
e-mail korespondensi: tuti_bio_um@yahoo.com

ABSTRAK

Mangrove berperan sebagai habitat berbagai fauna antara lain udang, kepiting dan ikan. Mangrove juga berperan sebagai pelindung fisik pantai. Mangrove yang mati secara alami maupun karena penebangan manusia akan mengalami pelapukan. Dalam kulit batang mangrove terdapat amilum. Bakteri amilolitik dalam tanah mangrove berperan penting dalam proses degradasi amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana dan menjadi nutrisi dalam tanah. Penelitian ini bertujuan untuk 1) mengidentifikasi spesies-spesies bakteri amilolitik yang terdapat dalam tanah mangrove 2) menghitung indeks hidrolisis amilum pada masing-masing spesies bakteri amilolitik 3) menentukan spesies bakteri amilolitik yang paling potensial menguraikan amilum. Sampel tanah diambil dari 10 titik area mangrove Margomulyo, Balikpapan, Kalimantan Timur . Selanjutnya dilakukan pengenceran sampai tingkat penceran 10-^{10} dan dari setiap tingkat pengenceran diinokulasikan ke medium lempeng NA diinkubasikan pada suhu 37°C, 1 x 24 jam.. Masing-masing macam koloni diisolasi, diidentifikasi dan ditentukan isolat yang bersifat amilolitik. Selanjutnya dihitung indeks hidrolisisnya pada medium Amilum Agar. Hasil penelitian menjunjukkan bahwa 1) terdapat 8 spesies bakteri amilolitik yang berasal dari tanah mangrove 2) Indeks Hidrolisis Amilum dari masing-masing spesies bakteri amilolitik berkisar antara 1,08-7,76 dan 3) bakteri *Vibrio parahaemolyticus* paling potensial menguraikan amilum berdasarkan Indeks Hidrolisis Amilum: 7.76.

Kata Kunci: bakteri amilolitik, tanah mangrove, indeks hidrolisis amilum

ABSTRACT

Mangrove as habitat of sea animal i.e shrimsp,crabs and fishes. Mangrove play a role as the seashore shelter. The dead mangrove would be decayed. The stem contains amylum. The amylolytic bacteria in mangrove soil plays important role in amylum degrading process to be a more simple compound. The aims of this research are 1)to identified the amylolytic bacteria in mangrove soil; 2)to count Amylum Hydrolysis Index of each amylolytic bacteria; 3)to describe the most potential amylolytic bacteria species in amylum degradation. Soil samples were taken from 10 sampling points of Area Mangrove Margomulyo, Balikpapan, East Borneo. After that, soil samples were dilluted in 10^{-1} to 10^{-10} and innoculated 0,1 mL each on NA plate medium, incubated at 37°C, 1 x 24 hour. Each kind of colony were isolated, identified and determined the amylolytic isolates by AA medium. After that, Amylum Hydrolysis Index of all amylolytic bacteria were counted. The research resultes show that 1)there are 8 amylolytic bacteria isolated from mangrove soil; 2)the Amylum Hydrolisis Index of each amylolytic bacteria are in the range 1.08-7.76 and 3) Vibrio parahaemolyticus is the most potential amylolytic bacteria based on its Amylum Hydrolysis Index: 7.76.

***Keywords**: amylolytic bacteria, mangrove soil, amylum hydrolisis index*

Berbagai hewan antara lain ikan, udang, kepiting dan kerang hidup di habitat mangrove (Karuniastuti, 2013). Hewan-hewan tersebut hidup dan mencari makan di antara tanaman mangrove di pantai. Mangrove juga berperan sebagai pelindung fisik pantai, sehingga tidak terjadi abrasi (Karuniastuti, 2013). Sebagian masyarakat menebang hutan mangrove untuk bangunan rumah (Setyawan & Winarno, 2006) dan kayu bakar (Bone dkk, 2012). Sisa-sisa batang mangrove biasanya kurang diperhatikan dan dibiarkan berserakan bercampur dengan tanah dan daun-daun kering, selanjutnya terjadi pelapukan dan pembusukan oleh aktivitas bakteri. Area mangrove Margomulyo, Kalimantan Timur merupakan wilayah yang memiliki 12 spesies mangrove yaitu *Rhizopora mucronata, Rhizopora aviculata, Avicennia alba, Avicennia lanata, Sonneratia casiolaris, Ceripos taga, Ceriops decandra, Brugiiera Gymnorrhiza, Lumnitzera litorea, Xylocarpus granatum, Nypafruticans, Acrostichum* dan *Scyphiphora* (Badan Lingkungan Hidup Kota Balikpapan, 2012).

Tanah yang tercampur batang lapuk mangrove merupakan habitat dari berbagai spesies mikroorganisme, termasuk bakteri (Amir *et al*., 1993; Thatoi *et al*., 2012; Leena, 2013; Elias *et al*., 2014). Diantara spesies-spesies bakteri indigen yang terdapat di habitat tersebut ada kemungkinan terdapat spesies yang bersifat amilolitik. Spesies-spesies bakteri amilolitik perlu diidentifikasi. Di dalam tanah yang tercampur batang lapuk mangrove terdapat amilum yang berasal dari jaringan batang tersebut. Bakteri amilolitik berpotensi menguraikan amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana. Daya hidrolisis amilum dari masing-masing spesies bakteri

amilolitik mungkin berbeda satu sama lain, sehingga Indeks Hidrolisis Amilum dari masing-masing spesies bakteri amilolitik harus diukur, agar dapat ditentukan spesies bakteri amilolitik yang paling potensial menghidrolisis amilum yang diisolasi dari tanah mangrove Margomulyo, Kalimantan Timur.

Beberapa spesies bakteri indigen yang bersifat amilolitik juga telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari tanah mangrove Navi Mumbai, India yaitu *Bacillus macerans, Bacillus brevis Bacillus circulans, Bacillus circulans, Bacillus licheniformis, Bacillus coagulans* dan *Bacillus subtilis* (Leena, 2013). Selain itu, juga ditemukan beberapa spesies bakteri amilolitik di tanah yang tercampur batang lapuk di Pantai Waai, Pulau Ambon. Spesies-spesies bakteri amilolitik tersebut ialah *Bacillus firmus*, *Nitrobacter* sp, *Bacillus mycoides* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Hastuti *et al*., 2015). Di wilayah mangrove Pahang, Malaysia ditemukan spesies *Sinomonas humi* yang juga bersifat amilolitik (Lee *et al*., 2015), di wilayah mangrove Mansarovar dan Palm Beach Mumbai, India ditemukan *Micrococcus roseus* (Meenakshi & Thakare, 2011). Hasil identifikasi spesies-spesies bakteri amilolitik yang berasal dari berbagai daerah tersebut ternyata bervariasi.

Penelitian ini bertujuan untuk; 1) mengidentifikasi spesies-spesies bakteri amilolitik yang terdapat dalam tanah mangrove; 2) menghitung Indeks Hidrolisis Amilum pada masing-masing spesies bakteri amilolitik; 3) menentukan spesies bakteri amilolitik yang paling potensial menguraikan amilum berdasarkan Indeks Hidrolisis Amilum.

METODE

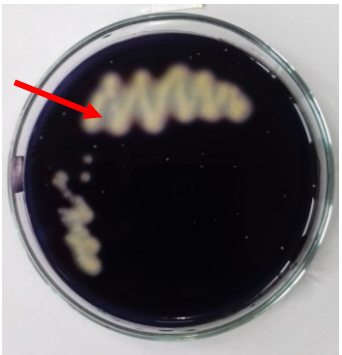
Sampel tanah diambil dari 10 titik sampling dari 5 stasiun yang berbeda. Sampel tanah diambil sebanyak 5 gram pada setiap titik sampling dan dimasukkan ke dalam botol sampel steril. Semua botol sampel steril dimasukkan ke dalam *ice box* bersama-sama es batu sehingga suhu berkisar antara 26-27°C, kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang. Semua sampel tanah dihaluskan dan dicampurkan, lalu diambil sebanyak 25 gram. Sampel tanah tersebut kemudian dilarutkan dalam 225 ml aquades steril sehingga diperoleh larutan dengan tingkat pengenceran 10^{-1}. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 1 x 24 jam. Suspensi sampel kemudian diencerkan hingga tingkat pengenceran 10^{-10} dan diinokulasikan pada medium lempeng NA sebanyak 0,1 ml secara triplo dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

Pengujian sifat amilolitik dilakukan dengan menginokulasikan isolat murni secara zig-zag pada medium lempeng amilum agar dan diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh ditetesi larutan iodium dan diamati perubahan warna yang terjadi. Jika terdapat zona bening, isolat bakteri tersebut merupakan bakteri amilolitik. Isolat yang positif bersifat amilolitik kemudian diinokulasikan dengan arah zig-zag ke medium lempeng amilum agar dengan metode kuadran dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam, lalu ditetesi dengan larutan iodium. Selanjutnya dilakukan pengukuran zona bening dan diameter koloni bakteri. Hasil bagi antara diameter zona bening dan diameter koloni adalah Indeks Hidrolisis Amilum. Isolat bakteri amilolitik tersebut kemudian dikarakterisasi secara morfologi mikroskopis dan fisiologis serta diidentifikasi dengan menggunakan *Microbact*^{TM} *Identification Kits*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Pengujian Sifat Amilolitik Masing-Masing Isolat Bakteri

Terdapat 13 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari tanah mangrove. Keempat belas isolat diuji kemampuan hidrolisisnya dan terdapat delapan isolat bakteri yang bersifat amilolitik karena menunjukkan terbentuknya zona bening pada daerah sekitar koloni bakteri amilolitik ( ) setelah medium lempeng Amilum Agar (AA) ditetesi dengan larutan Iodin (Gambar 1). Zona bening menunjukkan bahwa amilum di daerah tersebut telah didegradasi oleh bakteri amilolitik. Kedelapan jenis isolat bakteri tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Hasil Pengujian Sifat Amilolitik pada Isolat Bakteri
Keterangan: Zona Bening yang Terbentuk Di Sekitar Koloni Bakteri Amilolitik pada Medium Lempeng Amilum Agar (➡)

Tabel 1. Hasil Pengujian Sifat Amilolitik dari Isolat Bakteri yang Ditemukan

Kode Isolat	Kemampuan Menghidrolisis Amilum
A	+
B	-
C	+
D	+
E	+
F	-
G	-
I	-
J	-
L	+
N	+
O	+
P	+

2. Hasil Deskripsi Karakter Morfologi Koloni Bakteri

Masing-masing isolat bakteri amilolitik memiliki karakter morfologi koloni yang berbeda satu sama lain. Masing-masing karakter morfologi koloni isolat bakteri amilolitik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakter Morfologi Koloni Bakteri Amilolitik

Kode Isolat	Ciri-Ciri Morfologi Koloni			
	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi
A	Bening Kekuningan	Bundar	Licin	Seperti Tombol
C	Putih Kekuningan	Berbenang-benang	Licin	Timbul
D	Putih	Berbe-nang-benang	Berle-kuk	Datar
E	Putih Susu	Bundar	Licin	Timbul
L	Putih Susu	Tak beraturan/ menyebar	Tak beratu -ran	Timbul
N	Putih Kekuningan	Bundar Tepian Kerang	Berom -bak	Timbul
O	Putih Susu	Bundar Tepian Kerang	Berom -bak	Datar
P	Putih	Tak beraturan/ menyebar	Berom -bak	Timbul

3. Hasil Deskripsi Karakter Sitologi Isolat Bakteri Amilolitik

Hasil deskripsi karakter sitologi isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakter Sitologi Isolat Bakteri Amilolitik

Kode Isolat	Karakter Sitologi		
	Sifat Gram	Kapsula	Spora
A	Negatif	Ada	Tidak ada
C	Negatif	Ada	Ada
D	Positif	Ada	Ada
E	Negatif	Tidak Ada	Ada
I	Negatif	Tidak Ada	Ada
L	Negatif	Tidak Ada	Ada
N	Negatif	Ada	Tidak Ada
O	Positif	Tidak Ada	Tidak Ada
P	Positif	Ada	Ada

4. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Amilolitik

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri amilolitik didapatkan 8 spesies bakteri yang berbeda satu sama lain. Masing-masing spesies bakteri amilolitik tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Spesies-Spesies Bakteri Amilolitik

Kode Isolat	Spesies Bakteri
A	*Acinetobacter baumannii*
C	*Pseudomonas stutzeri*
D	*Vibrio parahaemoliticus*
E	*Bacillus megaterium*
L	*Providensia stuartii*
N	*Pseudomonas pseudomallei*
O	*Listeria monocytogenes*
P	*Bacillus cereus*

5. Indeks Hidrolisis Amilum Setiap Spesies Bakteri

Hasil pengukuran Indeks Hidrolisis Amilum setiap spesies bakteri selulolitik dapat dilihat pada Tabel 4. Spesies bakteri amilolitik yang memiliki Indeks Hidrolisis Amilolum yang tertinggi adalah *Vibrio parahaemoliticus*, yaitu 7,76 dan yang memiliki Indeks Hidrolisis Amilum yang terendah adalah *Acinetobacter baumannii*, yaitu 1,08.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Indeks Hidrolisis Amilum dari Spesies Bakteri Amilolitik

Kode Isolat	Nama Spesies	Indeks Hidrolisis Amilum			
		1	2	3	$\bar{x}$
A	*Acinetobacter baumannii*	1,04	1,15	1,04	1,08
C	*Pseudomonas stutzeri*	1,35	1,33	1,35	1,34
D	*Vibrio parahaemoliticus*	6,80	9,10	7,39	7,76
E	*Bacillus megaterium*	1,50	1,92	3,40	2,27
L	*Providensia stuartii*	2,89	4,40	4,00	3,76
N	*Pseudomonas pseudoma-llei*	2,35	2,77	1,63	2,25
O	*Listeria monocytogenes*	2,39	2,61	3,06	2,69
P	*Bacillus cereus*	3,17	2,69	4,34	3,40

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa dalam tanah tercampur batang lapuk mangrove terdapat 13 spesies bakteri dan 8 spesies diantaranya merupakan bakteri amilolitik. Hal ini membuktikan bahwa dalam habitat tersebut terdapat spesies-spesies bakteri yang berperan dalam ekosistem sebagai komponen pengurai amilum. Diantara 8 spesies bakteri amilolitik yang ditemukan tersebut terdapat *Bacillus cereus*. Spesies bakteri ini juga ditemukan di dalam tanah bercampur limbah sagu di Susupu, Sulawesi Utara (Hastuti *et al*., 2014). *Bacillus cereus* bersifat amilolitik, sehingga dapat menghidrolisis amilum dari tanah yang bercampur batang lapuk mangrove dan tanah yang bercampur limbah olahan sagu.

Batang lapuk mangrove yang teronggok di dekat muara sungai dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan jika tidak diuraikan oleh detritivor maupun dekomposer. Aktivitas degradasi batang lapuk mangrove oleh serangga-serangga tanah, kemudian dilanjutkan oleh bakteri-bakteri amilolitik sehingga terbentuk senyawa-senyawa yang lebih sederhana yang lebih mudah larut dan kembali ke tanah sebagai nutrisi dalam daur nutrisi tanah.

Bakteri amilolitik mampu menghasilkan enzim amilase yang berperan sebagai biokatalisator dalam proses degradasi amilum menjadi glukosa. Proses degradasi ini terjadi dari pengubahan amilum menjadi maltosa kemudian disederhanakan kembali menjadi glukosa (Fogarti, 1983). Spesies-spesies bakteri amilolitik dapat dimanfaatkan dalam biodegradasi amilum menjadi glukosa, sehingga dapat membantu mengeliminasi limbah kayu mangrove lapuk yang mengandung amilum. Kemampuan menghidrolisis amilum ternyata berbeda-

beda satu sama lain. Hasil pengukuran Indeks Hidrolisis Amilum menunjukkan bahwa *Vibrio parahaemolitycus* mempunyai Indeks Hidrolisis Tertinggi yaitu 7,76. Bakteri tersebut hidup dalam daging hewan-hewan laut dari filum *Mollusca* seperti kerang, tiram dan remis (*World Health Organization*, 2011). Bakteri tersebut dapat masuk ke tanah mangrove kemungkinan dikarenakan air dari laut pasang yang membawa bakteri tersebut dari laut ke wilayah mangrove. Hasil pengukuran Indeks Hidrolisis Amilum terhadap *Bacillus cereus* dari tanah bercampur batang lapuk mangrove adalah 3,40; lebih tinggi jika dibandingkan dengan *Bacillus cereus* dari tanah bercampur limbah sagu di Susupu, Sulawesi Utara yaitu 0,97 (Hastuti *et al*., 2014).

Perbedaan nilai Indeks Hidrolisis Amilum dari bakteri-bakteri amilolitik yang telah ditemukan di Area Mangrove Margomulyo dengan bakteri-bakteri amilolitik yang ditemukan di tanah bercampur limbah sagu di Susupu, Sulawesi Utara tersebut kemungkinan dikarenakan dari perbedaan keadaan lingkungan tempat hidup bakteri-bakteri tersebut. Habitat tumbuhan sagu di Sasupu tidak berada dekat dengan pantai, sedangkan di Margomulyo berdekatan dengan pantai, sehingga terdapat perbedaan salinitas. Perbedaan salinitas ini kemungkinan berpengaruh aktivitas bakteri menguraikan amilum.

Keadaan tanah ini kemungkinan mempengaruhi kerja enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik yang berhasil diidentifikasi. Perbedaan nilai Indeks Hidrolisis Amilum diantara kedelapan spesies bakteri amilolitik tersebut juga dikarenakan perbedaan sifat dari masing-masing spesies bakteri tersebut karena ketahananya terhadap faktor abiotik dari lingkungan mangrove.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa bakteri *Vibrio parahaemolitycus* memiliki Indeks Hidrolisis Amilum yang tertinggi sedangkan bakteri *Acinetobacter baumannii* memiliki Indeks Hidrolisis Amilum yang paling rendah, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Vibrio parahaemolitycus* merupakan bakteri yang paling efektif menguraikan amilum sedangkan sebaliknya bakteri *Acinetobacter baumannii* merupakan bakteri yang kurang efektif dalam menguraikan amilum dalam penelitian ini. Semakin besar nilai Indeks Hidrolisis Amilum, maka semakin efektif bakteri tersebut menguraikan amilum menjadi glukosa sehingga glukosa dapat segera terbentuk dan masuk ke siklus nutrisi tanah.

Hasil penelitian ini telah mengungkapkan bahwa dalam tanah yang tercampur batang lapuk mangrove di Area Mangrove Margomulyo terdapat 8 spesies bakteri amilolitik yang memiliki potensi untuk menguraikan amilum di dalam tanah mangrove. Berdasarkan hal tersebut perlu diupayakan agar habitat tersebut tetap terpelihara kelestariannya.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa: 1) Terdapat 8 spesies bakteri amilolitik yang berasal dari tanah mangrove yaitu *Acinetobacter baumannii, Pseudomonas stutzeri, Vibrio para-haemoliticus, Vibrio parahaemoliticus, Bacillus megaterium, Providensia stuartii*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Listeria monocytogenes* dan *Bacillus* cereus; 2) Indeks Hidrolisis Amilum dari delapan spesies bakteri amilolitik tersebut berbeda-beda dengan rentangan 1,08-7,76; 3) Spesies bakteri amilolitik yang memiliki Indeks Hidrolisis Amilum tertinggi adalah *Vibrio parahaemoliticus* yaitu 7,76.

DAFTAR RUJUKAN

Amir, R., Ahmed, N., & Talat, M.E., (1993). Salt-Tolerance in Mangrove Soil Bacteria. Pakistan, *Journal of Marine Scinces*, 2(2): 129-135.

Bone, A, H., Towo, A., & Idrus, R., (2012). Penilaian Manfaat Ekonomi Ekosistem Mangrove Margomulyo, Kota Balikpapan. http://pasca. unhas. ac.id/jurnal/files/fe9242af2b60e92d15e299 cbc42b7c52.pdf.

Botanri, S., Setiadi, D., Guhardja, E., & Qayim, I., (2013). Karak-teristik Habitat Tumbuhan Sagu (*Metroxylon* Spp.) di Pulau Seram, Maluku, *Forum Pascasarjana*, 3(1): 33-44.

Eliaz, MAR. Cerrato, R.F., Alarcon, A. Almaraz, J. J., Valverde, G. R., de-Bashan, L., Garcia, FJE., & Barradas, O. G., (2014). Identi-fication of Culturable Microbial Functional Groups Isolated from the Rhizosphere of Four Species of Mangroves and Their Biotechnological Potential. *Apllied Soil Ecology*, 82: 1-10.

Fogarti, W, M, 1983. Microbial Enzymes and biotechnology. New York: Applied Scinces Publisher

Hastuti, U. S., Yakub, P. Y., & Khasanah, H. N., (2014). Biodiver-sity of Indigenous Amylolytic and Cellulolytic Bacteria in Sago Waste Product at Susupu, North Moluccas. *Journal of Life Sciences* 8, 920-924.

Hastuti, U. T., Sangur, K., & Khasanah, H. N., (2015). Bio-diversity and Enzyme Activity of Indigenous Cellulolytic and Amy-lolytic Bacteria in Decayed Mang-rove Stem Waste Product at Waai Seashore, Ambon Island, *Journal of Agriculture Scince and Technology B*, 5: 252-256.

Karuniastuti. 2013. Peranan Hutan Mangrove bagi Lingkungan Hidup, *Forum Manajemen*, 6(1): 1-10.

Lee, L. H., Azman, A. S., Zainal, N., Yin, W. F., Ab Mutalib, N. S., & Chan, K. G., (2015). *Sinomonas humi* sp. Nov., An Amylolytic Actinobacterium Isolated from Mangrove Forest Soil, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 65: 996-1002.

Leena, B. M. R. S., (2013). Isolation and Characterization of Micro-organisms from Mangrove Soil of CBD Belapur Creek, Navi Mumbai ,MS India. *International Journal of Environmental Scinces*, 3(6): 2304-2312.

Menakshi, S., & D,B. Thakare., (2011). Amylase Activity of *Micr-ococcus roseus* Isolated from Mangrove Rhizospere Soil, 4(1): 106-110.

Pemerintah Kota Balikpapan, Badan Lingkungan Hidup, 2012. *Laporan Status Lingkungan Hidup Kota Balikpapan 2012*. Balikpapan

Setyawan, A. D., & Winarno, K., (2006). Pemanfaatan Langsung Ekosistem Mangrove di Jawa Tengah dan Penggunaan Lahan di Sekitarnya; Kerusakan dan Upaya Restorasinya, *Biodiversitas*, 7(3): 282-291.

Thatoi, H., Behera, B. C., Dangar, T. K., & Mishra, R. R., (2012). Microbial Biodiversity in Mangrove soils of Bhitarkanika, Odisha, India, *International Journal of Environmental Biology*, 2(2): 50-58.

World Health Organization. 2011. *Risk Assessment of Vibrio parahaemolyticus in seafood.* Genewa; Department of Food Safety and Zoonoses World Health Organization.