

BAKTERI SELULOLITIK SERASAH DAUN MANGROVE DI PULAU BANGKA

CELLULOLYTIC BACTERIA MANGROVE LEAF LITTER IN BANGKA ISLAND

Ardiansyah Kurniawan^{1,2*}, Asep Awaludin Prihanto^{3*}, Suci Puspitasari¹, Andi Kurniawan³,
Euis Asriani¹, Abu Bakar Sambah³

¹Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung, Kab. Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung,

²Mahasiswa Doktoral, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Kota Malang

³Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Kota Malang

Penulis Korespondensi: Email: ardian_turen@yahoo.co.id

(Diterima Oktober 2017/Disetujui Desember 2017)

ABSTRAK

Penelitian bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri selulolitik dari serasah daun pada mangrove di pulau Bangka. Pengambilan sampel dilakukan pada mangrove di Sungailiat, kabupaten Bangka dan Tukak Sadai, kabupaten Bangka Selatan. Isolasi dilakukan menggunakan media agar yang diperkaya 1% *Carboxymetyl Cellulosa* (CMC). Isolat bakteri diuji selulolitik dengan penumbuhan pada media agar yang diperkaya 1% CMC dan pemberian lugol pada jam ke 72 jam. Zona bening yang terbentuk menunjukkan kemampuan degradasi selulose. Isolat positif selulolitik diidentifikasi melalui uji biokimia. 1 dari 5 isolat pada mangrove Sungailiat positif selulolitik dan teridentifikasi merupakan *Bacillus subtilis*. 2 dari 5 isolat pada mangrove Tukak Sadai merupakan positif sebagai bakteri selulolitik dan teridentifikasi sebagai *Staphylococcus saproviticus* dan *Bacillus cereus*.

Kata Kunci: bakteri selulolitik, pulau bangka, serasah daun mangrove

ABSTRACT

The study aimed to obtain isolate of cellulolytic bacteria from leaf litter on mangrove in Bangka Island. Sampling was conducted on mangroves in Sungailiat, Bangka and Tukak Sadai, South Bangka district. The isolation was carried out using 1% enriched agar media of Carboxymetyl Cellulose (CMC). The bacterial isolates were tested with cellulolytic growth on 1% enriched CMC agar medium and lugol added at 72 hours. The clear zone resulting indicates cellulose degradation ability. The positive isolate of cellulolytic was identified by biochemical tests. 1 of 5 isolates in Sungailiat positive cellulolytic mangroves and identified as *Bacillus subtilis*. 2 of 5 isolates in mangrove Tukak Sadai is positive as a cellulolytic bacteria and identified as *Staphylococcus saproviticus* and *Bacillus cereus*.

Keywords: bangka island, mangrove leaf litter, selulolitic bacteria

PENDAHULUAN

Hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan menggunakan asam kuat maupun enzim selulase. Mikroorganisme tertentu menghasilkan partikel yang dinamakan selulosom. Partikel inilah yang akan terdisintegrasi menjadi enzim-enzim, yang secara sinergis mendegradasi selulosa. Enzim selulase yang dihasilkan bakteri selulolitik mendegradasi selulose pada tumbuhan menjadi sumber energi yang dapat dicerna. Bakteri selulolitik teridentifikasi pada lahan pertanian di Bali (Putu, 2015), tanah mangrove atau hutan bakau di Bantul (Nurrokhman, 2015) dan vermikompos (Azizah, 2013). Kemampuan bakteri selulolitik yang diperoleh dari alam diharapkan dapat bermanfaat untuk mendegradasi selulosa baik untuk keperluan industri maupun konservasi

lingkungan. Heck *et al.*, (2002) menunjukkan bahwa beberapa bacteria yang dapat menghasilkan selulase antara lain: *Pseudomonas fluorescens var cellulose*, *Cellulomonas fimi*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium thermocellum*, *Acetobacter xylinum*.

Pulau Bangka memiliki potensi mangrove seluas 48,090 hektar yang bertebaran pada beberapa lokasi baik di Belinyu, kabupaten Bangka, Muntok, kabupaten Bangka Barat maupun Kurau, Bangka Tengah dan Toboli, Bangka Selatan. Kabupaten Bangka dan kabupaten Bangka Barat memiliki luas mangrove tertinggi dengan 15.136 hektar dan 18.235 hektar, dan kota Pangkalpinang memiliki luas mangrove terkecil dengan 470 hektar. Meskipun hutan mangrove di pulau Bangka mengalami penurunan akibat penambangan timah baik di darat maupun dilautan, sumberdaya dalam hutan mangrove masih memberikan dampak positif bagi kehidupan.

Mangrove pada daerah penambangan timah dimungkinkan memiliki kondisi berbeda dengan mangrove di daerah lain. Penambangan timah di daratan yang berdampak pada perairan sungai serta pertambangan lepas pantai memberikan pengaruh baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap hutan mangrove. Penambangan timah lepas pantai dengan menggunakan kapal keruk, kapal isap atau TI apung masyarakat memberikan dampak langsung kepada ekosistem pesisir termasuk mangrove karena mekanisme dalam penambangan ini adalah dengan membuang langsung limbah hasil penambangan ke perairan. Puspitasari (2014) menyatakan pada areal penanaman mangrove yang masih terdapat aktivitas perahu nelayan, tambang inkonvensional (TI) apung dan kegiatan penduduk setempat dalam mencari udang dapat mempengaruhi tingkat keberhasilan dari penanaman mangrove. Pramudji (2000) menambahkan penambangan di daerah hutan mangrove memiliki resiko hutan mangrove akan tercemar, karena limbah dan proses untuk memperoleh hasil penambangan, misalnya pencucian, pemisahan kimiawi dan penapisan tersebut kemudian dibuang di daerah hutan mangrove. Umroh (2015) membahas bahwa pencampuran antara tanah limbah tambang dengan tanah asli mangrove dapat menyebabkan penurunan kesuburan fisik dan kimia tanah di daerah bekas tambang timah.

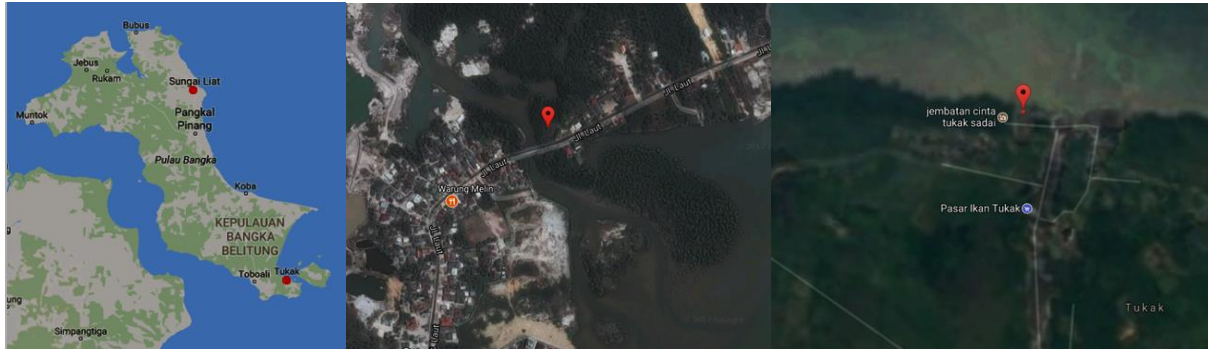
Kondisi perairan dan substrat mangrove yang berubah akibat aktivitas penambangan timah memungkinkan adanya adaptasi pada bakteri yang hidup didalamnya. Ketahanan bakteri dalam kondisi adanya cemaran memungkinkan adanya adaptasi serta seleksi bakteri sehingga bakteri yang teridentifikasi berbeda dengan mangrove di daerah lain. Bahan-bahan organik dari tumbuhan yang mengalami pelapukan baik berupa kayu maupun daun di area hutan mangrove dimungkinkan adanya peran bakteri selulolitik. Pramudji (2000) menyatakan serasah yang merupakan hasil tumbuhan mangrove merupakan sumber utama karbon dan nitrogen yang sangat diperlukan oleh ekosistem mangrove itu sendiri, maupun ekosistem perairan di sekitar hutan mangrove. Proses dekomposisi serasah sangat bergantung kepada banyaknya oksigen yang tersedia, tipe lumpur dan peranan hewan serta mikro-organisme.

Untuk itu diperlukan penelitian untuk mengidentifikasi potensi bakteri selulolitik dari hutan mangrove di pulau Bangka pada serasah daun dalam mendegradasi selulosa serta pengujian kemampuan degradasi selulosa limbah sawit dari isolat bakteri selulolitik yang teridentifikasi. Ritonga (2012) menunjukkan bakteri yang berhasil diisolasi dari serasah daun *R. apiculata* yang mengalami proses dekomposisi yaitu *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Sporosarcina*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Kurthia*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Planococcus*, *Mycobacterium*.

METODE

Pengambilan sampel

Sampel serasah daun diambil pada kawasan Mangrove di Sungailiat, kabupaten Bangka dan Mangrove Tukak Sadai, kabupaten Bangka Selatan. Pengambilan dan penyimpanan sampel menggunakan metode Ulfa (2014) yang dimodifikasi. Serasah daun lapuk diambil secara acak dengan titik pengambilan berdasarkan lokasi temuan daun mangrove lapuk. Sampel serasah daun dikompositkan dan disimpan dalam kantong plastik pada coolbox.



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel Serasah Daun Mangrove Di Sungailiat (tengah) dan Tukak Sadai (kanan).

Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode Meryandini *et al.*, (2009) yang dimodifikasi. Sampel serasah daun mangrove ditimbang sebanyak 1g dan dikultur pada media *nutrien broth*. Kultur dilakukan dengan seaker selama 24 jam. Hasil kultur *nutrien broth* diencerkan hingga pengenceran 10-10. Hasil pengenceran ditanam pada media agar yang diperkaya 1% CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) dengan metode cawan sebar (*pour plate method*) dan diinkubasi di dalam inkubator selama 48 sampai 72 jam pada suhu 30°-37°C. Hasil penanaman diisolasi dengan media yang sama untuk memperoleh isolat murni menggunakan metode cawan gores.

Seleksi Bakteri Selulolitik

Seleksi bakteri selulolitik dilakukan dengan metode uji hidrolisis selulosa. Isolat bakteri murni hasil isolasi direkultur pada media agar yang diperkaya *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) dengan metode gores (*streak method*). Satu lup bakteri digoreskan pada media dengan membentuk garis kurang lebih 1cm. Biakan diinkubasi 72 jam pada suhu 30°C. Larutan lugol diteteskan hingga menutupi keseluruhan media dan didiamkan selama satu menit. Zona bening yang terbentuk di sekeliling kolonibakteri diamati dan diidentifikasi. Isolat yang teridentifikasi memiliki aktivitas selulolitik dipilih untuk identifikasi lebih lanjut.

Karakteristik dan Identifikasi Bakteri

Isolat bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik diamati karakteristik morfologi yang meliputi pengamatan bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni. Bentuk sel bakteri diamati dengan metode gram strain's. Identifikasi dan penentuan genus bakteri menggunakan rangkaian uji biokimia yang meliputi Uji biokimia meliputi uji Spora, Oksidase, Motilitas, Nitrat, Lysin, Ornithin, H₂S, Glukosa, Manitol, Xylosa, ONPG, Indole, Urease, V-P, Sitrat, TDA, Gelatin, Malonat, Inositol, Rhamnosa, Sukrosa, Lactosa, Arabinosa, Adonitol, Raffinosa, Salicin, Arginin, Katalase, Koagulase, hemolisa, Uji sensitive Novobiosin, Starch hydrolysis dan Casein hydrolysis.. Karakteristik hasilrangkaian uji biokimia dibandingkan dengan buku panduan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994) dan Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria (Barrow dan Feltham, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

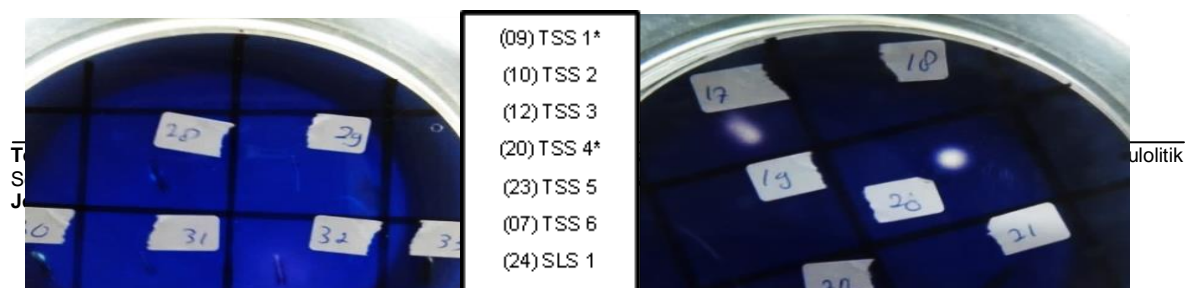
Hasil isolasi menunjukkan terdapat 11 isolat bakteri yang ditemukan pada kedua wilayah mangrove dengan pembagian 6 isolat dari Tukak Sadai dan 5 isolat dari Sungailiat. Pada ke-11 isolat dilakukan uji hidrolisa selulase. Hasil uji menunjukkan terdapat 3 isolat yang terlihat memiliki daya hidrolisa selulase dengan munculnya zona benih pada sekitar koloni bakteri (Gambar 2). Hasil uji biokimia terdapat pada Tabel 1.

Isolat bakteri dengan hasil positif pada uji selulolitik kualitatif diidentifikasi dengan uji biokimia. Isolat TSS 1 dari mangrove Tukak Sadai teridentifikasi positif pada uji Glukosa, Manitol, Katalase, hemolisa beta dan Uji sensitive Novobiosin dan diprediksi sebagai *Staphylococcus saprophyticus*. *S. saprophyticus* yang sifat anaerob fakultatif, gram positif, koagulase negatif, bersifat bulat dan menyerupai kelompok anggur. Genus *Staphylococcus* ditemui pada identifikasi bakteri pada beberapa wilayah mangrove baik di Indonesia maupun negara lain. Sakhia *et al.*, (2016) menunjukkan hasil identifikasi bakteri pada mangrove di Gujarat, India terdapat genus *Staphylococcus*. Yahya *et al.*, (2014) juga menunjukkan teridentifikasinya bakteri genus *Staphylococcus* di perairan Mangrove pesisir Kraton Pasuruan.

Tabel 1. Hasil Karakterisasi dan Uji Biokimia Isolat Bakteri

Parameter	Sampel		
	TSS4	SLS5	TSS1
Warna koloni	Krem	Krem	Krem
Diameter koloni (mm)	4, 83	3, 11	1,15
Reaksi gram	Positif	Positif	Positif
Bentuk sel	Basil	Basil	Kokus
Motilitas	NonMotil	NonMotil	NonMotil
Uji TSIA	As/As,G-H2S-	As/As,G-H2S-	TDK
Spora	+	+	-
Oksidase	-	-	-
Motilitas	+	-	-
Nitrat	+	-	-
Lysin	-	+	-
Ornithin	-	-	-
H ₂ S	-	-	-
Glukosa	+	+	+
Manitol	-	-	+
Xylosa	-	+	-
ONPG	+	+	-
Indole	-	+	-
Urease	-	-	-
V-P	+	+	-
Sitrat	-	-	-
TDA	-	-	-
Gelatin	+	+	-
Malonat	-	-	-
Inositol	-	-	-
Rhamnosa	-	+	-
Sukrosa	-	-	-
Lactosa	-	-	-
Arabinosa	-	+	-
Adonitol	-	-	-
Raffinosa	-	-	-
Salicin	-	-	-
Arginin	-	-	-
Katalase	+	+	+
Koagulase	-	-	-
Hemolisa	Beta	beta	Beta
Uji sensitive	TDK	TDK	+
Novobiosin	TDK	TDK	+
Starch hydrolysis	-	+	TDK
Casein hydrolysis	+	+	TDK

Staphylococcus memiliki potensi sebagai patogen bagi manusia tetapi menunjukkan hal positif dalam bioremediasi limbah. Onyemelukwe (2013) menyebutkan *S. saprophyticus* merupakan penyebab penyakit *urinary tract infection* (UTI) Eastern Nigeria, Eropa dan Amerika Utara. Priadie (2012) menunjukkan keunggulan genus *Staphylococcus* dalam bioremediasi dimana *Staphylococcus* dapat mendegradasi logam Pb, nitrat, nitrit, bahan organik, sulfida, kekeruhan, dan amonia.



Gambar 2. Hasil Uji Kualitatif Selulolitik

Ket: (*) menunjukkan isolat positif memiliki kemampuan degradasi selulase

Isolat TSS 4 teridentifikasi positif pada Spora, Motilitas, Nitrat, Glukosa, ONPG, V-P, Gelatin, Katalase, hemolisa beta, Casein hydrolysis dan diprediksi sebagai *B. cereus*. Thenmozhi (2011) menyatakan teridentifikasi *Bacillus cereus* pada tanah mangrove Rizosphere di estuaria Parangpettai, India. Andriani *et al.*, (2015) menyatakan genus *Bacillus* yang teridentifikasi dari rumen sapi dapat mendegradasi serat kasar kulit umbi singkong hingga 30,14%. Pamungkas dan Ikhsan (2010) menambahkan bahwa *Bacillus* sp efektif menurunkan serat kasar bungkil kelapa sawit 17,74% menjadi 5,8% melalui proses fermentasi. Karthikeyan dan Sahayaran (2017) menyatakan bahwa *B. cereus* dari mangrove juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteric ser typhi* dan *Shigella flexineri*.

Isolat SLS 5 dari mangrove Sungailiat teridentifikasi positif Spora, Lysin, Glukosa, Xylosa, ONPG, Indole, V-P, Gelatin, Katalase, hemolisa beta, Starch hydrolysis dan Casein hydrolysis dan diprediksi sebagai *B. subtilis*. Mulyasari *et al.*, (2015) menyatakan *B. subtilis* merupakan bakteri Gram positif dengan katalase positif, berbentuk batang dan dilaporkan memiliki kemampuan memproduksi selulase, yaitu CMCase dan avicelase saat ditumbuhkan pada media yang mengandung karbohidrat, fitase, hemiselulase (pullulanase, endo- β -1,4-mannase dan endo- β -1,4-xilanase, α -amylase, kitinase serta pectat lyase. *B. subtilis* yang diperoleh dari saluran pencernaan ikan Gurame (*Osphronemus Gouramy*) memiliki kemampuan mendegradasi selulosa pada daun singkong (Manihot Esculenta). Melati dan Sunarno (2016) menunjukkan enzim selulase dari *B. subtilis* mempunyai kemampuan dalam menurunkan 16,27% *Neutral Detergent Fiber*, 18,04% selulosa dan 40,82% hemiselulosa padaserat kasar kulit ubi kayu sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan baku pakan ikan. Qolbi *et al.*, (2012) menyatakan *B. subtilis* memberikan pengaruh terhadap penurunan kandungan serat kasar dan peningkatan protein kasar pada daun talas yang difermentasi.

KESIMPULAN

Isolat bakteri penghidrolisa selulosa dari serasah daun mangrove Sungailiat teridentifikasi sebagai *B. subtilis* dan mangrove Tukak Sadai teridentifikasi sebagai *S. saproviticus* dan *B. cereus*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tulisan ini merupakan bagian dari penelitian kerjasama perguruan tinggi tahun 2017 antara universitas Bangka Belitung dan Universitas Brawijaya yang didanai dari Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, Y, S Sastrawibawa, R Safitri, Abun. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Mikroba Selulolitik Sebagai Biodegradator Serat Kasar Dalam Bahan Pakan Dari Limbah Pertanian. *IJAS* Vol. 2 Nomor 3 Edisi Desember 2012
- Azizah, S.N., Muzakhar, K., Arimurti, S. 2014. Skrining Bakteri Selulolitik Asal Vermicomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Berkala Sainstek* 2014, II (1)
- Heck, J.X., Plinho, F.H., Marco, A.Z.A. 2002. Cellulase and xylanase production by isolated amazon bacillus strain using soybean industrial residue based solid state cultivation. *Brazil J Microbiol* 33
- Karthikeyan, K. dan Sahayarayan, J. 2017. Antibacterial Activity of a Novel *Bacillus cereus* isolated from Mangrove Ecosystem. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* Volume 6 Number 8 pp. 3302-3306
- Mulyasari, Widanarni, M., Suprayudi, A., Junior, M.Z dan Sunarno, M.T.D. 2015. Seleksi Dan Identifikasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Daun Singkong (*Manihot Esculenta*) Yang Diisolasi Dari Saluran Pencernaan Ikan Gurame (*Osphronemus Gouramy*). *JPB Kelautan dan Perikanan* Vol. 10 No. 2 Tahun 2015: 111–121
- Nurrochman, F. 2015. Eksplorasi Bakteri Selulolitik Dari Tanah Hutan Mangrove Baros Kretek, Bantul, Yogyakarta. Naskah Publikasi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Onyemelukwe, N.F., and Nwokocha, A.R.C. 2013. *Staphylococcus Saprophyticus* Infection As A Cause Of Uti In Female Adolescents In Enugu Area, Nigeria. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*. Volume 11, Issue 5.
- Pamungkas, W., dan Ikhsan, K. 2010. Uji Pendahuluan : Efektifitas *Bacillus* sp Untuk Peningkatan Nilai Nutrisi Bungkil Kelapa Sawit Melalui Fermentasi. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010.
- Pramudji, 2000. Dampak Perilaku Manusia Pada Ekosistem Hutan Mangrove Di Indonesia. *Oseana* Volume XXV, Nomor 2.
- Priadie, B. 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan* Volume 10, Issue 1: 38-48.
- Puspitasari, S., dan Rosalina, D. 2014. Tingkat Keberhasilan Penanaman Mangrove pada Lahan Pasca Penambangan Timah di Kabupaten Bangka Selatan. *Maspri Journal*, Vol. 6, No. 2.
- Putu S.B. 2015. Isolasi Bakteri Selulolitik Dari Lahan Pertanian Di Desa Candikuning Bedugul. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana
- Qolby, E.R., Agustono, Y.C. 2012. Kandungan Serat Kasar Dan Protein Kasar Pada Daun Talas (*Colocasia Esculenta*) Yang Difermentasi Dengan *Trichoderma Viride* Dan *Bacillus Subtilis* Sebagai Bahan Pakan Alternatif Ikan. *Media Journal Of Aquaculture And Fish Health* Volume : 1 - No. 3 Terbit : 9-2012
- Ritonga, D.R. 2014. Keanekaragaman Bakteri Serasah Daun *Rhizophora apiculata* Yang Mengalami Dekomposisi Pada Berbagai Tingkat Salinitas Di Kota Pari Pantai Cermin Sumatera Utara. [Tesis] Program Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara.
- Sakhia, N.S., Prajapati, V., Shetty, S., Bhatt, A., Bhadalkar. 2016. Study of Bacterial Diversity of Mangroves Rhizosphere. *Open Journal of Marine Science*, 2016, 6.
- Thenmozhi, C., Sankar, R., Karupiah, V., Sampathkumar, P. 2011. L-asparaginase production by mangrove derived *Bacillus cereus* MAB5: optimization by response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* (2011)486-491
- Umroh, 2015. Penyemaian Dan Penanaman *Rhizophora Apiculata* Di Daerah Pasca Penambangan Timah Inkonvensional (TI) Di Muara Kudai Kabupaten Bangka. *Jurnal Kelautan* Volume 8, No. 1.
- Yahya, H. Nursyam, Y. Risjani, dan Soemarno. 2014. Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan* Maret 2014 Vol. 19(1):35-42.