

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGURAI SULFIDA DARI LUMPUR MANGROVE HUTAN LINDUNG ANGKE KAPUK

Isolation and Identification of Sulfide-degrading Bacteria in Mud from Mangrove forest in Hutan Lindung Angke Kapuk

Eni Lestari^a, Dedy Darnaedi^a, Safendrri Komara Ragamustari^a

^a Fakultas Biologi, Universitas Nasional, Jakarta Selatan, DKI Jakarta Indonesia, email: enilestari007@gmail.com

Abstrak

Mangrove memiliki biodiversitas mikroorganisme salah satunya bakteri. Bakteri dari lumpur mangrove ini mempunyai kinerja penurunan hidrogen sulfida, karena lumpur mangrove memiliki kandungan hidrogen sulfida didalamnya yang memungkinkan adanya aktifitas penguraian oleh bakteri aerobik. Isolasi dilakukan menggunakan medium Thiosulfat Mineral Medium. Isolat yang tumbuh dilakukan dengan pengamatan makroskopis. Isolat terpilih akan dilakukan pengamatan mikroskopik, uji katalase dan uji motilitas. Isolat juga akan diuji kinerja penurunan sulfida. Isolat dengan kinerja penurunan sulfida terbaik akan dilanjutkan untuk uji sekuensing 16S rRNA. Hasil sekuensing menunjukkan isolat dari lumpur mangrove yang memiliki kinerja penurunan sulfida terbaik dengan nilai 30,58% adalah bakteri spesies *Bacillus aryabhatai*

Kata kunci : mangrove, sulfida, bakteri, aerobik, *Bacillus*

Abstract

*Mangroves have a biodiversity of microorganisms, one of which is bacteria. The bacteria from this mangrove mud has the performance of reducing hydrogen sulfide because the mangrove mud contains hydrogen sulfide, which allows for aerobic bacteria to decompose. Isolation was carried out using Thiosulfate Mineral Medium. Moreover, the growing isolates were carried out by macroscopic observation. Selected isolates will be subjected to microscopic observation, catalase test and motility test. The isolates will also be tested for their sulfide reduction performance. The isolates with the best sulfide reduction performance will be continued for 16S rRNA sequencing assays. The sequencing results showed that isolates from mangrove mud that had the best sulfide reduction performance with a value of 30.58% were bacteria species *Bacillus aryabhatai*.*

Keywords: mangrove, sulfide, bacteria, aerobic, *Bacillus*

Pendahuluan

Mikroorganisme tersebar dengan sangat luas di bumi ini, salah satunya adalah bakteri. Banyak spesies bakteri yang diketahui memiliki kemampuan metabolisme senyawa organik maupun senyawa anorganik, hidup dalam kondisi ekstrim, mampu memproduksi enzim dan sebagainya. Karena kemampuannya tersebut, bakteri berperan penting dan dimanfaatkan untuk keselamatan lingkungan seperti penanggulangan pencemaran lingkungan, caranya yakni menguraikan polutan melalui proses biodegradasi dan bioremediasi (Irianto, 2016). Indonesia memiliki keanekaragaman mikroorganisme yang tinggi. Banyak mikroorganisme baik dari laut atau pesisir dan mikroorganisme endofitik belum dieksplorasi lebih dalam (Rooshereo dan Wahyudi, 2017).

Sumber pencemaran domestik semakin tahun semakin meningkat namun pengelolannya belum optimal, akibatnya sungai dan air tanah dapat tercemar. Hal ini dapat menimbulkan banyak masalah. Salah satu masalahnya adalah bau busuk dari produksi hidrogen sulfida. Sumber hidrogen sulfida dalam perairan antara lain berasal dari proses dekomposisi bahan organik pada pH rendah dan kondisi anaerob (Widyaningsih, 2013). Hidrogen sulfida bersifat toksik, iritan dan berbau busuk. Konsentrasi besar berefek meningkatkan keasaman air sehingga dapat menyebabkan korosifitas pada pipa-pipa logam. Toksisitas akut pada manusia karena menghirup gas dengan konsentrasi tinggi, iritasi pada mata diakibatkan paparan padakonsentrasi 15-30 mg/m³. Kadar maksimum dalam air yang diperbolehkan adalah 0,05 mg/liter (Waluyo, 2009).

Pengelolaan limbah dengan kandungan sulfida ini dapat dilakukan dengan menggunakan bantuan bakteri atau yang sering disebut sebagai bioremediasi (Fahrudin, 2014). Eksplorasi bakteri pengurai sulfida ini diambil dari lumpur mangrove hutan lindung Angke Kapuk. Karakter lumpur mangrove yang berbau khas sulfida pada kawasan ini terjadi karena penguraian bahan organik pada kondisi anoksik tidak dapat berjalan secara sempurna dan dapat menimbulkan senyawa berbahaya seperti hidrogen sulfida, bahkan jumlah hidrogen sulfida dapat meningkat seiring bertambahnya bahan organik dan menurunnya oksigen terlarut. Kondisi tersebut menjadi buruk dengan keadaan lingkungan mangrove yang biasa selalu tergenang air laut (Purnomo *et al*, 2013). Tipikal kondisi lingkungan seperti ini menjadi habitat alami bakteri pengurai sulfida di kawasan mangrove.

Material dan metode

Lokasi pengambilan lumpur mangrove yakni di Hutan Lindung Angke Kapuk. Waktu penelitian yakni bulan Maret 2021 sampai Juni 2021. Gambar dari lokasi penelitian dapat terlihat pada Gambar 1.

6. Uji Motilitas

Motilitas diamati berdasarkan rata tidaknya pertumbuhan bakteri pada media di dalam tabung reaksi contain Luria Bertani Agar. Bakteri motil akan bergerak dan menyebar di sekita daerah tusukan. Bakteri yang tidak motil hanya tumbuh terbatas pada bekas tusukan jarum inokulasi (Feliatra,2018)

7. Uji Kinerja Penurunan Sulfida

Prinsip pengerjaannya adalah dalam suasana asam, senyawa dimetil p-fenildiamin berubah menjadi garam diammonium dengan adanya katalisator FeCl_3 . Garam ini kemudian bereaksi dengan senyawa sulfida membentuk senyawa tiasin yang berwarna biru. Banyaknya senyawa tiasin yang terbentuk ekuivalen dengan kadar sulfida dalam contoh air. Reagen yang digunakan adalah asam sulfat (1:1), larutan N,N–dimetil-p-fenildiamin dihidroklorida, Larutan FeCl_3 dan Larutan diammonium 155solate155 fosfat 40%. Kurva 155solate155 dibuat pada konsentrasi 0,0 ppm ; 0,2 ppm ; 0,4 ppm ; 0,6 ppm ; 0,8 ppm dan 1,0 ppm. Hasil perhitungan regresi linier didapatkan $y = 0,462x$ dimana nilai X adalah konsentrasi larutan 155 isolat 155 sulfida dan nilai y adalah nilai besarnya absorbansi spektrofotometer.

Perhitungan kinerja penurunan sulfida didapatkan dengan rumus =

$$\frac{(\text{Konsentrasi larutan sulfida baku 2 ppm} - \text{Konsentrasi sulfida akhir})}{\text{Konsentrasi larutan sulfida baku 2 ppm}} \times 100\%$$

8. Analisis sekuensing 16S rRNA

Proses pengerjaan antara lain ekstraksi DNA menggunakan teknik konvensional kemudian diambil target untuk PCR selanjutnya dilakukan purifikasi produk PCR (membuang sisa-sisa reagen PCR terutama kedua primer), konsentrasi produk PCR dikur menggunakan spektrofotometer (ng/ μl). Setelah itu, dilakukan *cycle sequencing* (dengan *Big Dye Terminator Kit*). Purifikasi produk *cycle sequencing* untuk membuang sisa-sisa reagen cycle sequencing terutama ddNTP sisa. Run dilakukan di 310/3130/3130xIGA. Analisis data dengan *Sequencing Analysis Software*.

Hasil dan Diskusi

Hasil isolasi dan pengamatan makroskopis koloni dari lumpur mangrove didapatkan 15 isolat yang diduga memiliki kinerja penurunan sulfida karena kemampuan tumbuh dalam medium mengandung Natrium tiosulfat (Tabel 1). Penggunaan Natrium tiosulfat untuk sumber sulfida mengingat muatan ion S^{2-} dalam tiosulfat sama dengan ion sulfida. Semua 155 isolat memiliki bentuk batang, 3 isolat menunjukkan hasil uji katalase isolate 155 yang berarti 155 isolat tidak memiliki enzim katalase sedangkan 155 isolate lain memiliki enzim katalase, 1 isolat memiliki sifat motil dan 155 isolat lainnya bersifat non motil.

Tabel 1. Hasil penelitian bakteri lumpur mangrove

Kode Isolat	Uji mikroskopis	Uji Katalase	Uji Motilitas	Uji Penurunan sulfida (%)
P1.1	Batang	Positif	Motil	30,58
P1.2	Batang	Positif	Non Motil	0
P1.3	Batang	Negatif	Non Motil	9,17
P2.1	Batang	Positif	Non Motil	0
P2.2	Batang	Positif	Non Motil	0
P2.3	Batang	Negatif	Non Motil	3,88
P3.1	Batang	Positif	Non Motil	21,84
P3.2	Batang	Negatif	Non Motil	0
P3.3	Batang	Positif	Non Motil	9,17
P4.1	Batang	Positif	Non Motil	0
P4.2	Batang	Positif	Non Motil	10,68
P4.3	Batang	Positif	Non Motil	13,59
P5.1	Batang	Positif	Non Motil	8,74
P5.2	Batang	Positif	Non Motil	0
P5.3	Batang	Positif	Non Motil	0

Pada pengujian penurunan sulfida didapatkan hasil tidak semua 156 isolat dapat memiliki kinerja penurunan sulfida pada konsentrasi sulfida 2 ppm dalam waktu inkubasi 2 hari kondisi semiaerobik. Hanya 8 isolat yang memiliki kinerja penurunan sulfida pada konsentrasi sulfida 2 ppm. Isolat lainnya kemungkinan membutuhkan waktu lebih lama untuk menurunkan konsentrasi sulfida atau kinerja penurunan sulfida dapat terjadi pada konsentrasi sulfida kurang dari 2 ppm. Isolat dengan kinerja penurunan sulfida. Paling besar diidentifikasi menggunakan molecular sekuensing 16S rRNA dan diperoleh hasil 156 isolate memiliki similarity tinggi dengan spesies *Bacillus aryabhataii*.

Bacillus aryabhataii ditemukan pertama kali bukan di tanah melainkan di tabung krio yang digunakan untuk menyerap udara pada ketinggian antara 27-41 km diatas permukaan laut ketika penerbangan menggunakan balon udara (Shivaji *et al.*, 2009). Bakteri ini ditemukan pula oleh peneliti Balingtan yang berasal dari tanah Karawang dan mempunyai kemampuan dalam mendegradasi cemaran Pestisida (Wahyuni *et al.*, 2011). Bakteri ini memiliki gram positif, dapat hidup pada suhu antara 4-37°C, mampu bertahan dibawah paparan sinar UV hingga 30 menit, dan tidak memproduksi antibiotik (Ray, 2012). Spesies bakteri ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait kinerja *Bacillus aryabhataii* dalam mengurangi kandungan sulfida terutama aplikasi pada instalasi pengolahan limbah dan akuakultur.

Kesimpulan

Hasil sekuensing 16s rRNA pada isolat yang memiliki kinerja penuruan sulfida terbaik mendapatkan hasil bahwa isolat yang berasal dari lumpur mangrove tersebut adalah *Bacillus aryabhataii*. Spesies bakteri ini memiliki karakter koloni berwarna putih kekuningan, cembung, bulat dan berukuran sedang, memiliki enzim katalase, non motil dan berbentuk batang. Kinerja penuruan sulfida oleh bakteri ini adalah 30,58%.

Daftar Pustaka

- Fahrudin.(2014).*Bioteknologi Lingkungan*. Penerbit Alfabeta, Bandung
- Feliatra.(2018).*Probiotik Suatu Tinjauan Keilmuan Baru Bagi Pakan Budi Daya Perikanan*. Prenadamedia Group, Jakarta
- Irianto, I.K.(2016). *Pemanfaatan Bakteri Untuk Keselamatan Lingkungan*
- Purnomo, P.W., M. Nitisupardjo, dan Y. Purwandari.(2013).Hubungan Antara Total Bakteri Dengan Bahan Organik, NO₃ dan H₂S pada Lokasi Sekitar Eceng Gondok dan Perairan Terbuka Di Rawa Pening. *Management of Aquatic Resources. Volume 2 (3)*: 85-92.
- Ray, S., Datta, R., Bhadra, P., Chaudhuri, B., & Mitra, A. K. (2012). From space to Earth: *Bacillus aryabhatai* found in the Indian sub-continent. *Biosci. Discov*, 3, 138-145
- Roosheroe, I. G., & Wahyudi, P.(2017). *Mengenal Biodiversitas Mikroorganisme Indonesia untuk Kesejahteraan Bangsa*. Jakarta: Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Shivaji, S., Chaturvedi, P., Begum, Z., Pindi, P. K., Manorama, R., Padmanaban, D. A., & Narlikar, J. V. (2009). *Janibacter hoylei* sp. nov., *Bacillus isronensis* sp. nov. and *Bacillus aryabhatai* sp. nov., isolated from cryotubes used for collecting air from the upper atmosphere. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(12), 2977-2986.
- Vikromvarasiri, N., Boonyawanich, S., & Pisutpaisal, N. (2015).Optimizing sulfur oxidizing performance of *Paracoccus pantotrophus* isolated from leather industry wastewater. *Energy Procedia*, 79, 629-633.
- Wahyuni, S., Indratin, I., & Poniman, P.(2011).Pengkayaan Mikroba Konsorsia pada Urea Berlapis Arang Aktif Dapat Mempercepat Penurunan Insektisida Aldrin di Lahan Sawah. *In Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning (Vol. 11, No. 1, pp. 402-407)*.
- Waluyo, L. (2009). *Mikrobiologi Lingkungan*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Widyaningsih,T.S.(2013).Pengembangan Ekoteknologi Dengan Proses Aerasi Filtrasi Untuk Menurunkan Kadar H₂S Pada Limbah Cair Pasar Ikan. *Jurnal; RekayasaLingkungan Vol.13 No.2* .

Received: 23/12/2021

Revised: 26/12/2021

Accepted: 31/12/2021