

Isolasi Bakteri Termofilik dari Tanah Hutan Mangrove

Fidhia Rara Lande, Wahyu Widayat, Yurika Sastyarina*

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: yurika@farmasi.unmul.ac.id

Abstract

Mangrove forest soil is a habitat and source of diversity of microorganisms, including thermophilic bacteria. The utilization of thermophilic bacteria has been carried out in the pharmaceutical field, especially as a source of raw materials for pharmaceutical products. This study aims to provide an overview of the population of thermophilic bacteria found in mangrove forest soils. Soil samples were obtained by random stratification with a depth of 5-10 cm at 9 points from 3 strata. The isolation media used were Starch Casein Agar (SCA), and the groups of bacteria determined by using the Gram staining method. The selected thermophilic bacteria from mangrove forest soil totaling 64 isolates consisted of Gram-negative that divides into 20 bacilli, 9 cocci, 6 vibrios, and Gram-positive consisted of 26 bacilli, 3 cocci. The highest population of thermophilic bacteria from mangrove forest soils was Gram-negative as many as 35 isolates.

Keywords: thermophilic bacteria, Gram-positive and negative, mangrove forest

Abstrak

Tanah hutan mangrove merupakan habitat dan sumber keanekaragaman dari mikroorganisme diantaranya adalah bakteri termofilik. Pemanfaatan bakteri termofilik telah banyak dilakukan dalam bidang farmasi khususnya sebagai sumber bahan baku produk farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran dari populasi bakteri termofilik yang terdapat pada tanah hutan mangrove. Sampel tanah diperoleh dengan cara acak stratifikasi dengan kedalaman 5-10 cm pada 9 titik dari 3 stratum. Media isolasi yang digunakan adalah *Starch Casein Agar* (SCA) dan penentuan kelompok bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan Gram. Bakteri termofilik terpilih dari tanah hutan mangrove berjumlah 64 isolat terdiri dari Gram negatif dengan bentuk mikroskopik batang 20, bulat 9, koma 6 dan Gram positif berbentuk batang 26, bulat 3. Populasi tertinggi dari bakteri termofilik dari tanah hutan mangrove adalah Gram negatif sebanyak 35 isolat.

Kata Kunci: bakteri termofilik, Gram positif dan negatif, hutan mangrove

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.383>

■ Pendahuluan

Hutan mangrove merupakan kawasan hutan yang terdapat di daerah pesisir pantai yang menjadi pertemuan antara daratan dan lautan. Hutan mangrove di Indonesia memiliki luas yang mencapai 21% dari total luas hutan mangrove di dunia [1]. Kalimantan Timur dengan panjang garis pantai kurang lebih 81.000 km memiliki hutan mangrove kurang lebih 950.000 ha atau 21,9% dari luas hutan mangrove di Indonesia. Daerah tersebut selalu dipengaruhi oleh pasang surut air laut dan memiliki sumber daya alam yang potensial dimana terpadu unsur fisik dan biologis dari daratan dan lautan [2]. Kawasan hutan mangrove kaya akan bahan organik yang dapat sumber nutrisi bagi mikroorganisme khususnya bakteri.

Bakteri termofilik memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan dalam bidang industri farmasi. Salah satu pemanfaatan paling umum dari bakteri termofilik adalah sebagai penghasil berbagai enzim yang bersifat termostabil. Enzim yang dapat dihasilkan diantaranya amilase, selulase [3], protease [4] dan lipase [5]. Bergesernya paradigma dalam bidang industri dalam mencari sumber bahan baku yang dapat diperbaharui menjadi salah satu alasan mengapa pencarian mikroorganisme khususnya bakteri termofilik penghasil biokatalis yang bersifat termostabil semakin diminati [6].

Bakteri termofilik dapat diklasifikasikan dalam dua kelompok yaitu termofilik obligat dan fakultatif. Bakteri termofilik obligat dapat bertahan pada suhu di atas 50°C, sedangkan bakteri termofilik fakultatif dapat tumbuh pada rentang suhu 50-60°C atau suhu kurang dari 38°C. Bakteri termofilik dapat ditemukan pada berbagai jenis lingkungan seperti sumber air panas, tanah kompos dan tanah yang sering terpapar oleh cahaya matahari.

Pemanfaatan sumber daya alam pada hutan mangrove dapat menjadi langkah awal pencarian sumber bahan baku khususnya pada industri farmasi. Berdasarkan pemaparan tersebut maka tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan gambaran dari populasi bakteri termofilik yang terdapat pada tanah hutan mangrove di Kalimantan Timur.

■ Metode Penelitian

Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tanah hutan mangrove, medium SCA, alkohol 70%, alkohol 96%, aquades, larutan kristal violet, iodine, dan safranin.

Bahan

Alat yang digunakan yaitu oven, *laminar air flow*, inkubator, autoklaf, erlenmeyer 250 mL, cawan petri, ose bulat, mikroskop kamera, bunsen, *object glass*, *cover glass*, pinset, tabung reaksi, batang pengaduk, cawan porselin, dan *hot plate*.

Pengambilan sampel

Sampel diperoleh dari salah satu hutan mangrove di kota Bontang, Kalimantan Timur. Pengambilan sampel dilakukan pada tiga startum, dimana masing-masing stratum terdapat tiga titik. Sampel tanah diambil dari kedalaman 5-10 cm.

Pembuatan medium

Ditimbang medium SCA sebanyak 15,75 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga 250 mL dan dipanaskan menggunakan *hot plate*. Selanjutnya, disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Isolasi bakteri termofil

Sampel tanah dipanaskan dengan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 1 jam. Isolasi bakteri termofil dilakukan dengan menggunakan metode sebar, kemudian diinkubasi selama 5-7 hari.

Pemurnian isolat bakteri termofil

Isolat bakteri termofil yang tumbuh pada media SCA dimurnikan dengan tujuan untuk memperoleh satu jenis isolat murni. Bakteri dimurnikan dengan menggunakan metode gores pada media SCA.

Pewarnaan Gram

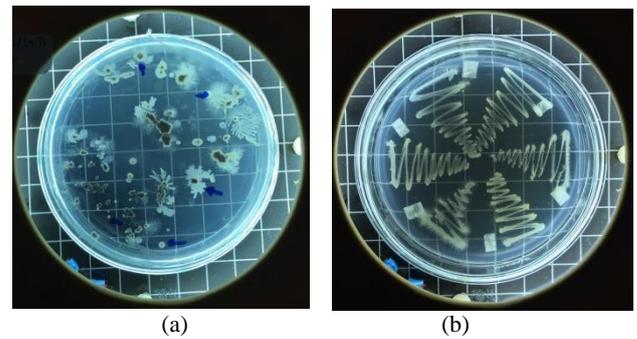
Isolat diambil secara aseptik dan digoreskan di atas gelas objek ditambahkan 1 tetes aquades kemudian difiksasi di atas lampu bunsen. Setelah dingin ditetaskan cat Gram A (kristal violet), kemudian dicuci dengan air mengalir dan

dikeringkan di udara. Setelah itu ditetesi dengan Gram B (iodium), dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Kemudian ditetesi dengan Gram C (alkohol 96 %), lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Terakhir ditetesi dengan Gram D (safranin) lalu dicuci dengan air, difiksasi dan diamati dengan mikroskop.

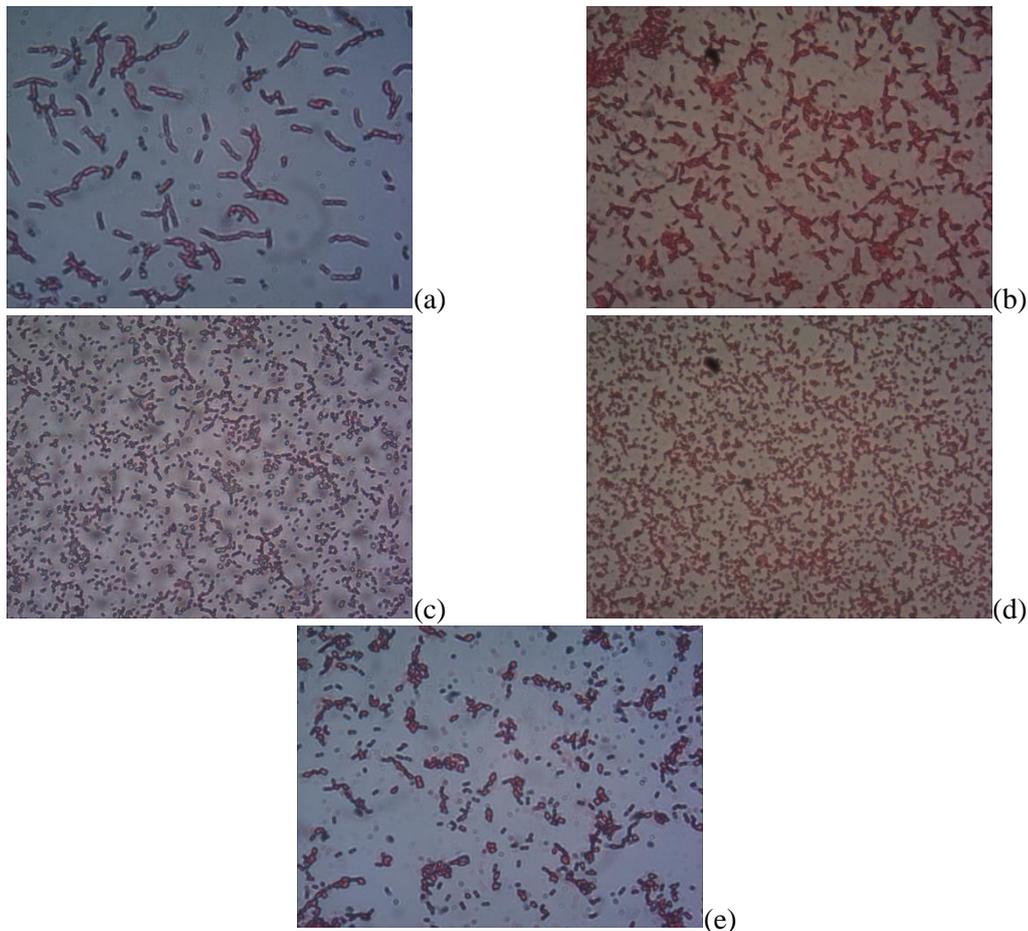
■ Hasil dan Pembahasan

Tanah merupakan habitat utama dari mikroorganisme, khususnya bakteri. Tanah hutan mangrove kaya akan bahan organik dimana berasal dari serasah vegetasi yang hidup di lingkungan tersebut. Sampel tanah hutan mangrove diambil secara acak dari 3 stratum dimana masing-masing stratum terdapat 3 titik. Sampel tanah hutan mangrove dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam untuk memperoleh bakteri yang sifatnya termofilik atau dapat bertahan hidup dalam keadaan suhu ekstrem. Isolasi bakteri termofilik dilakukan dengan menggunakan metode sebar padat, dimana sampel

tanah ditaburkan di atas media SCA kemudian diinkubasi selama 5-7 hari. Selanjutnya dilakukan pemurnian isolat bakteri terpilih dengan menggunakan teknik gores. Isolat yang berhasil diperoleh berjumlah 64.



Gambar 1. (a) Isolasi bakteri termofilik menggunakan metode sebar, (b) Isolat bakteri yang telah dimurnikan.



Gambar 2. Hasil pengamatan mikroskopik pewarnaan Gram dengan perbesaran 100x. (a) Gram positif berbentuk batang, (b) Gram negatif berbentuk batang, (c) Gram positif berbentuk bulat, (d) Gram negatif berbentuk bulat, dan Gram negatif berbentuk koma.

Bakteri memiliki berbagai bentuk dimana terbagi dalam tiga kelompok utama, yakni berbentuk batang (basil), bulat (kokus) dan koma (vibrio). Bentuk bakteri dapat diamati secara mikroskopik.

Tabel 1. Hasil pengamatan mikroskopik pewarnaan Gram

Jenis Gram	Bentuk	Jumlah
Negatif	Batang	20
	Bulat	9
	Koma	6
Positif	Batang	26
	Bulat	3

Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri termofilik terpilih dari tanah hutan mangrove berjumlah 64 isolat terdiri dari Gram negatif dengan bentuk mikroskopik batang 20, bulat 9, koma 6 dan Gram positif berbentuk batang 26 dan bulat 3.

Pewarnaan Gram membagi bakteri ke dalam 2 kelompok yakni Gram positif dan Gram negatif. Pewarnaan gram memerlukan tiga macam reagen kimia yaitu kristal violet, iodium, dan safranin. Bakteri kelompok Gram positif berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel pada masing-masing kelompok bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif banyak mengandung peptidoglikan sedangkan dinding sel bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis namun banyak mengandung lipopolisakarida. Peptidoglikan (murein) merupakan polisakarida yang terdiri dari dua subunit yang disebut asam N-asetil glukosamin dan asam N-asetil muramat yang dihubungkan oleh rantai peptida pendek. Struktur tersebut menghasilkan kekakuan pada dinding sel bakteri. Lapisan peptidoglikan yang tebal dari kelompok bakteri Gram positif memungkinkan organisme ini untuk mempertahankan kompleks kristal violet-iodium sehingga terlihat berwarna ungu.

Kelompok bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis dan akan kehilangan kompleks kristal-iodium selama proses dekolorisasi dengan alkohol. Zat peluntur yang ditambahkan dapat

melarutkan lapisan lipid pada membran sel bakteri Gram negatif. Peluruhan lapisan lipid meningkatkan hilangnya noda utama dari sel bakteri Gram negatif. Sebaliknya, pelarut mengeringkan dinding sel bakteri Gram positif, sehingga difusi dari kompleks violet-iodium diblokir dan bakteri tetap berwarna ungu.

■ Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 64 isolat bakteri termofilik dari sampel tanah hutan mangrove yang terbagi dalam kelompok Gram positif dan negatif. Isolat yang diperoleh memiliki bentuk batang, bulat, dan koma. Populasi tertinggi didominasi oleh kelompok Gram positif berbentuk basil sebanyak 26 isolat.

■ Daftar Pustaka

- [1] Spalding, M., Kainoma, M. dan Collins, L. **2010**, *World Atlas of Mangroves*, Earthscan: London.
- [2] Mardiana, **2005**. Perbedaan Kondisi Fisik Lingkungan Terhadap Pertumbuhan Berbagai Tanaman Mangrove. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian*. 3(1).
- [3] Alam, M. S., Sarjono, P. R., dan Aminin, A. L. **2013**. Isolasi Dan Karakterisasi Selulase Dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains Dan Matematika*. 21 (2)48-53.
- [4] Widia, F., Agustien, A., dan Febria, F. A. **2015**. Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4 (1) 9-14.
- [5] Tika, I.N, Redhana I.W dan Ristiati, N.P. **2007**. Isolasi Enzim Lipase Termotabil Dari Bakteri Termofilik Isolat Air Panas Banyuwedang Kecamatan Gerogak, Buleleng Bali. *Akta Kimindo*. Vol. 2 No. 2: 109 – 112.
- [6] Turner, P., Mamo, G., dan Karlsson, E. N. **2007**. Potential and Utilization of Thermophiles and Thermostable Enzymes in Biorefining. *Microbial Cell Factories*. Vol.6 No. 6:9. s