

Bakteri Tanah Pendegradasi Bahan Organik Desa Talango, Pulau Poteran, Sumenep

Muhammad Andry Prio Utomo dan Maya Shovitri
Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak— Pulau Poteran merupakan salah satu pulau terbesar yang dimiliki oleh Kabupaten Sumenep dengan sektor prioritas pengembangan sumber daya perkebunan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan kandungan bahan organik tanah pulau Poteran sangat rendah. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi eksoenzim yang dihasilkan bakteri tanah desa Talango, pulau Poteran, dalam mendegradasi bahan organik, dan mengetahui genus bakteri tersebut. Potensi eksoenzim dihitung dengan indeks amilolitik pada medium *starch agar*, indeks proteolitik pada medium *Bushnell-Haas Casein 1%*, indeks selulolitik pada *CMC agar*, dan indeks lipolitik pada *Tween 80-pepton agar*. Karakterisasi bakteri dilakukan menggunakan kunci dikotomi berdasarkan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* hingga tingkat genus. Penelitian ini mendapatkan empat isolat bakteri tanah desa Talango yang berpotensi proteolitik dan selulolitik, dua isolat diantaranya berpotensi amilolitik, dan dua isolat berpotensi lipolitik. Setelah dilakukan karakterisasi dan identifikasi kelima isolat bakteri tersebut cenderung terbagi ke dalam dua genus yaitu *Corynebacterium*, dan *Aeromonas*.

Kata Kunci—bahan organik, bakteri, desa Talango.

I. PENDAHULUAN

PULAU Poteran merupakan salah satu pulau terbesar yang dimiliki oleh Kabupaten Sumenep dengan luas 393.888 m² [1]. Hasil penelitian [2], menunjukkan bahwa pulau Poteran memiliki sektor yang menjadi prioritas pengembangan sumber daya yang ada adalah perkebunan, yang paling banyak diunggulkan dari pulau Poteran adalah pertanian lahan kering dan perkebunan seperti jagung, ubi kayu, kelapa, tembakau, dll. [3].

Bahan organik tanah adalah semua jenis senyawa organik yang terdapat di dalam tanah, termasuk serasah, fraksi bahan organik ringan, biomassa mikroorganisme, bahan organik terlarut di dalam air, dan bahan organik yang stabil atau humus [4]. Kandungan bahan organik merupakan kunci ketahanan terhadap kekeringan dan kelestarian produksi pangan [5]. Bahan organik berperan dalam pelapukan dan proses dekomposisi mineral tanah, sumber hara tanaman, pembentukan struktur tanah stabil dan pengaruh langsung pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman di bawah kondisi tertentu [6].

Hasil penelitian [7], menunjukkan bahwa kandungan bahan organik tanah di Madura adalah 89% dengan klas sangat rendah bahan organik (< 2%) dan 11% dengan kelas rendah

bahan organik (>2%). Kondisi ini harus menjadi perhatian utama dalam pengelolaan tanah khususnya pulau Poteran, Madura. Peningkatan kandungan karbon dalam tanah merupakan suatu keharusan dalam pengelolaan lahan.

Sisa tanaman yang telah mati banyak mengandung bahan organik seperti amilum, selulosa, dan protein [8]. Bakteri memerlukan bahan organik seperti karbohidrat, protein, dan lemak untuk menghasilkan energi dan sebagai sumber karbonnya. Bakteri memiliki eksoenzim yang dapat memecah makromolekul karbohidrat, protein, dan lemak [9]. Eksoenzim hidrolitik yang dihasilkan bakteri berguna untuk mendegradasi polimer bahan organik menjadi bahan organik sederhana [10]. Selama proses perubahan dan pelarutan bahan organik, unsur hara akan bebas menjadi bentuk yang larut dan dapat diserap tanaman. Sebelum mengalami proses perubahan, sisa hewan dan tumbuhan ini tidak berguna bagi tanaman, karena unsur hara masih dalam bentuk terikat yang tidak dapat diserap oleh tanaman [11].

Pulau Poteran memiliki tipe pertanian lahan kering dengan kadar bahan organik di dalam tanahnya rendah [7]. Salah satu solusi yang ditawarkan adalah mendegradasi bahan organik sisa tanaman atau hewan menjadi bentuk terlarut dengan menggunakan bakteri tanah, sehingga dapat menaikkan kandungan unsur hara pada tanah tersebut. Literatur [12], menambahkan bakteri perombak bahan organik digunakan sebagai strategi untuk mempercepat proses dekomposisi sisa-sisa tumbuhan dan hewan, selain untuk meningkatkan biomassa dan aktivitas mikroba tanah, juga dapat mengurangi penyakit, larva insekta, biji gulma, volume bahan buangan, sehingga pemanfaatannya dapat meningkatkan kesuburan tanah. Berdasarkan fakta tersebut isolasi dan seleksi awal diperlukan untuk menentukan jenis bakteri tanah yang berperan dan berpotensi untuk dikembangkan serta dimanfaatkan secara khusus dalam degradasi bahan organik seperti amilum, selulosa, protein, dan lemak. Sehingga dapat meningkatkan kesuburan tanah serta meningkatkan produktivitas hasil pertanian pulau Poteran.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan September 2013 hingga Maret 2014 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan

Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

B. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil pada desa Talango dengan koordinat S: 07°03'48.0" dan E: 113°57'02.8". Pada desa talango ditentukan lima buah titik pengambilan sampel pada kedalaman 10 cm di daerah sekitar rhizosfer.

C. Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Isolasi dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat hingga konsentrasi 10⁻⁶, kemudian dilanjutkan dengan metode sebar dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Dari pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁶ diambil 100 µl larutan dengan menggunakan mikropipet kemudian dipindahkan ke dalam cawan Petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni bakteri dengan karakteristik tersendiri kemudian dipurifikasi dengan metode 16 gores supaya didapatkan isolat yang murni. Kemudian dilakukan pewarnaan sederhana dengan *methylene blue* dan dilanjutkan dengan pewarnaan Gram untuk memastikan kemurnian isolat bakteri.

D. Uji Potensi Amilolitik, Proteolitik, Selulolitik, dan Lipolitik

Potensi amilolitik isolat bakteri dilakukan dengan inokulasi titik pada medium starch agar dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah masa inkubasi medium starch agar digenangi dengan larutan Gram iodine, diamati zona bening yang terbentuk [13]. Pengukuran potensi proteolitik dilakukan pada medium Bushnell-Haas casein 1% agar dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang [14]. Isolat yang terdeteksi memiliki potensi proteolitik menunjukkan adanya zona bening disekitar koloni bakteri. Pengukuran potensi selulolitik secara kualitatif dilakukan pada medium CMC agar dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah inkubasi selama 48 jam, medium pertumbuhan digenangi dengan pewarna congo red 0,1% selama sepuluh menit dan dibilas dengan menggunakan larutan NaCl 0,9%. Isolat yang menunjukkan zona bening disekitar koloni menandakan isolat tersebut memiliki potensi selulolitik [15]. Pengukuran potensi lipolitik dilakukan pada medium Tween 80-Pepton agar dan diinkubasi selama 96 jam pada suhu ruang. Isolat yang terdeteksi memiliki potensi lipolitik menunjukkan adanya zona presipitasi kalsium monostearat di sekitar koloni [16]. Indeks amilolitik, proteolitik, selulolitik, dan lipolitik diukur menggunakan rumus berikut:

$$IA/ IP/ IS/ IL = \frac{X1 - X2}{X2} \tag{1}$$

Keterangan:

- IA/IP/IS/IL : Indeks amilolitik, proteolitik, selulolitik, dan lipolitik
- X1 : Rata-rata diameter zona bening
- X2 : Rata-rata diameter koloni

E. Karakterisasi dan Identifikasi

Isolat bakteri diidentifikasi karakter biokimianya menurut diagram dikotomi berdasarkan *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* [17]. Isolat bakteri diidentifikasi hingga tingkat genus. Uji biokimia yang dilakukan meliputi pewarnaan endospora, pewarnaan tahan asam, uji oksidase, uji katalase, uji fermentasi glukosa, uji fermentasi laktosa, uji fermentasi mannitol, uji indol, uji pembentukan H₂S, uji ornithine decarboxylase, uji urease, ketahanan terhadap NaCl 7%, uji kebutuhan oksigen, uji penggunaan sitrat, dan uji motilitas. Isolat bakteri yang digunakan untuk proses identifikasi maksimal berumur 24 jam.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Degradasi Bahan Organik

Dari hasil isolasi didapatkan lima isolat bakteri yaitu dengan kode TA 1, TA 2, TA 3, TA 4, dan TA 5. Isolat yang menghasilkan zona bening dalam medium starch agar setelah diwarnai dengan Gram-iodin menandakan isolat tersebut memiliki potensi amilolitik [13]. Isolat yang menghasilkan zona bening dalam medium Bushnell-Haas Casein 1% menandakan isolat tersebut memiliki potensi proteolitik. Isolat yang memiliki zona bening pada medium CMC setelah diwarnai dengan pewarna *congo red* menandakan isolat tersebut memiliki aktivitas selulolitik [18]. Isolat yang menghasilkan zona presipitasi berwarna keruh pada sekitar koloninya dalam medium Tween 80-Pepton agar yang berwarna bening menandakan isolat tersebut memiliki aktivitas lipolitik [19]. Hasil pengukuran indeks amilolitik, proteolitik, selulolitik, dan lipolitik terdapat dalam Tabel 1.

Tabel 1.
Nilai indeks degradasi bahan organik pada isolat bakteri desa Talango

KODE	IA	IP	IS	IL
TA 1	0	1,3	0,48	0,06
TA 2	0	3,3	0,21	0
TA 3	0,96	2,7	2,5	0
TA 4	0,45	1	4,24	0,23

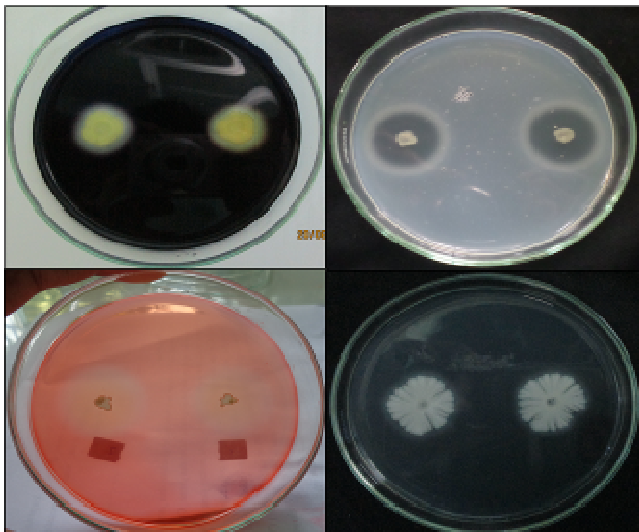
Hasil uji potensi amilolitik menunjukkan bahwa hanya isolat TA 3 dan TA 4 saja yang terdeteksi memiliki potensi amilolitik dengan nilai IA masing-masing 0,96 dan 0,45. Aktivitas isolat bakteri amilolitik membutuhkan enzim amilase. Enzim amilase pada bakteri terdiri dari α-amilase, yang berfungsi memutus ikatan glukosil, memproduksi gula yang berukuran kecil dekstrin dengan glukosa dan maltose, β-amilase memutuskan ikatan maltosa dari ujung non pereduksi. Enzim amilase yang dihasilkan bakteri sangat bermanfaat bagi bidang industri makanan, fermentasi, dan farmasi [20].

Pada uji potensi proteolitik semua isolat menunjukkan zona bening disekitar koloni pada medium Bushnell-Haas Casein 1% agar dengan nilai IP masing masing TA 1 (1,3), TA 2 (3,3), TA 3 (2,7), dan TA 4 (1). Bakteri dengan potensi proteolitik yang didapatkan memiliki enzim protease. Enzim

protease merupakan enzim hidrolitik yang dapat menghidrolisis protein dengan penambahan air diantara ikatan peptida dan memutusnya menjadi peptide yang lebih kecil pada pelarut organik [21]. Selain bermanfaat untuk memecah senyawa protein di dalam tanah, bakteri proteolitik dapat menghasilkan enzim protease yang berguna dalam dunia industri diantaranya untuk menghilangkan noda, mengeringkan luka, dan detergen rumah tangga [22].

Pada uji potensi selulolitik semua isolat menunjukkan potensi selulolitik dengan nilai IS masing-masing TA 1 (0,48), TA 2 (0,21), TA 3 (2,5), dan TA 4 (4,24). Sistem enzim selulosa terdiri dari kelas enzim ekstraseluler yang larut dalam air yaitu: 1,4- β -endoglukanase, 1,4- β -eksoglukanase, dan β -glukosidase. Ketiga enzim tersebut berkerja sama untuk menghidrolisis selulosa secara total hingga menjadi glukosa sehingga menjadi H₂O dan CO₂ [23]. Enzim selulase yang dihasilkan isolat bakteri tanah selain bermanfaat untuk memecah senyawa lignoselulosik, juga dapat diaplikasikan dalam industri fermentasi gula dan ethanol, asam organik, dan detergen [24].

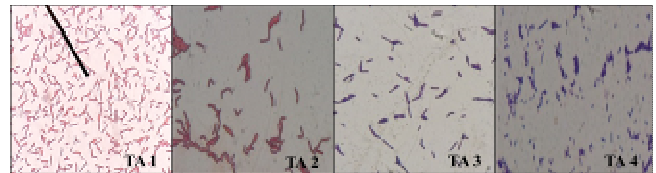
Pada uji potensi lipolitik hanya didapatkan dua isolat bakteri yang memiliki zona presipitasi kalsium monostearat pada sekitar koloni bakteri yaitu TA 1 (0,06) dan TA 4 (0,23). Lemak merupakan polimer yang tidak larut dalam air dan memiliki ikatan ester yang susah didegradasi oleh bakteri. Kompleks kalsium terlihat sebagai kristal yang tak terlarut disekitar daerah inokulasi. Tween 80 paling sering dihidrolisis oleh enzim lipase karena mengandung banyak ester dan asam oleat [16]. Lipase merupakan enzim kunci dalam perkembangan bioteknologi untuk aplikasi pada dunia industri, seperti teknologi makanan, detergen, industri kimia, dan ilmu biomedis [25]. Zona bening hasil pada medium uji amilolitik, proteolitik, selulolitik, dan lipolitik terdapat dalam Gambar 1.



Gambar. 1. Zona bening yang menunjukkan aktivitas amilolitik, proteolitik, selulolitik, dan lipolitik dari isolat *Corynebacterium* TA 3.

3.2 Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri

Penelitian ini mendapatkan dua morfologi sel bakteri yang berbeda yaitu batang Gram positif dan batang Gram negatif. Isolat bakteri yang memiliki morfologi sel batang Gram positif adalah isolat bakteri TA 3 dan TA 4. Sedangkan, isolat bakteri TA 1 dan TA 2 memiliki morfologi batang Gram negatif. Morfologi sel isolat TA 1, TA 2, TA 3, dan TA 4 terdapat pada Gambar 2.



Gambar. 2. Morfologi sel isolat bakteri TA 1, TA 2, TA 3, TA 4, dan TA 5. Ukuran yang ditampilkan bukan merupakan ukuran sebenarnya.

Isolat bakteri TA 3 dan TA 4 memiliki kesamaan karakteristik dengan genus *Corynebacterium*. *Corynebacterium* merupakan bakteri yang non motil, tidak membentuk endospora, pleomorfik, Gram positif, dengan konten G+C yang tinggi pada DNANYa. *Corynebacterium* masuk dalam kelas Actinobacteria dan merupakan salah satu anggota dari kelompok *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, dan *Nocardia* (CMN) [26].

Isolat bakteri TA 1 dan TA 2 memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Aeromonas*. *Aeromonas* menurut [27], memiliki karakteristik sel bentuk batang lurus. Kemoorganotrof. Mampu mengoksidasi atau fermentasi D-glukosa. Mampu memproduksi eksoenzim seperti amilase, DNase, esterase, peptidase, dan enzim hidrolitik lainnya. Biasanya menghasilkan reaksi oksidase positif. Suhu optimal pertumbuhannya adalah 22°C hingga 37°C.

IV. KESIMPULAN

Semua isolat bakteri yang didapatkan memiliki kemampuan untuk mendegradasi bahan organik. Sebanyak 2 isolat bakteri menunjukkan potensi amilolitik, semua isolat bakteri menunjukkan potensi proteolitik dan selulolitik, dan 2 isolat bakteri menunjukkan potensi lipolitik. Isolat bakteri TA 3 dan TA 4 memiliki kemiripan dengan genus *Corynebacterium*, dan isolat TA 1 dan TA 2 memiliki kemiripan dengan genus *Aeromonas*. Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan pengukuran aktivitas enzim secara kuantitatif dari bakteri pendegradasi bahan organik desa Talango, dan perlu dilakukan uji patogenitas isolat bakteri pendegradasi bahan organik dari desa Talango terhadap tanaman pertanian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada ibu Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si., dan bapak Aunurohim, S.Si., DEA atas kritik dan sarannya dalam penulisan jurnal ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] L.N. Hostiadi, "Wisata kampung Nelayan Di Pulau Poteran Madura", Skripsi. Program Studi Teknik Arsitektur, Universitas Kristen Petra, Surabaya, Indonesia (2011).
- [2] Romadhon. "Kajian Indeks Kepekaan Lingkungan Dalam Penyusunan Arahana Pengembangan Pulau Kecil Di Kabupaten Sumenep (Studi Kasus Pulau Sapudi, Poteran, dan Girilayang)." *Embryo* Vol. 5 (1) (2008) 1-13.
- [3] Direktori Pulau-Pulau Kecil Indonesia. (2013, September 10). Pulau Poteran [Online]. Available: http://www.ppkp3k.kkp.go.id/direktori pulau/index.php/public_c/pulau_info/369
- [4] F.J. Stevenson. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions 2th ed.* New York: John Wiley and Sons, Inc (1994).
- [5] A. Bot, and J. Benites. "The importance of soil organic matter Key to drought-resistant soil and sustained food and production." *FAO Soils Bulletin* Vol. 80 (2005).
- [6] M. Schnitzer, and S.U. Khan. *Soil Organic Matter 4th impression.* Amsterdam: Elsevier Science Publishers (1989).
- [7] S. Supriyadi. "Kandungan Bahan Organik Sebagai Dasar Pengelolaan Tanah Di Lahan Kering Madura." *Embryo* Vol. 5 (2) (2008) 176-183.
- [8] I.K. Knabner. "The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter." *Soil Biology and Biochemistry* Vol. 34 (2002) 139-162.
- [9] G.J. Tortora, B.R. Funke, and C.L. Case. *Microbiology An Introduction 11th Edition.* USA: Benjamin Cummings (2012).
- [10] J.W. Lengeler, G. Drews, and H.S. Schlegel. *Biology of the Prokaryotes.* Oxford: Blackwell Science (1999).
- [11] D. Setyorini, R. Saraswati, and E.K. Anwar. *Kompos.* Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian (2006).
- [12] R. Saraswati, E. Santosa, and E. Yuniarti. *Organisme Perombak Bahan Organik.* Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian (2004).
- [13] Harley, and L.M. Prescott. *Laboratory Exercise in Microbiology 5th Edition.* USA: Mc Graw Hill (2002).
- [14] A.A. Jadhav, K.S. Ismail, M.A. Harale, S.V. Gadre, dan M.T. Williamson. "Study of Protease Enzyme from *Bacillus* Species and its Application as a Contact Lens Cleanser." *British Biomedical Bulletin* Vol. 2 (2) (2014) 293-302.
- [15] A. Meryandini, W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania, and H. Satria. "Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya." *MAKARA SAINS* Vol. 13 (1) (2009) 33-38.
- [16] P. Gupta, L.S.B. Upadhyay, dan R. Shrivastava. "Lipase Catalyzed-transesterification of Vegetable Oils by Lipolytic Bacteria". *Research Journal of Microbiology* Vol. 6 (2011) 281-288.
- [17] J.G. Holt, N.R. Krig, P. Sneath, J. Staley, and S. Williams. *Bergey's manual Determinative of Bacteriology 9th Edition.* Philadelphia, USA: Lipincott Williams and Wilkins Company (1994).
- [18] R.M. Teather, and P.J. Wood. "Use of Congo Red-Polysaccharide Interaction in Enumeration and Characterization of Cellulolytic Bacteria from the Bovine Rumen". *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 43 (4) (1982) 777-780.
- [19] R. Gupta, N. Gupta, dan P. Rathi. "Bacterial lipases: an overview of production, purification, and biochemical properties." *Appl. Microbiol Biotechnol* Vol. 64 (2004) 763-781.
- [20] P.M. de Souza, and P.O. e Magalhães. "Application Of Microbial A-Amylase In Industry – A Review." *Brazilian Journal of Microbiology* Vol. 41 (2010) 850-861.
- [21] A. Kaur, S. Ahuja, and G. Sharma. "Isolation of Protease Producing Bacteria from Soil and Genomic Library Construction of Protease Gene." *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences* Vol. 4 (1) (2013) 216-219.
- [22] M.T. Madigan, J.M. Martinko, D.A. Stahl, and D.P. Clark. *BROCK Biology of Microorganisms 13th Edition.* San Francisco: Benjamin Cummings (2012).
- [23] J.P. Aubert, P. Beguin, and J. Millet. "Biochemistry and Genetics of cellulose degradation, fungal and bacterial enzyme systems and their manipulation." *FEMS Symposium.* Vol. 43 (1987) 11-30.
- [24] D. Barman, Z.A. Saud, M.R. Habib, M.F. Islam, K. Hossain, dan T. Yeasmin. "Isolation of Cellulolytic Bacterial Strains from Soil for Effective and Efficient Bioconversion of Solid Waste." *Life Sciences and Medicine Research* Vol. 25 (2011) 1-7.
- [25] A. Pandey, S. Benjamin, C.R. Soccol, P. Nigam, N. Krieger, and U.T. Soccol. "The realm of microbial lipases in biotechnology". *Biotechnol Appl Biochem* Vol. 29 (1999) 119-131.
- [26] C.L. Gyles, J.F. Prescott, G. Songer, and C.O. Thoen. *Pathogenesis of Bacterial Infection in Animals.* USA: Wiley-Black Well (2010).
- [27] G.M. Garrity, D.J. Brenner, N.R. Krieg, dan J.R. Staley. *Bergey's Manual Systematics of Bacteriology, Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria.* USA: Williams dan Wilkins (2005).