

Potensi *Azotobacter* spp. sebagai Pendeградasi Karbohidrat

Waritsatul Firdausi dan Enny Zulaika
Jurusan Biologi, FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: enny@bio.its.ac.id

Abstrak—*Azotobacter* spp. merupakan salah satu genus bakteri nonsimbiotik yang berperan penting dalam bidang agrikultur terkait kemampuannya memfiksasi nitrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi beberapa isolat *Azotobacter* dari lahan *Eco Urban Farming* ITS dalam mendegradasi karbohidrat (amilum dan selulosa). Kemampuan isolat dalam mendegradasi karbohidrat ditentukan dengan pengukuran Indeks Biodegradasi (IB). Isolat yang digunakan yaitu A1a, A1b, A2, A3, A5, A6, A7, A8, A9, dan A10. Semua isolat mampu mendegradasi amilum dan selulosa kecuali A8. Indeks Biodegradasi (IB) tertinggi terdapat pada isolat A5 yaitu 5,50 untuk amilum dan 3,50 untuk selulosa.

Kata Kunci— *Azotobacter* spp., biodegradasi, karbohidrat.

I. PENDAHULUAN

BAHAN organik adalah fraksi bahan mineral yang ditemukan sebagai penyusun tanah, merupakan timbunan di setiap sisa tumbuhan, binatang, jasad mikro baik sebagian atau seluruhnya telah mengalami perubahan [1]. Bahan organik berperan dalam menentukan kesuburan dan kekayaan nutrisi di dalam tanah. Dekomposisi bahan organik dalam tanah secara fisika, kimia, maupun mikrobiologis, berperan dalam penyediaan hara makro dan mikro [2].

Bakteri tanah merupakan mikroorganisme yang paling dominan di dalam tanah bila dibandingkan dengan mikroorganisme lain seperti fungi dan protozoa [3]. Salah satu bakteri tanah yang melimpah adalah anggota genus *Azotobacter* yang merupakan bakteri nonsimbiotik dan berperan penting dalam bidang agrikultur terkait kemampuannya dalam memfiksasi nitrogen. *Azotobacter* banyak ditemukan di lahan pertanian, perkebunan, taman, dan perladangan. *Azotobacter* juga mampu memproduksi fitohormon yang bermanfaat untuk tanaman, dan menunjukkan sifat antagonis terhadap patogen [4].

Azotobacter juga memiliki potensi mendegradasi beberapa senyawa organik. *Azotobacter chroococcum* mampu mendegradasi senyawa organik volatile, seperti, o-xylene [5]. Beberapa *Azotobacter* spp. yang diisolasi dari lahan *Eco Urban Farming* ITS mampu menggunakan sumber karbon dari glukosa, manosa, fruktosa, maltosa, xilosa, kasein, dan gelatin [6]. Tetapi isolat *Azotobacter* spp. tersebut belum diteliti kemampuannya dalam mendegradasi senyawa organik, terutama golongan karbohidrat (amilum dan selulosa).

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2014 sampai Januari 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

B. Isolat yang Digunakan

Isolat *Azotobacter* yang digunakan adalah A1a, A1b, A2, A3, A5, A6, A7, A8, A9, dan A10, yang sudah menjadi koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS [7],[8].

C. Subkultur Isolat *Azotobacter* spp.

Subkultur *Azotobacter* dilakukan pada media *Nutrient Agar* miring. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni yang tumbuh selanjutnya digunakan untuk uji biodegradasi karbohidrat.

D. Uji Biodegradasi Karbohidrat

Uji biodegradasi karbohidrat terdiri dari uji hidrolisis amilum dan uji hidrolisis selulosa. Uji hidrolisis amilum dilakukan pada medium *Starch Agar* 1%. Sebanyak satu ose isolat *Azotobacter* diinokulasikan dengan metode *line streak*. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam. Lalu ditetaskan *Gram's Iodine* pada permukaan bakteri, dan diamati zona bening yang terbentuk yang menandakan isolat mampu menghidrolisis amilum [9].

Uji hidrolisis selulosa menggunakan *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) Agar 1%. Isolat *Azotobacter* diinokulasikan dengan metode *line streak*. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam. Setelah diinkubasi, ditambahkan larutan *congo red* 0,1% selama 10 menit dan dibilas dengan NaCl 1%. Hidrolisis selulosa ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni bakteri [10].

Potensi biodegradasi senyawa organik oleh *Azotobacter* dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan Indeks Biodegradasi [11] dengan formula:

$$IB = \frac{(\Phi ZB + \Phi K) - \Phi K}{\Phi K}$$

Keterangan:

IB = Indeks Biodegradasi

Φ ZB = Diameter Zona Bening

Φ K = Diameter Koloni

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Biodegradasi Karbohidrat

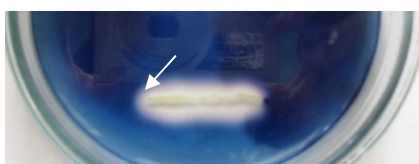
Semua isolat mampu mendegradasi amilum dan selulosa kecuali isolat A8, dengan kemampuan biodegradasi tertinggi pada isolat A5 dengan Indeks Biodegradasi (IB) > 3,0 (Tabel 1).

Tabel 1.
Kemampuan Isolat Azotobacter Mendegradasi Karbohidrat (Amilum dan Selulosa)

Isolat	Karbohidrat	
	Amilum	Selulosa
A1a	+	++
A1b	+	+
A2	+	++
A3	+	+
A5	++++	++++
A6	+	+
A7	+	+
A8	-	-
A9	+	++
A10	+	++

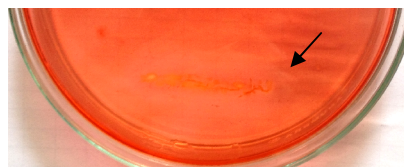
Keterangan :
 +++++ Jika Indeks Biodegradasi > 3,0
 +++ Jika Indeks Biodegradasi 2,1 – 3,0
 ++ Jika Indeks Biodegradasi 1,1 – 2,0
 + Jika Indeks Biodegradasi 0,1 – 1,0
 - Jika tidak mampu melakukan biodegradasi

Isolat dapat menghidrolisis amilum karena memiliki enzim amilase [9]. Semakin besar IB yang terbentuk, semakin tinggi pula enzim yang dihasilkan [12]. Hidrolisis amilum menjadi glukosa dikatalisis oleh enzim endoamilase yang memutus ikatan α -1,4 pada amilosa dan eksoamilase yang memotong ikatan α -1,4 dan ikatan α -1,6 pada amilopektin [13]. Amilum dengan iodium (I₂) akan membentuk kompleks I₂-amilum yang menyebabkan warna biru ungu pada media yang amilumnya belum terhidrolisis. Sedangkan daerah yang amilumnya telah terhidrolisis tidak akan terjadi ikatan antara I₂ dengan amilum sehingga terbentuk zona bening di sekeliling koloni [14]. Hidrolisis amilum dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Zona bening dari biodegradasi amilum.

Kemampuan hidrolisis terhadap selulosa karena bakteri memiliki enzim selulase yang dapat memutus ikatan glikosidik β -1,4 pada selulosa. Enzim selulase terdiri dari tiga jenis yaitu endoglukanase yang memecah ikatan glikosidik internal selulosa menjadi selodekstrin, enzim eksoglukanase memecah selodekstrin menjadi disakarida selobiosa, kemudian enzim selobiose memecah substrat selobiosa menjadi glukosa [15]. Selulosa yang belum terhidrolisis pada medium terlihat berwarna merah karena adanya reaksi antara *congo red* dengan ikatan β -1,4-glikosidik yang terkandung dalam polimer selulosa. Sedangkan selulosa yang terhidrolisis menghasilkan zona bening karena tidak terjadi ikatan antara *congo red* dengan ikatan β -1,4-glikosidik selulosa [16]. Hidrolisis selulosa dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Zona bening dari biodegradasi selulosa.

IV. KESIMPULAN

Semua isolat mampu mendegradasi amilum dan selulosa kecuali isolat A8. Indeks Biodegradasi (IB) tertinggi terdapat pada isolat A5 yaitu 5,50 untuk amilum dan 3,50 untuk selulosa.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. Simanjuntak. "Manfaat Pupuk Organik Kascing dan Cendawan Mikoriza Arbuskula (CMA) pada Tanah dan Tanaman". *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian* Vol 1 (2004) 1-3.
- [2] D.A. Suriadikarta. dan R.D.M. Simanungkalit. "Pupuk Organik dan Pupuk Hayati". *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian* Vol 1 (2006) 1-10.
- [3] S. Widawati, Suliasih, H.J.D. Latupapua, dan A. Sugiharto. "Biodiversity of Soil Microbes from Rhizosphere at Wamena Biological Garden (WBiG), Jayawijaya, Papua". *Biodiversitas* Vol 1 (2005) 6-11.
- [4] R. Kizilkaya "Nitrogen Fixation Capacity of *Azotobacter* spp. Strains Isolated from Soils in Different Ecosystems and Relationship Between Them and The Microbiological Properties of Soils". *Journal of Environmental Biology* Vol 30 (2008) 73-78
- [5] P.B. Thakur and C. Balomajumder. "Biodegradation of O-Xylene by *Azotobacter chroococcum*". *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* Vol 3 (2012) 502-508.
- [6] E.Zulaika, M. Shovitri and N.D. Kuswiyasari. "Characterization and Identification *Azotobacter* from Kalimas Surabaya Candidate for a Potential Biofertilizer and Mercury Bioreducer". Paper. Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand (2012).
- [7] K. Khotimah dan E. Zulaika. "*Azotobacter* sebagai Bioakumulator Merkuri". *Jurnal Sains Pomits* Vol 3 (2014) E30-E32.
- [8] A.L. Sakinah dan E. Zulaika. "Resistensi *Azotobacter* terhadap HgCl₂ yang Berpotensi Menghasilkan Enzim Merkuri Reduktase". *Jurnal Sains Pomits* 3 (2014) E84-E86.
- [9] Harley and L.M. Prescott. *Laboratory Exercise in Microbiology 5th Edition*. USA: Mc Graw Hill (2002).
- [10] G.L. Miller. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar". *Anal. Chem.* Vol. 31 (1959) 426-428.
- [11] U.S. Hastuti, P. Yakub, and H.N. Khasanah. "Biodiversity of Indigenous Amylolytic and Cellulolytic Bacteria in Sago Waste Product at Susupu, North Moluccas". Presented at The Third Basic Science International Conference (2013).
- [12] Apun, Kasing, B.C. Jong, and M.A. Salleh. "Screening and Isolation of a Cellulolytic and Amylolytic Bacillus From Sago Pith Waste". *J. Gen Appl. Microbiol.* Vol 46 (2000) 263-267.
- [13] V. Horvathova, S. Janecek, dan E. Sturdik. "Amylolytic Enzymes: Their Specificities, Origins, and Properties". *Biologia* Vol. 55 (2000) 605-615.
- [14] M. R. Bedford and G. G. Partridge. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. New York : Cabi Publishing (2001).
- [15] L.R. Lynd, P.J. Weimer, W.H. van Zyl, and I.S. Pretorius. "Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology". *Microbiol. Mol. Biol* Vol. 66 (2002) 506-577.
- [16] D. Barman, Z.A. Saud, M.R. Habib, M.F. Islam, K. Hossain, and 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.