
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI KITINOLITIK PADA AIR PAYAU MENGGUNAKAN MEDIA KITIN DARI TULANG SOTONG

¹⁾ Apriyanto, ²⁾ Sri Aprilianti Idris ³⁾ Adriatman Rasak ⁴⁾ Marni Syahrani Ado

^{1-2,4)} Program Studi, Prodi D-III Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari
Jl. Sorumba No. 17 Kendari-Sulawesi Tenggara, ³⁾ Prodi D-III Kesehatan Gigi Politeknik Bina Husada Kendari
Jl. Sorumba No. 17 Kendari-Sulawesi Tenggara,
E-mail : ¹⁾ Apriyantoyuni@gmail.com

Kata Kunci:

Kitinolitik Bakteri, Air Payau,
Tulang Sotong

Keywords:

Cytinolytic Bacteria, Brackish
Water, Cuttle Fish Bones

Info Artikel

Tanggal dikirim: 28 Januari
2023

Tanggal direvisi: 30 May 2023

Tanggal diterima: 31 May 2023

ABSTRAK

Bakteri kitinolitik adalah kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase. Enzim kitinase merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi kitin. Bakteri kitinolitik dapat di isolasi dari tanah dan air. Air payau merupakan salah satu tempat berkembangnya bakteri kitinolitik karena air payau menjadi salah satu habitat dari beberapa jenis hewan penghasil kitin seperti udang, kepiting dan sotong. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri kitinolitik pada air payau. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen yang bersifat deskriptif dengan teknik pengambilan sampel dilakukan secara one shot case study. Dari hasil pengamatan identifikasi morfologi bakteri pada media NA dan pada hasil pewarnaan gram yang telah dilakukan, pada sampel pertama didapati bakteri dengan ciri makroskopis berwarna putih, rhizopoid, permukaan halus, elevasi datar dan pada pewarnaan gram didapati basil gram positif. Sampel kedua memiliki ciri morfologi berwarna putih, bulat, permukaan halus, elevasi cembung pada pewarnaan gram didapati berbentuk vibrio dengan gram negatif.

ABSTRACT

Chitinolytic bacteria are a group of bacteria capable of producing chitinase enzymes. Chitinase enzyme is an enzyme that has the ability to degrade chitin. Chitinolytic bacteria can be isolated from soil and water. Brackish water is a breeding ground for chitinolytic bacteria because brackish water is a habitat for several types of chitin-producing animals such as shrimp, crabs and cuttlefish. This study aims to isolate and identify chitinolytic bacteria in brackish water. The type of research used is a descriptive experiment with the sampling technique carried out by one shot case study. From the observation of the identification of the morphology of bacteria on NA media and the results of the gram staining that has been carried out, the first sample was found to be bacteria with macroscopic characteristics of white, rhizopoid, smooth surface, flat elevation and gram-positive bacilli were found in gram staining. The second sample has morphological characteristics of white, round, smooth surface, convex elevation on gram staining found in the form of vibrio with gram negative

PENDAHULUAN

Bakteri kitinolitik adalah kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase. Enzim kitinase merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi

kitin (1–7) Kitinase merupakan salah satu enzim yang mendegradasi kitin sebagai N-asetilglukosamin. Organisme pendegradasi kitin diantaranya adalah dari grup bakteri. Bakteri yang mempunyai aktivitas kitinolitik

ialah *Vibrio furnissi*, *Serratia marcescens*, *Bacillus circulans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas kitinase asal bakteri kitinolitik sangat potensial dipergunakan menjadi agen pengendalian hayati terhadap jamur patogen maupun serangga hama (Haedar, dkk. 2017).

Kitin adalah polisakarida yang tersusun dari β -1,4-N asetilglukosamin. Kitin memiliki sifat kristal, stabil, kaku, dan memiliki struktur yang tidak larut dalam air pada eksoskeleton hewan karena pada rantai polimer N-asetilglukosamin mengandung ikatan antar molekul hidrogen untuk membentuk ikatan mikrofibril. Kitin dapat diperoleh dari dinding sel jamur, eksoskeleton arthropoda, radula moluska, dan bagian dalam cangkang dari hewan chepalopod seperti sotong, gurita dan cumi-cumi

Salah satu limbah komoditas yang menghasilkan kitin adalah tulang sotong. Tulang sotong (cuttlebone) adalah struktur internal sotong yang keras berbentuk oval dengan bagian dalam yang rapuh dan terletak dibagian belakang tubuh sotong. Cuttlebone terdiri dari dua bagian yaitu: bagian organik (yang memiliki kandungan protein dan β -kitin) dan bagian anorganik (yang memiliki kandungan kalsium fosfat, natrium, magnesium, fosfor, dan garam mineral)

Aktivitas bakteri penghasil enzim kitinase banyak ditemukan pada daerah perairan, salah satunya yaitu pada perairan air payau. Air payau merupakan air yang kadar salinitasnya lebih kecil dari pada salinitas rata-rata air laut yaitu (<35 permil) dan kadar salinitasnya lebih besar 0,5 permil daripada air tawar. Air payau

terbuat dari campuran antara air laut dan air tawar, baik tercampur secara alamiah maupun melalui proses buatan (1–14)

Manfaat lain dari enzim kitinase yaitu dapat mempengaruhi pertumbuhan serangga, dimana enzim kitinase akan melemahkan membran peritrofik dari larva yang mana komponen utamanya adalah kitin. Bakteri kitinolitik yang dapat digunakan sebagai agen biokontrol, diantaranya adalah *Streptomyces*, *Bacillus*, dan *Pseudomonas*. Penggunaan pestisida untuk pengendalian patogen memiliki efek negatif yaitu dapat merusak lingkungan, maka penggunaan agen bakteri biokontrol sebagai pengganti pestisida dapat dipertimbangkan

TINJAUAN PUSTAKA

Beberapa penelitian yang telah dilakukan yaitu: Muthmainah (2018) melakukan penelitian dan berhasil mengisolasi lima bakteri dari lumpur mangrove Beejay Bakau Resort, dua isolat bakteri memiliki aktivitas kitinolitik terbesar dengan karakteristik mikroskopis gram positif, memiliki endospora dan aktivitas katalase, bakteri ini termasuk ke dalam kelompok bakteri *Bacillus* sp. Penelitian selanjutnya yang dilakukan oleh Ibrahim dkk (2020) berhasil mendapatkan salah satu jenis bakteri pada air payau merupakan jenis *Bacillus*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Haedar dkk (2017) mendapati salah satu bakteri penghasil enzim kitinase adalah dari jenis *Bacillus*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Ray dkk (2019) spesies bakteri yang memiliki aktivitas kitinase adalah *Streptomyces olivaceoviridis*.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau menggunakan media kitin dari tulang sotong (cuttlebone)”.

METODE

1. Alat

Alat yang digunakan yaitu botol sampel steril, autoclave, timbangan analitik, mikroskop, magnetic stirrer, erlenmeyer, inkubator, sentrifuge, lampu spiritus, tabung reaksi, glass object, gelas kimia, gelas ukur, rak tabung reaksi, cawan petri, laminar air flow, jarum ose, pipet tetes, mikropipet, tip biru, thermometer, pH meter dan vitek 2 compact..

2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu : alkohol 70%, aquades, kertas label, sampel air payau, HCl 2N, NaOH 3,5%, media agar kitin, 0,1% MgSO₄.7H₂O, 0,02% K₂HPO₄, 0,1% media luria bertani, 1,5% agar murni, larutan crystal violet, larutan lugol, larutan safranin.

3. Metode

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen, penelitian eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mengetahui pengaruh dari hasil treatment (perlakuan) tertentu. (5) Jenis penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan hubungan sebab akibat antara satu variabel dengan variabel lain dimana adanya perlakuan

pada sampel air payau di Sulawesi Tenggara.

4. Analisa Data

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah kualitatif yang diperoleh langsung dari hasil penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari meliputi : Hasil Uji Aktivitas Enzim Kitinolitik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

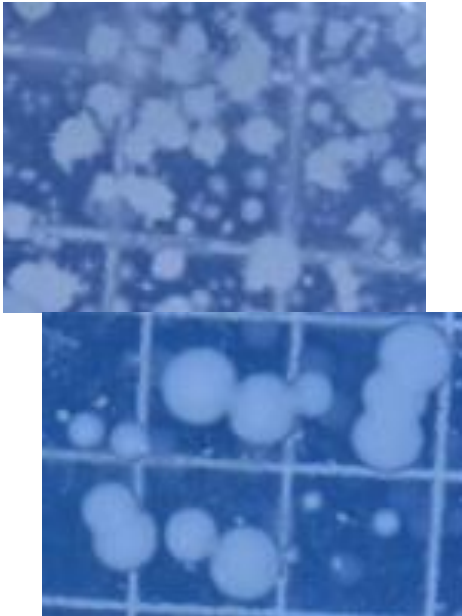
Pada hasil identifikasi morfologi bakteri terdapat 2 bakteri yang berhasil tumbuh dari dua titik yang berbeda. Dilakukan isolasi pada media NA (Nutrient Agar), pewarnaan gram dilanjutkan dengan pemeriksaan Biokimia menggunakan alat Vitect 2 Compact. Pemeriksaan sampel air payau, didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil identifikasi morfologi bakteri

Lokasi	Hasil pengamatan morfologi bakteri					
	Warna	Bentuk	Tepian	Permukaan	Elevasi	Pewarnaan
Air Payau 1 (J.T)	Putih	Irrguler	Bergerigi	Halus	Datar	Gram Positif
Air Payau 2 (M.AL)	Putih	Bulat	Utuh	Halus	Cembung	Gram Negatif

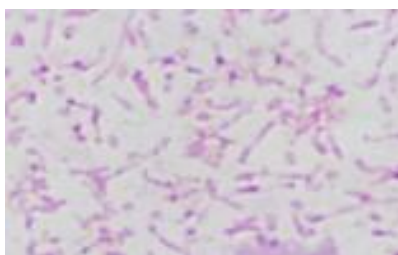
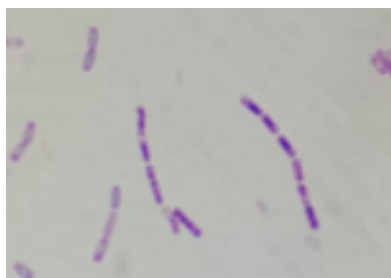
Tabel 1 menunjukkan hasil pemeriksaan secara makroskopik ditemukan morfologi bakteri pada isolat sampel pertama dengan pengenceran 10⁻⁵ warna koloni berwarna putih, bentuk rhizopoid, permukaan halus, elevasi cembung, selanjutnya dilanjutkan pewarnaan gram ditemukan bakteri gram positif berbentuk basil (batang). Pada isolat sampel kedua dengan pengenceran 10⁻⁵ didapati morfologi koloni berwarna putih, bentuk bulat, permukaan halus, elevasi

cembung dan pewarnaan gram ditemukan bakteri gram negatif berbentuk vibrio (koma).



(isolat J.T) (isolat M.AL)

Gambar 1. Hasil isolasi sampel air payau pada Media NA secara Maksroskopis



(isolat J.T)

(isolat M.AL)

Gambar 2. Hasil pewarnaan gram

Pada uji biokimia kedua sampel tidak dapat dilanjutkan pada alat Vitex 2 Compact. Karena pada sampel pertama tidak memiliki kartu AST (Antimicrobial Susceptible Test) untuk isolat sampel tersebut yaitu Basil gram positif. Sedangkan, isolat kedua dengan morfologi pewarnaan gram negatif berbentuk Vibrio tidak dapat teridentifikasi oleh alat Vitex 2 Compact. Hasil ini dapat disebabkan karena metode pemeriksaan dari VITEK® 2 memanfaatkan sifat biokimia dari jamur atau mikroba itu sendiri

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel air payau ditemukan jenis bakteri gram negatif berbentuk koma dan bakteri gram positif berbentuk batang, pengamatan morfologi koloni isolat pertama bakteri secara makroskopis yang ditandai dengan adanya ciri-ciri pertumbuhan koloni yaitu rhizopoid, berwarna putih, permukaan halus serta elevasi yang datar sedangkan pada pengamatan bakteri isolat kedua bakteri memiliki ciri-ciri koloni bulat, berwarna putih, permukaan halus dan elevasi cembung, dan pemeriksaan menggunakan metode Vitek 2 Compact tidak ditemukan jenis spesies bakteri tersebut..

DAFTAR PUSTAKA

1. Abdelmalek BE et al. (2017). β -Chitin

- and chitosan from squid gladius:
Biological activities of chitosan and its application as clarifying agent for apple juice', International Journal of Biological Macromolecules.
2. Adi Wira Prasetya I et al. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Kitinolitik Endofit Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) serta Potensinya dalam Menghambat Pertumbuhan *Fusarium oxysporum*.
 3. Ara M et al. Molecular detection of *Pasteurella multocida* Type B causing haemorrhagic septicemia in cattle and buffaloes of Bangladesh.
 4. Argemi X et al. Coagulase-negative staphylococci pathogenomics', International journal of molecular sciences.
 5. Arifin Z. Metodologi penelitian pendidikan education research methodology.
 6. Artinningsih. Pemanfaatan Kitosan Dari Cangkang Bekicot (*Achatina Fullica*) Untuk Menurunkan Salinitas Air Payau.
 7. Cucunawangsih C. Pedoman pengumpulan spesimen klinis mikrobiologi: pewarnaan dan kultur.
 8. Hidayat, T. R., Indrawati, I. and Herlina T. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Styrofoam asal Tanah Tempat Pembuangan Akhir Sarimukti Bandung.
 9. Hien, T. T., Linh, V. T. and Hai PT. Bacteria Isolated from the Sediment of a Bioelectrochemical System Installed in a Simulated Aquaculture Pond Operated with Brackish Water.
 10. Holderman, M. V, de Queljoe, E. and Rondonuwu SB. Identifikasi bakteri pada pegangan eskalator di salah satu pusat perbelanjaan di kota Manado.
 11. Ibrahim ZKM et al. Isolation, Screening and Characterization of L-Glutaminase Producing Bacteria from Brackish Water.
 12. Diggle, S. P. and Whiteley M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat.
 13. Hardani, P. T., Perwito, D. and Mayzika NA. Review Artikel: Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Berbagai Sumber Bahan Alam.
 14. Herdyastuti N et al. Diversity of Chitinolytic Bacteria from Shrimp Farms and Their Antifungal Activity.