

## KAREKTERISASI BIOKIMIA BAKTERI SELULOLITIK DARI KAYU LAPUK MANGROVE DI KECAMATAN MUNTOK, KABUPATEN BANGKA BARAT

Biochemical Characterization of Cellulolytic Bacteria From Mangroves Weathered  
Wood In Muntok Sub district, West Bangka Regency

**Ardiansyah Kurniawan<sup>1\*</sup>, Asep Awaludin Prihanto<sup>2</sup>, Suci Puspitasari<sup>1</sup>, Andi  
Kurniawan<sup>2</sup>, Euis Asriani<sup>1</sup>, Abu Bakar Sambah<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung  
Kabupaten nvvBangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung

<sup>2</sup>Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya

\*Korespondensi : ardian\_turen@yahoo.co.id

### ABSTRAK

Percepatan pelapukan kayu di area mangrove dimungkinkan terjadi dengan adanya peran bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik penghasil enzim selulase dibutuhkan industri pakan ternak dan pertanian. Mangrove di Kecamatan Muntok mengalami proses adaptasi pada perubahan lingkungan akibat penambangan timah, termasuk mikroorganismenya. Eksplorasi spesies maupun strain bakteri selulolitik yang baru pada mangrove terdampak penambangan diperlukan untuk memperkaya koleksi serta potensi pemanfaatannya untuk keperluan manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri selulolitik pada kayu lapuk mangrove di Kecamatan Muntok, Kabupaten Bangka Barat melalui isolasi, skrining dan karakterisasi biokimia. Tiga lokasi sampling yaitu Mangrove Sukal, Mangrove Peltim dan Mangrove Tembelok menghasilkan 22 isolat bakteri dengan 11 isolat diantaranya menunjukkan kemampuan degradasi selulosa pada uji kualitatif menggunakan lugol. Karakterisasi biokimia pada isolat bakteri dengan degradasi selulosa terbesar mengarah pada *Citrobacter freundii* dan *Vibrio alginolyticus* pada sampel dari Mangrove Sukal dan *Actinomyces bovis* pada isolat dari Mangrove Peltim.

Kata kunci: Bakteri Selulolitik; Mangrove; Kayu Lapuk; Muntok; Tambang Timah

### ABSTRACT

Acceleration of wood weathering in the mangrove area is possible with the role of cellulolytic bacteria. Cellulolytic bacteria producing cellulase enzymes are needed by the animal feed and agriculture industries. Mangroves in Muntok Subdistrict undergo a process of adaptation to environmental changes due to tin mining, including microorganisms. Exploration of new species and strains of cellulolytic bacteria in mining-affected mangroves is needed to enrich the collection and its potential use for human needs. This study aims to identify cellulolytic bacteria in mangrove weathered wood in Muntok District, West Bangka Regency through isolation, screening, and biochemical characterization. Three sampling locations, namely Sukal Mangrove, Peltim Mangrove, and Tembelok Mangrove result 22 bacterial isolates with 11 isolates showing the ability of cellulose degradation in qualitative tests using Lugol. The biochemical characterization of bacterial isolates with the greatest cellulose degradation was directed towards *Citrobacter freundii* and *Vibrio alginolyticus* in samples of Sukal Mangrove and *Actinomyces bovis* in isolates from Peltim Mangrove.

Key words: Cellulolytic bacteria; Mangrove; Weathered Wood; Muntok; Tin Mine

## PENDAHULUAN

Pulau Bangka memiliki potensi mangrove yang bertebaran pada beberapa lokasi diantaranya di Kecamatan Muntok, Kabupaten Bangka Barat. Mangrove sebagai salah satu ekosistem muara merupakan lumbung mikroorganisme yang biasanya menghasilkan metabolisme luar biasa besar dan unik (Kurniawan *et al*, 2018a). Meskipun hutan mangrove di Pulau Bangka mengalami penurunan akibat penambangan timah baik di darat maupun dilautan, sumberdaya dalam hutan mangrove masih memberikan dampak positif bagi kehidupan. Bakteri mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan termasuk keberadaan logam berat (Kurniawan dan Ekowati, 2016) sehingga dimungkinkan bakteri yang teridentifikasi berbeda dengan mangrove di daerah lain. Pramudji (2000) menambahkan penambangan di daerah hutan mangrove memiliki resiko hutan mangrove akan tercemar. Sari dan Rosalina (2014) memaparkan bahwa aktivitas tambang inkonvensional apung dapat mempengaruhi mangrove. Bakteri selulolitik yang diisolasi sedimen Mangrove Sungailiat, Pulau Bangka

Mangrove memiliki potensi sebagai penyedia kebutuhan enzim selulase dari bakteri selulolitik (Behera *et al*, 2017). Bakteri selulolitik dengan sekresi enzim selulase bermanfaat untuk mendegradasi bahan baku pakan ternak (Andriani *et al*, 2012). Bahan-bahan organik dari tumbuhan yang mengalami pelapukan berupa kayu di area hutan mangrove dimungkinkan adanya peran bakteri selulolitik (Kurniawan *et al*, 2018b; Kurniawan *et al*, 2018c; Sangur, 2013) yang mampu menghidrolisis selulosa. Kemampuan bakteri selulolitik yang diperoleh dari alam diharapkan dapat bermanfaat untuk mendegradasi selulosa untuk peningkatan pemanfaatannya. Selulosa dapat didegradasi menjadi glukosa melalui pemanfaatan enzim merupakan satu-satunya yang diketahui memiliki kemampuan degradasi yang tinggi terhadap kristal selulase (Cheol Ko *et al*, 2013).

Hingga saat ini masih minim eksplorasi bakteri selulolitik dari mangrove

dengan lingkungan pertambangan sebagaimana wilayah Kecamatan Muntok, Kabupaten Bangka Barat yang dipaparkan Susanto (2015) sebagai salah satu sentra pertambangan timah di Pulau Bangka. Eksplorasi spesies maupun strain bakteri selulolitik yang baru pada mangrove terdampak penambangan perlu dilakukan untuk memperkaya koleksi serta potensi pemanfaatannya untuk keperluan manusia. Pada penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri selulolitik pada kayu lapuk mangrove di Kecamatan Muntok, Kabupaten Bangka Barat melalui isolasi, skrining dan karakterisasi biokimia.

## METODE PENELITIAN

### *Pengambilan sampel*

Sampel kayu lapuk diambil pada kawasan Mangrove Sukal, Mangrove Peltim dan Mangrove Tembelok di Kecamatan Muntok, Kabupaten Bangka Barat. Kayu lapuk diambil dengan memotong 2 - 3 kayu yang paling lapuk pada area mangrove. Sampel kayu lapuk dikompositkan pada air mangrove steril dan disimpan dalam kantong plastik pada coolbox pada suhu dingin.

### *Isolasi dan Skrining Bakteri Selulolitik*

Sampel kayu lapuk mangrove ditimbang sebanyak 1 g dan diencerkan hingga pengenceran  $10^{-7}$ . Hasil pengenceran dituang sebanyak 1 ml pada media dengan pengayaan 1% CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) dan diinkubasi selama 48 – 72 jam pada temperatur  $30^{\circ}$  -  $37^{\circ}$ C. Hasil kultur diisolasi dengan media yang sama menggunakan *scratch plate method*.

Skrining bakteri selulolitik dilakukan menggunakan metode hidrolisis selulosa. Isolat bakteri ditumbuhkan dalam media yang diperkaya CMC sebanyak satu goresan sepanjang kurang lebih 1 cm dan diinkubasi selama 72 jam pada suhu  $30^{\circ}$  C. uji kualitatif menggunakan lugol (2g of potassium iodine and 1g iodine in 300 ml of aquadest) yang ditetaskan menutupi media agar pada cawan petri dan dibiarkan selama beberapa menit. Zona bening yang terbentuk disekitar isolat bakteri menun-

jukkan kemampuan bakteri men-degradasi selulosa. Isolat yang memiliki zona bening terluas dilanjutkan proses identifikasinya.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel pada Mangrove di Kecamatan Muntok

**Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Selulolitik**

Karakterisasi biokimia dilakukan menggunakan sistem Microbact mengikuti manual prosedur perusahaan produsen. Untuk menentukan identitas bakteri, hasil karakterisasi biokimia dikomparasikan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil isolasi bakteri dengan media selektif yang diperkaya dengan 1% CMC menunjukkan adanya isolat bakteri sebanyak 22 isolat pada sampel kayu lapuk mangrove di Kecamatan Muntok. Pem-

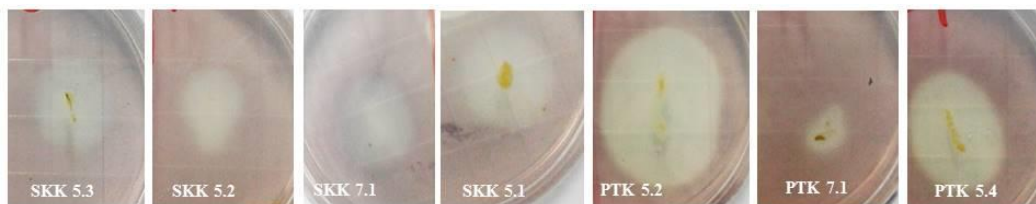
bagian hasil isolasi berdasarkan lokasi pengambilan sampel adalah lima isolat dari Mangrove Tembelok, sembilan isolat dari Mangrove Sukal dan delapan isolat dari Mangrove Peltim. Pada ke 22 isolat dilakukan skrining bakteri selulolitik menggunakan lugol. Hasil skrining menunjukkan terdapat 11 isolat yang teridentifikasi memiliki kemampuan men-degradasi selulosa dengan diameter zona bening antara 3 – 22 mm dengan lima isolat diantaranya merupakan bakteri gram positif. Hasil pengamatan uji kualitatif bakteri selulolitik dan pewarnaan gram disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 2.

**Tabel 1.** Hasil uji kualitatif bakteri selulolitik

Kode Isolat	Diameter zona bening (mm)	Pewarnaan Gram
SKK 5.2	0	-
SKK 5.3	13	Negatif
SKK 5.2	10	Positif
SKK 7.3	3	-
SKK 7.2	0	-
SKK 7.1	13	Positif
SKK 5.1	14	Positif

SKK 6.0	0	-
SKK 6.1	19	Negatif
TBK 5.1	0	-
PTK 5.1	0	-
PTK 7.2	0	-
PTK 5.2	22	Negatif
PTK 7.1	6	Negatif
PTK 6.1	5	Positif
PTK 6.2	0	-
PTK 5.3	3	Positif
PTK 5.4	17	Negatif
TBK 6.1	0	-
TBK 6.2	0	-
TBK 7.1	0	-
TBK 7.2	0	-

Keterangan : SKK= Sukal, TBK = Tembelok, PTK =Peltim



**Gambar 2.** Hasil Pengamatan Zona Bening Uji Kualitatif dengan Lugol

Pada isolat dengan zona bening terbesar dan merupakan bakteri gram positif dilanjutkan pada uji identifikasi bakteri berdasarkan karakteristik biokimia.

Terdapat empat isolat yang diidentifikasi dengan kode isolat SKK-51, SKK-52, SKK-71, dan PTK-61. Data karakteristik biokimia disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Karakterisasi Biokimia pada Isolat Bakteri Selulolitik

Uji Biokimia	SKK-51	SKK-52	SKK-71	PTK-61
Spore	-	-	-	-
Oksidase	-	-	+	-
Motility	+	+	+	-
Nitrate	+	+	+	+
Lysine	-	-	+	+
Ornithin	-	-	+	+
H <sub>2</sub> S	+	-	-	-
Glukose	+	+	+	+
Mannitol	+	+	-	-
Xylose	+	+	+	-
ONPG	+	+	-	+
Indole	+	-	+	-
Urease	+	-	+	-
V-P	+	+	+	+
Sitrat	+	+	-	-
TDA	-	-	-	-
Gelatin	-	-	-	-
Malonat	-	-	-	-

Inositol	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-
Sukrose	-	+	-	-
Lactose	-	-	-	+
Arabinose	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-
Salicin	-	+	-	+
Arginin	-	-	-	-
Catalase	-	+	+	-
Coagulase	-	-	-	-
Hemolise	gama	gama	beta	gama
Uji sensitive Novobiosin	-	-	Resisten	-
Starch hydrolysis	+	+	-	+
Casein hydrolysis	-	+	-	-

Hasil uji biokimia (Tabel 2) menunjukkan SKK-51 dan SKK 52 memiliki kedekatan karakter dengan *Citrobacter freundii*, SKK-71 dengan *Vibrio alginolyticus* dan PTK-61 dengan *Actinomyces bovis*. Hasil identifikasi bakteri selulolitik pada kayu lapuk di mangrove Kecamatan Muntok memiliki perbedaan dengan temuan isolat bakteri selulolitik pada batang lapuk mangrove (*Sonneratia* spp) di Pantai Waai Pulau Ambon yaitu *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Planococcus citreus*, dan *Bacillus pumilis* (Sangur, 2013) dan *Bacillus pumilus* sebagai bakteri selulolitik pada kayu lapuk mangrove Sungailiat dan *Bacillus alvei* pada kayu lapuk mangrove Tukak Sadai (Kurniawan *et al.*, 2018b). Pelapukan kayu juga terjadi akibat akifitas anzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik dalam pencernaan rayap (*Termite* sp) (Ngangi *et al.*, 2013).

*Citrobacter freundii* dan *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri gram negatif dan bersifat patogen. *Citrobacter freundii* bersifat oportunistik patogen yang menyebabkan infeksi nosocomial bagi manusia dan resisten pada beberapa antibiotik (Razaei *et al.*, 2016). Munculnya bakteri ini umumnya terjadi pada air yang terkena polusi (Apriliana *et al.*, 2014). Namun *Citrobacter freundii* juga teridentifikasi pada saluran pencernaan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) dan memiliki kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit akuatik yaitu

*Aeromonas hydrophilla* (Lestari *et al.*, 2014). Potensi kerugian yang dihadapi jika dikonsumsi manusia atau hewan menjadikan isolat bakteri selulolitik ini lebih sesuai diaplikasikan pada produk non pangan dengan pengawasan ketat pada proses produksinya.

*Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri alamiah di estuari dan perairan pesisir yang berpotensi memberikan dampak negatif pada kesehatan komoditas akuatik termasuk ikan, krustace dan moluska (Anwar *et al.*, 2014; Mustapha *et al.*, 2013). *Vibrio alginolyticus* menjadi bakteri patogen bagi Ikan Kerapu Macan (Nursyirwani *et al.*, 2015). Spesies *Vibrio alginolyticus* dilaporkan menjadi salah satu penyebab infeksi vibriosis bagi komoditas akuakultur (Kurniawan, 2012) dengan dampak lebih tinggi pada fase larva dibanding fase lainnya (Kurniawan, 2011; Bintari *et al.*, 2016). Meskipun memiliki produksi enzim selulase yang kuat, potensi patogennya yang besar menjadikan isolat bakteri ini tidak disarankan untuk dimanfaatkan lebih lanjut.

*Actinomyces bovis* pertama kali dijelaskan pada tahun 1877 sebagai mikroba dalam jaringan rahang sapi (Pine *et al.*, 1960) yang menjadi penyebab infeksi pada sapi dan manusia. Genus *actinomyces* ditemukan sebagai bakteri endofit pada rimpang temulawak dan teridentifikasi memiliki senyawa anti fungi (Milliana dan Safitri, 2015). *Actinomyces* merupakan kelompok mikrob yang paling banyak

menghasilkan senyawa bioaktif sebagai antibiotik. Isolat Actinomycetes dari *E.cottonii* menghasilkan antibiotik menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Sulistiyani dan Akbar, 2014). Potensinya sebagai penghasil antibiotik dan anti fungi selain penghasil selulase menjadikan isolat ini potensial untuk diaplikasikan. Perlu pengujian patogenesis untuk memastikan *Actinomyces bovis* tidak memberikan kerugian pada aplikasi yang terkait hewan akuatik.

### KESIMPULAN

Isolat bakteri penghidrolisa selulosa terbesar dari kayu lapuk mangrove di Kecamatan Muntok teridentifikasi sebagai *Citrobacter freundii*, *Vibrio alginolyticus* dan *Actinomyces bovis*. *Citrobacter freundii* potensial dimanfaatkan untuk aplikasi non pangan. *Vibrio alginolyticus* tidak disarankan untuk dimanfaatkan dengan sifat patogennya. *Actinomyces bovis* memiliki potensi dimanfaatkan namun memerlukan uji patogenitasnya jika berkaitan dengan hewan akuatik.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas pendanaannya pada penelitian kerjasama perguruan tinggi tahun 2017 – 2018 antara Universitas Bangka Belitung dan Universitas Brawijaya No. Kontrak : 120.F/UN50.3.1/PP/2018.

### DAFTAR PUSTAKA

Andriani Y, S Sastrawibawa, R Safitri, Abun. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Mikroba Selulolitik Sebagai Biodegradator Serat Kasar Dalam Bahan Pakan Dari Limbah Pertanian. IJAS Vol. 2 Nomor 3.

Anwar, Muhammad Ayaz and Choi, Sangdun, 2014. Gram-Negative Marine Bacteria: Structural Features of Lipopolysaccharides and Their Relevance for Economi-

cally Important Diseases. Marine drugs. Vol.12. Page 2485-2514.

Apriliana R., S.Rudiyanti, P.W. Purnomo, 2014. Diversity of Basic Aquatic Bacteria Types Based on Type of Surface Water Cover in the Swamp. Management Of Aquatic Resources Journal Volume 3 . Nomor 2.

Behera et al, 2017. Microbial cellulases – Diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 15, 197–210

Bintari W,D, R. Kawuri, G.R Dalem. 2016. Identifikasi Bakteri *Vibrio* Penyebab Vibriosis Pada Larva Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*). Jurnal Biologi 20 (2):53 – 63.

Cheol K, J,H Lee, Y Han, J,H Choi, J,J Song. 2013. A Novel Multifunctional Cellulolytic Enzyme Screened From Metagenomic Resources Representing Ruminant Bacteria. Biochemical And Biophysical Research Communications 441 (2013) 567–572

Kurniawan et al, 2018c. Isolation and Identification of Cellulose Degradation Bacteria from Tukak Sadai Mangrove Ecosystem, South Bangka. Jurnal Perikanan Pantura. Vol. 1, No. 2.

Kurniawan et al, 2018a. Isolation and Identification of cellulolytic bacteria from mangrove sediment in Bangka Island. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 137.

Kurniawan et al. 2018b. Bakteri Selulolitik Pada Kayu Lapuk Di Mangrove Sungailiat, Bangka Dan Tukak Sadai, Bangka Selatan. Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah.

- Volume 3. Nomor 1. Halaman 301-305.
- Kurniawan, Ardiansyah. 2011. Seleksi Bakteri Antagonis Larva Patin Siam (*Pangasius Hypophthalmus*) Terhadap *Aeromonas Hydrophila*. Akuatik-Jurnal Sumberdaya Perairan. Volume 5. Nomor 1.
- Kurniawan. A, and N. Ekowati, 2016. Mycoremediation of Heavy Metal: A Review. Bioteknologi & Biosains Indonesia. Vol. 3. No. 1. Pp.36-45
- Kurniawan. Andri. 2012. Penyakit Akuatik. UBB Press. ISBN: 978-979-1373-43-2
- Lestari N.W, A. Budiharjo, A. Pangastuti, 2014. Heterotrophic aerobic bacteria from the digestive tract of eel (*Anguilla bicolor bicolor*) and its potential as probiotics. Bioteknologi 13 (1): 9-17.
- Milliana A dan W. Safitri. 2015. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) Sebagai Penghasil Senyawa Antifungi Terhadap *Candida albicans*. El-Hayah Vol. 5. No.2.
- Mustapha S., E.M. Mustapha, C. Nozha, 2013. *Vibrio Alginolyticus*: An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases. International Journal of Science and Technology Volume 2 No. 4.
- Ngangi J, J.Pealeu, J. Warouw, L. Mandey. 2013. Isolation and Activity of Cellulolytic Bacteria Isolated from Hindgut of *Odontotermes* spa Subteran Termite On Wasian (*Elmerrelia celebica* L.) an Endemic Wood to North Sulawesi. International Journal of Science and Engineering Investigations. Vol. 2. Issue 22.
- Nursyirwani, W. Asmara, A.E.T Wahyuni, Triyanto. 2015. Histopatologi Ikan Kerapu Macan yang Diimbuhi Bakteri Asam Laktat dan Diuji Tantang *Vibrio alginolyticus*. Jurnal Veteriner. Vol. 16 No. 4 : 505 - 512. DOI:10.19087/ jveteriner. 2015.16.4.505.
- Pine L, A Howell, SJ Watson. 1960. Studies of the Morphological, Physiological, and Biochemical Characters of *Actinomyces bovis*. J Gen Microbiol. 23: 403–424. doi:10.1099/00221287-23-3-403.
- Pramudji, 2000. Dampak Perilaku Manusia Pada Ekosistem Hutan Mangrove Di Indonesia. Oseana Volume XXV, Nomor 2.
- Rezaei M., A. Akya, A. Elahi, K. Ghadiri, and S. Jafari, 2016. The clonal relationship among the *Citrobacter freundii* isolated from the main hospital in Kermanshah, west of Iran. Iran Journal Microbiol 8(3): 175–180.
- Sari S.P dan D.Rosalina, 2014. Tingkat Keberhasilan Penanaman Mangrove pada Lahan Pasca Penambangan Timah di Kabupaten Bangka Selatan. Maspari Journal. Vol.6. No. 2.
- Sangur, Kristin, 2013. Identifikasi Bakteri Selulolitik Indigen Dari Batang Lapuk Mangrove (*Sonneratia* Spp.) Di Pantai Waai Pulau Ambon Dan Pengujian Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Yang Dihasilkan Sebagai Materi Handout Mikrobiologi. Tesis (Pasca Sarjana). Universitas Negeri Malang
- Sulistiyani N, A.N Akbar. 2014. Aktivitas Isolat Actinomycetes dari Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai Penghasil Antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Ilmu

Kefarmasian Indo-nesia. Vol. 12.  
No. 1. 1-9  
Susanto. 2015. Tin-Bottom Areas in  
Bangka Belitung with Spot\_6

Satellite Data. National Seminar  
on Science and Technology 2015.  
Faculty of Engineering, Muham-  
madiyah University, Jakarta.