

ARTIKEL

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN POTENSI ENZIMATIS BAKTERI ASAL TANAH SAMPAH DI TEMPAT PEMBUANGAN AKHIR SEBAGAI KANDIDAT AGEN BIODEKOMPOSER

[Isolation, Characterization, and Enzymatic Potential of Bacteria from Waste in Landfill as Candidate Biodecomposer Agents]

Monica Kharisma Swandi^{1*}, Ropalia², Anggraeni¹

¹Prodi Biologi, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Bangka Belitung, Kampus Terpadu Balunijuk, Kab. Bangka, Prov. Kep. Bangka Belitung, 33172.

²Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Perikanan dan Kelautan, Universitas Bangka Belitung, Kampus Terpadu Balunijuk, Kab. Bangka, Prov. Kep. Bangka Belitung, 33172.

ABSTRAK

Bakteri sebagai organisme dekomposer memiliki kemampuan mendegradasi bahan-bahan organik untuk keberlangsungan siklus biogeokimia di alam. Berbagai bakteri pendegradasi telah dilaporkan berhasil diisolasi dari berbagai sampel, namun masih terbatas pada potensi enzimatis tertentu sehingga proses dekomposisi tidak optimal. Oleh karena itu, pentingnya penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengisolasi, mengkarakterisasi dan mengidentifikasi isolat bakteri penghasil enzim ekstraseluler (selulase, amilase, protease, lipase), dan menganalisis potensi isolat bakteri enzimatis sebagai agen biodekomposer. Tahapan penelitian dimulai dari pengambilan sampel dan isolasi bakteri. Isolat yang diperoleh diuji potensinya sebagai biodekomposer melalui uji aktivitas enzim secara kualitatif, meliputi selulase, amilase, protease, dan lipase. Selanjutnya dilakukan penapisan isolat berdasarkan uji hemolisis. Isolat terpilih kemudian dilakukan penentuan kurva tumbuh, dikarakterisasi dan diidentifikasi. Sebanyak 22 isolat bakteri berhasil diisolasi dari TPA Parit Enam Kota Pangkalpinang. Hasil penapisan menunjukkan sebanyak 8 isolat memiliki kemampuan keempat aktivitas enzim sekaligus, dan dari 8 isolat hanya 4 isolat yang tergolong tidak patogen yaitu isolat BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7. Keempat isolat tersebut dapat diproduksi pada fase perbanyakan dalam rentang jam ke-4 hingga ke-18. Berdasarkan karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel dan biokimia, isolat BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7 dapat diduga sebagai *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, dan *Bacillus*.

Kata Kunci: Amilolitik; Biodekomposer; Enzim Ekstraseluler; Lipolitik; Proteolitik; Selulolitik.

ABSTRACT

Bacteria as decomposer organisms have the ability to degrade organic materials for the continuity of biogeochemical cycles in nature. Various degrading bacteria have been reported to be successfully isolated from various samples, but are still limited to certain enzymatic potentials so that the decomposition process is not optimal. Therefore, the importance of this study was carried out with the aim of isolating, characterizing and identifying isolates of extracellular enzymes-producing bacteria (cellulase, amylase, protease, lipase), and analyzing the potential of enzymatic bacterial isolates as biodecomposer agents. The research stages start from sampling and isolating bacteria. The isolates obtained were tested for their potential as biodecomposers through qualitative enzyme activity tests, including cellulase, amylase, protease and lipase. Next, isolates were screened based on the hemolysis test. The selected isolates were then subjected to growth curve determination, characterized and identified. A total of 22 bacterial isolates were successfully isolated from the Parit Enam landfill, Pangkalpinang City. The screening results showed that 8 isolates had the ability to carry out all four enzyme activities at once, and of the 8 isolates only 4 isolates were classified as non-pathogenic, namely isolates BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, and BS 3.7. The four isolates can be produced in the exponential phase in the range of the 4th and 18th hours. Based on the characterization of colony morphology, cell morphology and biochemistry, isolates BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3 and BS 3.7 could be suspected to be Pseudomonas, Streptococcus, Lactobacillus and Bacillus.

Keywords: Amylolytic; Biodecomposer; Cellulolytic; Extracellular Enzyme; Lipolytic; Proteolytic.

PENDAHULUAN

Pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh sampah menjadi masalah serius yang saat ini dihadapi oleh kota-kota besar di Indonesia. Seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk dan semakin bertambahnya volume sampah yang dihasilkan, menjadi tidak seimbang dengan pengelolannya. Pengelolaan sampah suatu kota menghadapi banyak tekanan akibat volume sampah yang sudah melebihi daya dukung tempat pembuangan sampah. Berdasarkan Undang-undang nomor 18 tahun 2008 tentang Pengelolaan Sampah, menyatakan bahwa pertambahan penduduk dan perubahan pola konsumsi masyarakat menimbulkan bertambahnya volume, jenis, dan karakteristik sampah yang semakin beragam.

Kota Pangkalpinang merupakan ibukota Provinsi Kepulauan Bangka Belitung yang memiliki luas 118,4 km² dengan 7 kecamatan. Saat ini Kota Pangkalpinang sedang menghadapi permasalahan sampah yang semakin meningkat. Jumlah sampah yang dihasilkan oleh penduduk Pangkalpinang mencapai 130ton dalam sehari yang akan dibuang ke Tempat Pembuangan Akhir (TPA). Namun TPA yang berada di kawasan Parit Enam dengan luas 4,6 hektar sudah over kapasitas, sehingga sanitary landfill di TPA tersebut juga tidak berjalan optimal (Kurniati, 2020).

Tingginya jumlah sampah dan menurunnya daya dukung TPA memerlukan suatu konsep pengelolaan sampah lebih baik di Kota Pangkalpinang. Salah satu alternatif dalam mengatasi permasalahan sampah tersebut yaitu dengan bioremediasi. Bioremediasi merupakan salah satu metode pemulihan lingkungan tercemar yang dilakukan secara biologis dengan melibatkan mikroba atau enzim yang dihasilkan oleh mikroba (Hidayat dan Siregar 2017). Salah satu tahapan dari teknik bioremediasi adalah komposting dengan menggunakan biodekomposer. Melalui proses dekomposisi, mikroba mampu mengurai sampah dan memanfaatkannya sebagai subur karbon dan energi (Alvarez dan Illman 2006).

Sampah banyak mengandung senyawa organik seperti karbohidrat, protein, lemak, mineral, dan sebagainya, yang dapat dengan mudah terdekomposisi oleh mikroba perombak bahan organik. Mikroba perombak bahan organik pada umumnya memiliki kemampuan enzim ekstraseluler seperti amilase, selulase, protease, dan lipase. Keberadaan enzim tersebut akan mempercepat terjadinya reaksi degradasi, karena enzim berfungsi sebagai katalisator (Hidayat dan Siregar 2017).

Jumlah dan jenis mikroba juga menentukan keberhasilan dalam proses degradasi. Proses degradasi bahan organik di alam tidak dilakukan oleh satu mikroba monokultur tetapi dilakukan oleh konsorsium mikroba. Kombinasi berbagai jenis mikroba juga dilaporkan mampu mempercepat permulaan proses dekomposisi, meningkatkan laju humifikasi, memperpendek waktu pematangan kompos, dan meningkatkan detoksifikasi material awal (Echeverria *et al.*, 2011). Beberapa jenis mikroba yang umum ditemukan dalam tumpukan sampah yaitu bakteri (*Pseudomonas*, *Bacillus*,

Achromobacter, Flavobacterium, Streptomyces, Escherichia, dan Clostridium) dan kapang (Alternaria, Cladosporium, Aspergillus, Trichoderma, Mucor, Penicillium, dan Humicola) (Saraswati *et al.*, 2006).

Isolasi dan seleksi bakteri dengan kemampuan degradasi komponen-komponen penyusun sampah merupakan tahapan awal untuk mendapatkan isolat bakteri agen dekomposer unggul. Berbagai isolat bakteri pendegradasi telah dilaporkan berhasil diisolasi dari berbagai sampel, antara lain limbah cair industri sawit (Swandi *et al.*, 2015), tanah hutan (Swandi, 2020), kotoran ternak dan sampah dapur (Satwika *et al.*, 2021), tanah gambut (Batubara *et al.*, 2021), dan sampah organik (Wijaya *et al.*, 2021). Namun, penelitian yang telah dilaporkan masih terbatas pada potensi enzimatis tertentu seperti selulolitik sehingga hanya dapat digunakan untuk dekomposisi serasah daun, sisa hasil pertanian dan kertas bekas. Oleh karena itu, pentingnya penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi dan mengidentifikasi isolat bakteri penghasil enzim ekstraseluler (selulase, amilase, protease, lipase), dan menganalisis potensi isolat bakteri enzimatis sebagai agen biodekomposer.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 19-0428-1998 tentang petunjuk pengambilan contoh padatan dan pengambilan contoh tanah untuk analisis mikroba. Sampel sebanyak 100 gr diambil secara *purposive sampling* dari 5 titik pada lahan timbunan sampah yang sudah menunjukkan aktivitas degradasi dan menyatu dengan tanah.

Isolasi Bakteri

Sampel ditimbang sebanyak 10 gr dan dilarutkan dalam 90 ml akuades steril. Selanjutnya dishaker selama 1 jam pada kecepatan 150 rpm. Suspensi yang dihasilkan kemudian diencerkan dengan metode pengenceran serial hingga 10^{-7} dalam larutan garam fisiologis NaCl 0,85%. Hasil 3 pengenceran terakhir sebanyak 100 μ l diinokulasikan ke dalam medium nutrient agar (NA) secara duplo menggunakan metode spread plate dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya koloni bakteri yang menunjukkan karakter morfologi yang berbeda dimurnikan dengan metode gores kuadran (Satwika *et al.*, 2021).

Uji Potensi Biodekomposer

Potensi biodekomposer isolat dilakukan berdasarkan kemampuan enzim ekstraseluler yang dihasilkan bakteri yaitu enzim selulase, amilase, protease dan lipase dengan mengamati aktivitas enzim secara kualitatif.

Uji Aktivitas Enzim secara Kualitatif

Uji aktivitas enzim ekstraseluler secara kualitatif diamati dari terbentuknya zona bening disekeliling koloni bakteri setelah ditumbuhkan pada media selektif untuk bakteri selulolitik (Batubara *et al.*, 2021), bakteri amilolitik (Swandi, 2020), bakteri proteolitik (Hyseni *et al.*, 2020), dan bakteri lipolitik (Swandi *et al.*, 2015). Selanjutnya dihitung aktivitas enzim bakteri melalui nilai indeks selulolitik, amilolitik, proteolitik dan lipolitik yang diperoleh dari rasio antara diameter zona bening dengan diameter koloni (Satwika *et al.*, 2021).

Uji Hemolisis

Sebanyak satu ose biakan bakteri diinokulasikan ke dalam media agar darah dengan teknik goresan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk disekeliling koloni menandakan bahwa bakteri bersifat patogen (Difco, 2009).

Penentuan Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sebanyak 1 ose biakan bakteri diinokulasi ke dalam 100 ml media NB dan diinkubasi dalam shaker incubator dengan kecepatan 150 rpm. Pengamatan dilakukan terhadap nilai optical density (OD) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm setiap 2 jam pengamatan hingga jam ke 36 (Sharah *et al.*, 2015).

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri

Karakterisasi bakteri dilihat berdasarkan morfologi koloni, morfologi sel dan biokimia bakteri. Morfologi koloni meliputi: bentuk koloni (*shape colony*), bentuk tepi (*margin*), warna (*colour*) dan bentuk ketinggian (*elevation*). Morfologi sel meliputi: pewarnaan Gram's, bentuk sel, dan pewarnaan endospora. Biokimia meliputi: uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji MR-VP (*Methyl Red* dan *Voges-Proskauer*), dan uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*).

Analisis Data

Data hasil karakterisasi bakteri secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia akan diidentifikasi menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Data hasil uji kualitatif enzimatik bakteri dinyatakan sebagai rerata indeks $\pm$ SD. Data kurva pertumbuhan bakteri disajikan dalam bentuk grafik dan hasil uji hemolisis dianalisis secara deskriptif.

HASIL

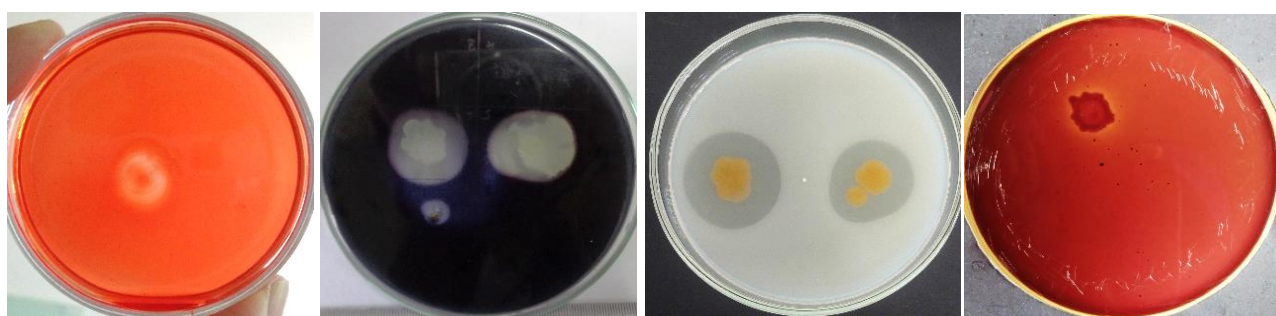
Hasil isolasi didapatkan sebanyak 22 isolat bakteri setelah ditumbuhkan pada media NA selama 24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya 22 isolat tersebut diseleksi dalam pengujian potensi isolat sebagai biodekomposer. Pengujian dilakukan berdasarkan aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkan secara kualitatif. Berdasarkan hasil uji 22 isolat secara kualitatif didapatkan 18 isolat yang menunjukkan aktivitas selulolitik dengan nilai indeks berkisar 0,29-2,72; 20 isolat amilolitik dengan nilai indeks berkisar 0,08-3,22; 14 isolat proteolitik dengan nilai indeks berkisar 0,54-3,09; dan 10 isolat lipolitik dengan nilai indeks berkisar 0,50-1,53 (Tabel 1). Adanya aktivitas enzim ekstraseluler diamati berdasarkan nilai indeks degradatif bakteri yang ditandai oleh zona bening yang terbentuk disekeliling koloni bakteri setelah ditumbuhkan pada media selektif (Gambar 1).

Tabel 1. Aktivitas enzim bakteri berdasarkan nilai indeks selulolitik, amilolitik, proteolitik dan lipolitik (*Bacterial enzyme activity is based on cellulolytic, amylolytic, proteolytic and lipolytic index values*)

Kode Isolat (Isolate Code)	Indeks Selulolitik (Cellulolytic index value)	Indeks Amilolitik (Amylolytic index value)	Indeks Proteolitik (Proteolytic index value)	Indeks Lipolitik (Lipolytic index value)
BS 1.1	0,33±0,02	0,08±0,01	0,98±0,11	-
BS 1.2	1,26±0,04	2,16±0,05	1,58±0,15	1,09±0,26
BS 1.3	0,95±0,05	0,40±0,06	-	-
BS 1.4	-	0,19±0,00	0,91±0,01	0,80±0,08
BS 1.5	-	0,99±0,06	-	-
BS 1.6	1,17±0,05	-	1,06±0,07	-
BS 1.7	1,96±0,17	1,23±0,16	2,32±0,17	1,14±0,03
BS 2.1	1,57±0,15	1,89±0,20	2,80±0,12	1,37±0,20
BS 2.2	2,00±0,02	2,58±0,17	2,24±0,14	0,93±0,01
BS 2.3	0,29±0,13	0,14±0,09	1,62±0,23	-
BS 2.4	0,66±0,14	-	-	-
BS 2.5	1,21±0,21	2,07±0,19	2,82±0,30	0,91±0,04
BS 2.6	-	1,00±0,08	-	-
BS 3.1	0,60±0,13	0,61±0,20	-	-
BS 3.2	1,10±0,21	0,66±0,20	-	-
BS 3.3	1,22±0,28	2,69±0,05	2,82±0,13	1,40±0,11
BS 3.4	1,22±0,28	0,41±0,03	2,56±0,05	-
BS 3.5	-	0,85±0,03	-	0,50±0,04
BS 3.6	1,90±0,08	0,70±0,11	0,54±0,07	-
BS 3.7	1,34±0,27	3,22±0,15	2,30±0,08	1,50±0,06
BS 3.8	2,72±0,33	2,12±0,12	3,09±0,22	1,53±0,11
BS 3.9	0,57±0,27	1,04±0,09	-	-

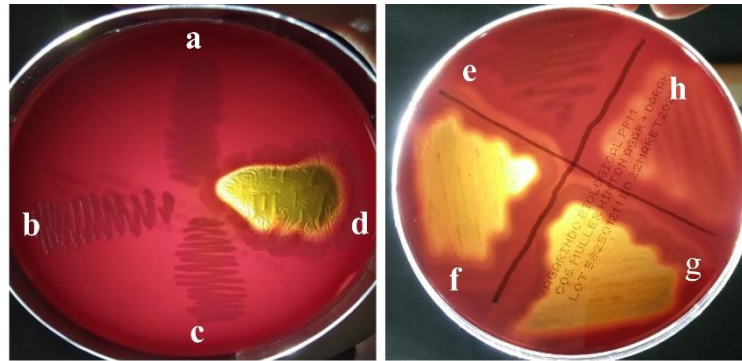
Keterangan (notes):

 : isolat yang memiliki kemampuan enzim selulase, amilase, protease dan lipase. (*isolates that have cellulase, amylase, protease and lipase enzyme extracellular capabilities*).



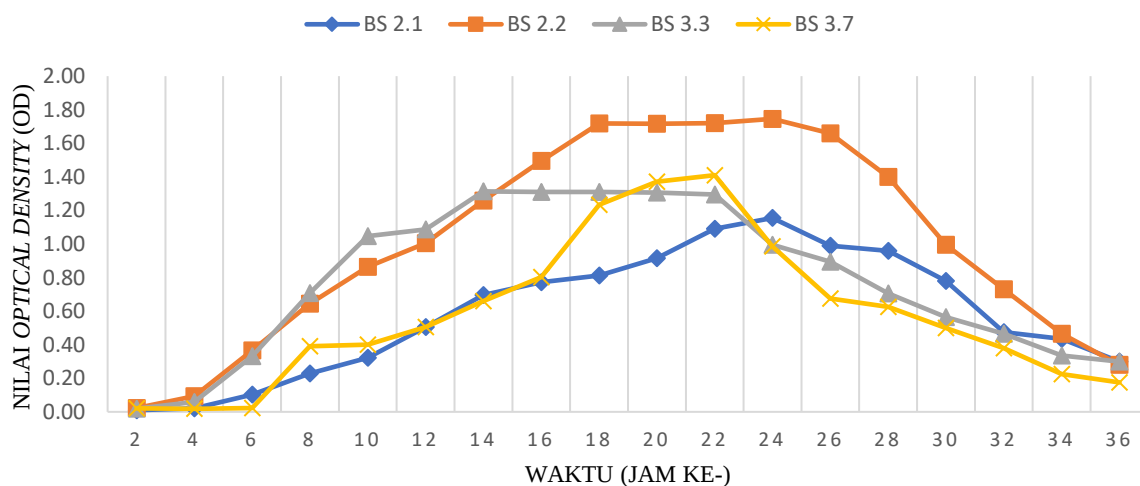
Gambar 1. Aktivitas enzim ekstraseluler bakteri secara kualitatif; a. selulolitik, b. amilolitik, c. proteolitik, dan d. lipolitik. (*Qualitative activity of bacterial extracellular enzymes; a. cellulolytic, b. amylolytic, c. proteolytic, and d. lipolytics*).

Dari 22 isolat yang didapatkan, dipilih 8 isolat untuk diuji lebih lanjut dengan kriteria memiliki kemampuan keempat aktivitas enzim sekaligus yaitu isolat BS 1.2, BS 1.7, BS 2.1, BS 2.2, BS 2.5, BS 3.3, BS 3.7, dan BS 3.8. Delapan isolat tersebut selanjutnya dilakukan uji hemolisis pada media agar darah. Adanya aktivitas hemolisis merupakan tanda virulensi atau patogenisitas suatu bakteri. Hal ini dapat diamati dari terbentuknya zona bening keemasan pada media. Dari delapan isolat yang diuji, terdapat empat isolat yang membentuk zona bening dan empat isolat yang tidak membentuk zona bening (Gambar 2). Sehingga isolat terpilih untuk dilakukan uji selanjutnya adalah isolat yang tidak membentuk zona bening yaitu isolat BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7.



Gambar 2. Uji hemolisis isolat bakteri pada media agar darah: a. BS 2.1, b. BS 2.2, c. BS 3.3, d. BS 3.8, e. BS 3.7, f. BS 1.2, g. BS 1.7, dan h. BS 2.5. (*Hemolysis test of bacterial isolates on blood agar media: a. BS 2.1, b. BS 2.2, c. BS 3.3, d. BS 3.8, e. BS 3.7, f. BS 1.2, g. BS 1.7, and h. BS 2.5).*

Empat isolat yang telah lolos seleksi berdasarkan uji hemolisis, selanjutnya diukur kurva pertumbuhan isolat untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Gambar 3, fase perbanyakan isolat BS 2.1 dimulai pada jam ke-6 hingga jam ke-16, isolat BS 2.2 dimulai pada jam ke-4 hingga jam ke-18, isolat BS 3.3 dimulai pada jam ke-4 hingga jam ke-10, dan isolat BS 3.7 dimulai pada jam ke-6 hingga jam ke-18.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan isolat BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7. (*Growth curve of isolates BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, and BS 3.7*)

Karakterisasi bakteri dilakukan berdasarkan morfologi koloni, morfologi sel dan uji biokimia. Tabel 2 menunjukkan bahwa isolat BS 2.1 dapat dikategorikan ke dalam genus *Pseudomonas*, isolat BS 2.2 merupakan genus *Streptococcus*, isolat BS 3.3 merupakan genus *Lactobacillus*, dan isolat BS 3.7 merupakan genus *Bacillus*. Hasil identifikasi ini berdasarkan hasil karakterisasi dan dicocokkan berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Namun untuk mengetahui jenis isolat, maka masih memerlukan identifikasi ditingkat molekuler.

Tabel 2. Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7 (*Characterization and Identification of Bacterial Isolates BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, and BS 3.7*).

Karakter Isolat (<i>Isolate Character</i>)	Kode Isolat (<i>Isolate Code</i>)			
	BS 2.1	BS 2.2	BS 3.3	BS 3.7
Morfologi Koloni (<i>Colony Morphology</i>)				
Bentuk (<i>Shape</i>)	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Irregular</i>
Tepian (<i>Edge</i>)	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Undulate</i>
Elevasi (<i>Elevation</i>)	<i>Raised</i>	<i>Raised</i>	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>
Warna (<i>Color</i>)	Putih keabuan (<i>Greyish white</i>)	Putih susu (<i>Milky white</i>)	Putih susu	Putih kekuningan (<i>Yellowish white</i>)
Morfologi Sel (<i>Cell Morphology</i>)				
Gram	Negatif (<i>Negative</i>)	Positif (<i>Positive</i>)	Positif	Positif
Bentuk	Basil (<i>Bacil</i>)	Basil	Kokus (<i>Coccus</i>)	Basil
Endospora (<i>Endospore</i>)	Tidak ada (<i>None</i>)	Tidak ada	Tidak ada	Ada (<i>Present</i>)
Motilitas	+	-	-	+
Biokimia (<i>Biochemical test</i>)				
Indole	- -/-	+ -/+	- -/-	- +/-
MR/VP	+	-	-	+
Katalase (<i>Catalase</i>)	+	+	-	+
Oksidase	-	+	+	+
TSIA				
Identifikasi (<i>Identification</i>)				
Dugaan Genus (<i>Genus prediction</i>)	<i>Pseudomonas</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bacillus</i>

PEMBAHASAN

Kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim ekstraseluler secara kualitatif dapat diketahui dari pertumbuhan bakteri pada media selektif yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk dan penghitungan nilai indeks degradasi >1 (Satwika *et al.*, 2021). Bakteri dengan aktivitas selulolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media yang mengandung *carboxy methyl cellulose* (CMC). Bakteri mengekskresikan enzim selulase untuk mendekomposisi selulosa yang terkandung dalam medium. Penambahan larutan congo-red 0,1% (w/v) mewarnai seluruh media menjadi merah, namun akan menjadi warna kuning hingga bening ketika terdeteksi adanya enzim selulase. Hal inilah yang menjadi indikator penunjuk koloni bakteri selulolitik (Gambar 1a). Szydlowski *et al.* (2015), melaporkan terjadinya interaksi antara larutan *congo-red* 0,1% dengan enzim selulase jenis endo-1,4- β -D-glukanase (EG; EC 3.2.1.4) mengakibatkan terbentuknya zona bening disekeliling bakteri selulolitik. Alkahfi *et al.* (2021), menambahkan semakin besar enzim selulase yang diekskresikan semakin besar pula zona bening yang terbentuk.

Aktivitas amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media yang mengandung pati 1% setelah ditetesi oleh larutan iodin. Larutan iodin digunakan sebagai indikator untuk menguji ada atau tidaknya kandungan pati setelah ditetesi pada media. Jika media mengandung pati maka akan terjadi reaksi kompleks antara pati dengan larutan iodin sehingga menyebabkan perubahan warna media menjadi ungu atau biru kehitaman. Bakteri yang memiliki aktivitas enzim ekstraseluler amilase dapat menghidrolisis pati yang terkandung dalam medium, sehingga pati yang telah terdegradasi tidak dapat berikatan dengan iodin dan menghasilkan zona bening di sekeliling koloni bakteri (Gambar 1b). Swandi (2020) menyatakan bahwa semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin besar kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim ekstraseluler amilase dalam menghidrolisis pati. Pati dihidrolisis oleh bakteri menjadi monomer-monomer kecil yaitu maltosa ataupun glukosa. Monomer tersebut terbentuk akibat pemutusan ikatan α -1,4 glikosida pada rantai polisakarida oleh enzim amilase.

Aktivitas proteolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media yang mengandung susu skim (Gambar 1c). Zona bening terbentuk karena kandungan protein pada susu skim dihidrolisis oleh enzim protease bakteri. Kasprijo *et al.* (2023), menyatakan bakteri proteolitik menghasilkan enzim ekstraseluler protease yang berfungsi menghidrolisis kasein yang terkandung dalam susu skim. Herlina *et al.* (2019), menambahkan protease mengkatalisis degradasi kasein dengan cara memutuskan ikatan peptida pada molekul protein menjadi asam amino atau peptida yang lebih sederhana.

Aktivitas lipolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media yang mengandung margarin (Gambar 1d). Bakteri lipolitik memanfaatkan lipid pada margarin dengan mengekskresikan enzim ekstraseluler lipase. Pada media juga ditambahkan *neutral red* sebagai indikator terjadinya penurunan pH pada media akibat terbentuknya asam lemak dari proses hidrolisis lipid oleh bakteri lipolitik. Swandi *et al.* (2015), menyatakan adanya keberadaan asam lemak, maka terjadi penyerapan warna indikator disekeliling koloni bakteri, sehingga terbentuknya zona bening kekuningan dan mengakibatkan koloni bakteri berwarna lebih pekat dari warna medium.

Delapan isolat bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik, amilolitik, proteolitik dan lipolitik membuktikan bahwa bakteri tersebut berpotensi sebagai biodekomposer, namun untuk mengaplikasikannya, perlu diketahui sifat patogenisitas bakteri dengan uji hemolisis pada media agar darah. Dari delapan isolat, hanya empat isolat yang tidak patogen. Menurut Yet *et al.* (2009), terdapat tiga tipe sifat hemolisis, yaitu alpha, beta, dan gamma. Alpha hemolisis terjadi ketika sel darah merah mengalami lisis dengan reduksi hemoglobin dan menghasilkan lingkaran kehijauan di sekitar zona pertumbuhan bakteri. Beta hemolisis terjadi ketika sel darah merah mengalami lisis dan kerusakan sehingga menghasilkan zona bening di sekeliling koloni. Sedangkan gamma hemolisis terjadi ketika sel darah merah tidak mengalami lisis dan tidak ada perubahan medium di sekitar koloni. Sukmadewi *et al.* (2017) menambahkan salah satu kriteria penting bagi aplikasi bakteri adalah yang tidak bersifat patogen atau toksik bagi inangnya.

Kemampuan bakteri dalam mendekomposisi bahan organik dapat dipengaruhi dari faktor pertumbuhannya. Menurut Madigan *et al.* (2021), fase pertumbuhan bakteri terdiri dari fase adaptasi

(lag phase), fase perbanyakan (*exponential/log phase*), fase statis (*stationer phase*), dan fase kematian (*death phase*). Waktu yang menunjukkan sel bakteri berada pada fase perbanyakan merupakan waktu terbaik untuk mempelajari enzim. Wahyuningsih dan Zulaika (2018) menyatakan bahwa sel bakteri yang berada pada fase perbanyakan sedang dalam laju pertumbuhan yang optimal sehingga dapat digunakan untuk produksi inokulum bakteri.

KESIMPULAN

Didapatkan sebanyak empat isolat bakteri yaitu isolat BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7 yang berpotensi sebagai biodekomposer dengan karakteristik memiliki aktivitas enzim selulase, amilase, protease dan lipase berdasarkan uji kualitatif, serta tidak patogen. Keempat isolat tersebut dapat diproduksi pada fase perbanyakan dalam rentang jam ke-4 hingga ke-18. Berdasarkan karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel dan biokimia, isolat BS 2.1, BS 2.2, BS 3.3, dan BS 3.7 dapat diduga sebagai *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, dan *Bacillus*. Untuk mengetahui jenis dari isolat dibutuhkan identifikasi ditingkat molekuler, serta dibutuhkan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas enzim secara kuantitatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Bangka Belitung (UBB) atas pendanaan penelitian melalui Skema Penelitian Akselerasi Lektor pada tahun anggaran 2023 dengan kontrak penelitian pada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) UBB dengan Nomor: 326.M/UN50/L/PP/2023.

KONTRIBUSI PENULIS

MKS: mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel, analisis data, merevisi naskah akhir, analisis laboratorium; R: Membuat konsep penelitian, analisis laboratorium, merevisi naskah akhir; A: Membuat kosep penelitian, analisis laboratorium, merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Alkahfi, F., Adiartayasa, W., Wirawan, I.G.P. 2021. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Sampah Organik di TPA Suwung Denpasar. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 10(2), pp. 153-160.
- Alvarez, P.J.J., Illman, W.A. 2006. *Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Batubara, U. M., Mardalisa, M., Suparjo, S., Maritsa, H. U., Pujianto, E., Herlini, M. 2021. Isolation and characterization of cellulolytic bacteria diversity in peatland ecosystem and their cellulolytic activities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 934(1), p. 012028.
- Difco. 2009. *Manual Microbiological Culture Media 2nd*, Maryland: Mj. Zimbro, D.A. Powder, S.M. Miller, G.E. Wilson and J.A. Jonhson (Eds.). Becton, Dickinson and Company.
- Echeverria, M.C., Cardelli, R., Bedini, S., Agnolucci, M., Cristani, C., Saviozzi, A., Nuti, M. 2011. Composting wet olive husks with a starter based on oil-depleted husks enhances compost humification. *Compost Science and Utilization*, 19(3), pp. 182–188.
- Herlina, N., Mustopa, A.Z., Surachma, R.S., Triratna, L., Kartina, G., Alfisyahrin, W.N. 2019. Aktivitas antibakteri dan antioksidan peptida susu kambing hasil hidrolisis dengan protease *Lactobacillus plantarum* S31. *Jurnal Biologi Indonesia*, 15(1), pp. 23-31.
- Hidayat, A., Siregar, C.A. 2017. *Telaah Mendalam tentang Bioremediasi: Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air*. IPB Press: Bogor.
- Hyseni, B., Ferati, F., Rexhepi, F., Morina, R., Baliu, Y., Hyseni, S., et al. 2020. Isolation and characterization of microorganisms for protease production from soil samples from Kosovo and testing the enzymes in food industry application. *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 8(2), pp. 687-693.
- Kasprajo, Ryandini, D., Listiowati, E., Anbari, I., Murhafid, M., Marnani, S., Palupi, M., Fitriadi, R.

2023. Index of Proteolytic Bacterial Activity in Rice-Fish Farming System. *Journal of Advanced Zoology*, 44(2), pp. 161-173.
- Kurniati, I. 2020. *Volume Sampah di TPA Parit Enam Per Hari Mencapai 130 Ton*, Available at: <https://bangka.tribunnews.com/2020/01/27/volume-sampah-di-tpa-parit-enam-per-hari-mencapai-130-ton>
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M., Stahl, D.I. 2021. *Brock biology of microorganisms*, 16th ed, New Jersey: Pearson Education, Inc.
- Saraswati, R. Santosa, E., Yuniarti, E. 2006. *Organisme Perombak Bahan Organik. Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*, Balai Besar Litbang Sumber Daya Lahan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, pp. 211-230.
- Satwika, T.D., Yulianti, D.M., dan Hikam, A.R. 2021. Karakteristik dan potensi enzimatis bakteri asal tanah sampah dapur dan kotoran ternak sebagai kandidat agen biodegradasi sampah organik. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1), pp. 11-18.
- Sharah, A., Karnila, R., Desmelati, D. 2015. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat yang diisolasi dari ikan peda kembung (*Rastrelliger* sp.). *JOM*, pp. 1-8.
- Sukmadewi, D.K.T., Anas, I., Widyastuti, R., Citraresmini, A. 2017. Uji Fitopatogenisitas, hemolisis serta kemampuan mikrob dalam melarutkan fosfat dan kalium. *J. Il. Tan. Lingk*, 19(2), pp. 68-73.
- Swandi, M.K. 2020. Isolation, Characterization and Activity Test of Soil Origin Bacteria Amilage. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 11(2), pp. 181-189.
- Swandi, M.K., Periadnadi, Nurmiati. 2015. Isolasi bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit. *J Bio UA*, 4(1), pp. 71-76.
- Szydlowski, L., Boschetti, C., Crisp, A., Barbosa, E.G.G., Tunnacliffe, A. 2015. Multiple horizontally acquired genes from fungal and prokaryotic donors encode cellulolytic enzymes in the bdelloid rotifer *Adineta ricciae*. *Gene*, 566, pp. 125-137.
- Wahyuningsih, N., Zulaika, E. 2019. Perbandingan pertumbuhan bakteri selulolitik pada media nutrient broth dan carboxy methyl cellulose. *Jurnal sains dan Seni ITS*, 7(2), pp. 36-38.
- Wijaya, M.D.P., Adiartayasa, W., dan Wijaya, I.N. 2021. Isolasi dan uji degradasi bakteri selulolitik dari sampah organik di TPST-3R Kertalangu dan TPST-3R Nangun Resik terhadap bunga jepun bali. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 10(4), pp. 526-533.
- Yet, T.E., Pinsky, B.A., Banaci, N., Baron, E.J. 2009. Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Tests. *Plos One*, 4(7), pp. 1-8.