

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI KITINOLITIK PADA AIR PAYAU DI SULAWESI TENGGARA

Sapto prasetyo<sup>1</sup> · Firdayanti<sup>2</sup> · Angriani Fusvita<sup>3</sup> · Saratika aisa<sup>4\*</sup> ·  
Neng Wulan Dwi ningsi<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup> D-III Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada Kendari,  
Sulawesi Tenggara, Indonesia  
e-Mail [saratikaaisa@gmail.com](mailto:saratikaaisa@gmail.com)  
No Tlp WA : 082260543364

## Abstract

*Chitinolytic bacteria are a group of bacteria capable of producing chitinase enzymes to decompose chitin substances. This study aims to determine the results of "isolation and identification of chitinolytic bacteria in brackish water using chitin media." The type of research used was an experiment using a qualitative method with a simple random sampling technique. The suspension of brackish water into LB media was then isolated to NA media, then gram staining and inoculation into chitin media were carried out, followed by biochemical tests using the Vitek 2 compact. The results showed that in the brackish water sample, gram-negative bacteria were found in the form of bacilli, white, convex in the isolates of the first sample and gram-negative bacteria in the form of bacilli, white, convex in the isolates of the second sample. The results of identification and biochemical tests showed samples of brackish water examined by the Vitek 2 Compact method showed 94% of *Aeromonas salmonicida* bacteria.*

**Keywords:** Identification, Isolation, Chitinolytic, Chitin Media

## Abstrak

Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk menguraikan zat kitin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil "isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau menggunakan media *kitin*" jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen menggunakan metode kualitatif dengan teknik pengambilan sampel secara simple random sampling. Air payau disuspensi ke media LB kemudian diisolasi ke media NA, dan dilakukan pewarnaan gram dan inokulasi ke media *kitin*, selanjutnya dilanjutkan pemeriksaan uji biokimia menggunakan alat *vitek 2 compact*. Hasil penelitian menunjukkan pada sampel air payau ditemukan adanya bakteri gram negatif berbentuk basil, putih, cembung pada isolat sampel pertama dan bakteri gram negatif berbentuk basil, putih, cembung pada isolat sampel kedua. Hasil identifikasi dan uji biokimia menunjukkan sampel air payau pemeriksaan metode Vitek 2 Compact menunjukkan 94% bakteri *Aeromonas salmonicida*.

**Kata Kunci :** Identifikasi, Isolasi, Kitinolitik, Media Kitin

## PENDAHULUAN

Bakteri kitinolitik merupakan kelompok bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk menguraikan zat kitin. Beberapa bakteri yang telah diketahui mampu menghasilkan enzim kitinase adalah *Bacillus papandayan*, *Bacillus thuringiensis*, *Vibrio harveyi*, dan *Aeromonas* sp. Upaya untuk mengisolasi bakteri kitinolitik dari berbagai sumber telah banyak dilakukan di Indonesia. Isolat bakteri kitinolitik dapat diperoleh dari sumber air panas, tanah dan lumpur. serta dari

sumber perairan lain seperti sungai dan laut (Paulsen et al., 2016; Pujiyanto et al., 2011).

Penelitian oleh Pukan (2014) melaporkan bahwa enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri kitinolitik berasal dari perairan berperan dalam proses daur ulang kitin, dengan adanya enzim kitinase ini maka proses penguraian kitin berlangsung berkesinambungan sehingga tidak terjadi akumulasi dari sisa-sisa cangkang udang, kepiting, cumi-cumi dan organisme perairan lainnya (Purkan et al., 2014). Bakteri kitinolitik dapat diperoleh dengan cara mengisolasi atau memindahkan bakteri tersebut dari lingkungannya di alam bebas ke dalam medium buatan (Fitri & Yasmin, 2011)

Kitin merupakan biopolimer terbesar kedua setelah selulosa, yang tersusun dari residu N-asetilglukosamin melalui ikatan (1-4) dengan persediaan yang sangat melimpah di alam. Kitin dapat ditemukan pada komponen tubuh udang, kepiting, serangga, kerang, cumi-cumi dan hewan arthropoda lainnya. Kitin juga ditemukan pada komponen dinding sel dari banyak jamur dan alga (Paulsen et al., 2016; Swiontek Brzezinska et al., 2014). Ukuran kitin yang relatif besar dan kelarutan kitin yang rendah serta sulit diserap oleh tubuh manusia, sehingga aplikasi kitin terbatas dan menyebabkan kitin menjadi sumber utama pencemaran senyawa organik. Pencemaran tersebut dapat diatasi dengan mengelola kitin menjadi suatu produk yang memiliki nilai ekonomis. Upaya pengolahan kitin dapat dilakukan secara enzimatik maupun kimiawi. Pengolahan kitin secara enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme kitinolitik (Yanti & Prasetya, 2021).

Air payau atau brackish water merupakan air yang mempunyai salinitas (kandungan garam) 0,5 - 17 ppt, pada musim kemarau panjang kualitas air tanah dangkal akan lebih menurun sebagai akibat intrusi air laut, sehingga air payau akan terasa lebih asin karena meningkatnya kadar garam (Astuti et al., 2007). Kondisi yang seperti ini sangat diperlukan adanya pengolahan air lebih lanjut agar air payau ini layak untuk digunakan. Pengolahan tersebut diharapkan dapat menurunkan kandungan garam dalam air dan parameter kualitas air yang lain (Rahmayanti & Hamidah, 2019).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau menggunakan media *kitin*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan penyajian data secara deskriptif. Populasi dari penelitian ini adalah air payau yang berada di kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan Teknik *Random Sampling*.

Air payau disuspensi ke media LB kemudian diisolasi ke media NA, dan dilakukan pewarnaan gram dan inokulasi ke media kitin, selanjutnya dilanjutkan pemeriksaan uji biokimia menggunakan alat vitek 2 compact.

## HASIL

Isolasi dan identifikasi sampel air panas pada media NA (*Nutrient Agar*), Chitin Agar dan pewarnaan gram, diamati secara mikroskopik dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan Biokimia menggunakan alat *Vitect 2 Compact*.

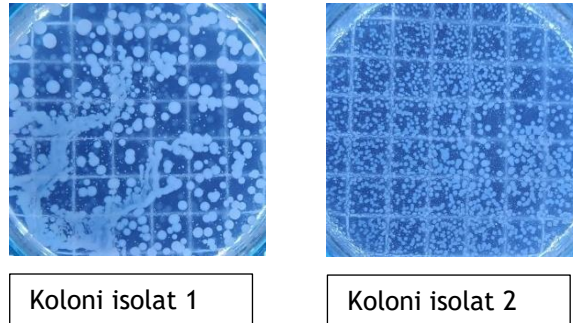
Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dan Pewarnaan Gram.

Kode sampel	Morfologi bakteri				
	Warna	Bentuk	Permukaan	Elevasi	Pewarnaan
Isolat 1	Putih	Basil	Halus	Cembung	Gram Negatif
Isolat 2	Putih	Basil	Halus	Cembung	Gram Negatif

Berdasarkan tabel 1 Hasil pemeriksaan secara makroskopik ditemukan morfologi bakteri pada isolat pertama warna koloni putih, bentuk basil, permukaan halus, elevasi cembung, suhu 23°C, pH 5, titik koordinat *Latitude* - 3.98411 S 3°59'2.805' *Longitude* 122.53342E 122°32'0.31884" selanjutnya dilanjutkan pewarnaan gram ditemukan bakteri gram negatif. Kemudian hasil pemeriksaan secara makroskopik ditemukan morfologi bakteri pada isolat kedua warna koloni putih, bentuk basil, permukaan halus, elevasi cembung, suhu 24°C, pH 5, titik koordinat *Latitude* -3.97951 S 3°58'46.23564" *Longitude* 122.53296 E 122°31'58.66248" selanjutnya dilanjutkan pewarnaan gram ditemukan bakteri gram negatif.

### 1. Gambar pengamatan koloni bakteri Pada Media NA

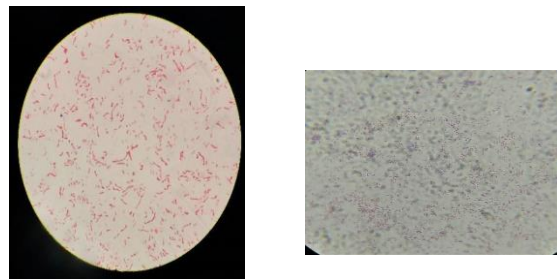
Hasil isolasi sampel air payau pada Media NA secara Makroskopis dengan metode tuang, ditunjukkan pada gambar berikut :



**Gambar 1.** Hasil Isolasi Sampel Air Payau

### 2. Pengamatan Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram pada isolasi sampel air panas pada media NA secara mikroskopik, disajikan pada gambar berikut:



**Gambar 2.** a. basil gram negatif b. basil gram negatif

### 3. Uji Zona Bening



**Gambar 3.** Hasil Uji Zona Bening

Isolat yang memiliki kemampuan kitinolitik ditunjukkan dengan kemampuan untuk menghasilkan zona bening di sekitar koloni pada media kitin, karena hanya bakteri yang memproduksi kitinase yang dapat mengurai substrat kitin pada medium. Isolat pada

media kitin tidak tumbuh zona bening. Zona bening terbentuk karena proses pemecahan substrat kitin menjadi senyawa sederhana setelah disekresikannya kitinase oleh bakteri (Paulsen et al., 2016; Swiontek Brzezinska et al., 2014)

#### 4. Uji Biokimia

Hasil pemeriksaan uji Biokimia pada isolasi sampel air panas pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan alat *Vitek 2 Compact* dapat dilihat sebagai berikut:

**Tabel 2.** Hasil Uji Biokimia

No	Kode sampel	Hasil Restaning Gram	Hasil Identifikasi Mikroorganisme
1	Isolat 1 Sampel Air Payau (Basil Gram -)	Basil Gram Negatif	<i>Aeromonas salmonicida</i> (94%)
2	Isolat 2 Sampel Air Payau (Basil Gram -)	Basil Gram Negatif	Tidak teridentifikasi

Sumber: Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar, 2023

## DISKUSI

Hasil pemeriksaan pada Isolat pertama sampel air payau, pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis yang ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni dengan ciri-ciri yaitu koloni berbentuk basil, warna koloni putih, permukaan halus serta elevasi yang cembung. Dilanjutkan dengan pewarnaan gram, hasil yang didapatkan dari pewarnaan gram menunjukkan adanya bakteri gram negatif yang berbentuk *basil*. Selanjutnya dilakukan uji biokimia menggunakan alat *Vitek 2 Compact* ditemukan bakteri *Aeromonas salmonicida*.

*Aeromonas salmonicida* adalah agen infeksi tertua yang diketahui terkait dengan penyakit ikan dan merupakan bakteri patogen utama ikan, khususnya salmonid. Bakteri ini dapat ditemukan hampir di seluruh dunia baik di lingkungan laut dan air tawar dan telah dibagi menjadi beberapa sub-spesies (Austin et al., 2016; Menanteau-Ledouble et al., 2016).

Pemeriksaan pada Isolat kedua sampel air payau. pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis yang ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni dengan ciri-ciri yaitu koloni berbentuk basil, warna koloni putih, permukaan halus serta elevasi yang cembung. Dilanjutkan dengan pewarnaan gram. Hasil yang

didapatkan dari pewarnaan gram menunjukkan adanya bakteri gram negatif yang berbentuk *basil*. Selanjutnya dilakukan uji biokimia menggunakan alat *Vitek 2 Compact* ditemukan bakteri tidak teridentifikasi.

Menurut *Fitriana et al., 2017* hal itu dapat terjadi karena Kesalahan dalam identifikasi bakteri dengan penggunaan mesin otomatis *Vitek 2 Compact*, yang terjadi dalam pemilihan kartu (*ID Card*) (Fitri & Yasmin, 2011; Stoykov et al., 2015).

## KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik pada air payau di Sulawesi Tenggara menggunakan media *kitin*, ditemukan bakteri *Aeromonas salmonicida*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada kepala laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada kendari yang telah membantu dan memberi izin hingga penelitian ini selesai dan juga terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini berjalan lancar.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## REFERENSI

- Astuti, W., Jamali, A., & Amin, M. (2007). Desalinasi air payau menggunakan surfactant modified zeolite (SMZ). *Jurnal Zeolit Indonesia*, 6(1), 32-37.
- Austin, B., Austin, D. A., Austin, B., & Austin, D. A. (2016). Aeromonadaceae representative (*Aeromonas salmonicida*). *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*, 215-321.
- Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2), 20-25.
- Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Saleh, M., & El-Matbouli, M. (2016). *Aeromonas salmonicida*: updates on an old acquaintance. *Diseases of Aquatic Organisms*, 120(1), 49-68.

- Paulsen, S. S., Andersen, B., Gram, L., & Machado, H. (2016). Biological potential of chitinolytic marine bacteria. *Marine Drugs*, 14(12), 230.
- Pujiyanto, S., Ferniah, R. S., & Rahardian, R. (2011). Aktivitas bakteri kitinolitik akuatik isolat lokal terhadap perkembangan dan mortalitas larva nyamuk *Aedes Aegypti* L. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 19(2), 54-59.
- Purkan, P., Baktir, A., & Sumarsih, S. (2014). Eksplorasi Bakteri Kitinolitik dari Sampah Organik: Isolasi dan Karakterisasi Enzim Kitinase. *Molekul*, 9(2), 128-135.
- Rahmayanti, A., & Hamidah, L. N. (2019). Efisiensi removal bakteri pada filter air payau dengan media karbon aktif. *Journal of Research and Technology*, 5(1), 80-87.
- Stoykov, Y. M., Pavlov, A. I., & Krastanov, A. I. (2015). Chitinase biotechnology: production, purification, and application. *Engineering in Life Sciences*, 15(1), 30-38.
- Swiontek Brzezinska, M., Jankiewicz, U., Burkowska, A., & Walczak, M. (2014). Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. *Current Microbiology*, 68, 71-81.
- Yanti, N. A., & Prasetya, W. M. (2021). Characterization of the gene encoding chitinase enzyme from bacillus isolates insulated from some locations in Southeast Sulawesi. *Journal of Physics: Conference Series*, 1899(1), 12017.