

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI AMILOLITIK DARI SAMPEL AIR PANTAI PARIS TIGARAS

Vila Tria Putri¹, Rasyidah², Ulfayani Mayasari³

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

*Corresponding author: vilatria21@gmail.com

ABSTRACT

*Amylolytic bacteria have great genetic diversity with high enzymatic activity and have the expertise to break down starch into simpler materials and degrade organic substances in water. This study was aimed to determine the variety of types of amylolytic bacteria obtained and to see how the characterization of bacteria is isolated from the water of Paris Tigaras Beach. The isolation of amylolytic bacteria from the water of Paris Tigaras Beach was carried out using the spread plate method taken from the last dilution of 10^{-5} . Isolates ST3 03 and ST3 04 showed amylolytic activity by showing a clear zone of 11.8 mm in isolates ST3 03 and 8.2 mm in isolates ST3 04. The characterization of isolates ST3 03 and ST3 04 was observed including Gram-positive bacteria with rod-shaped cells, that could produce catalase enzymes, ferment three types of sugars, and move (motil). Referring to the observation results of the morphology of bacterial colonies and cells, and biochemical tests, the isolates of amylolytic bacteria ST3 03 and ST3 04 belonged to the genus *Bacillus*.*

Keywords: *Amylolytic bacteria, amylolytic activity, characterization*

ABSTRAK

Bakteri amilolitik memiliki keanekaragaman genetik yang besar dengan aktivitas enzimatik yang tinggi serta mempunyai keahlian untuk memecah amilum (pati) menjadi bahan yang lebih sederhana dan mendegradasi zat-zat organik pada perairan. Penelitian ini bertujuan dalam mengetahui apa saja ragam atau jenis bakteri amilolitik yang didapatkan dan melihat bagaimana karakterisasi bakteri yang diisolasi dari perairan Pantai Paris Tigaras. Isolasi bakteri amilolitik yang berasal dari perairan Pantai Paris Tigara dilakukan dengan menggunakan metode sebar yang diambil dari pengenceran terakhir 10^{-5} . Isolat ST3 03 dan ST3 04 menunjukkan aktivitas amilolitik dengan menunjukkan zona bening sebesar 11,8 mm pada isolat ST3 03 dan 8,2 mm pada isolat ST3 04 yang diamati termasuk bakteri Gram-positif dengan sel yang berbentuk batang, dapat memproduksi enzim katalase, mampu memfermentasikan tiga jenis gula, serta dapat melakukan pergerakan (motil). Dari hasil pengamatan morfologi koloni bakteri maupun sel, dan pengujian biokimia, isolat bakteri amilolitik ST3 03 dan ST3 04 termasuk ke dalam genus *Bacillus*.

Kata kunci: *Bakteri amilolitik, aktivitas amilolitik, karakterisasi*

PENDAHULUAN

Tigaras termasuk salah satu dari 16 desa yang terletak di Kecamatan Dolok Pardamean, Kabupaten Simalungun, 48 Km dari kota Pematang Siantar. Tigaras memiliki lebih banyak sumber daya alam di sektor pariwisata daripada desa lain karena Tigaras berada di tepi Danau Toba yang mana dikelilingi oleh perbukitan, hutan, dan perairan dari Danau Toba itu sendiri (Damanik dkk., 2020). Pantai Paris Tigaras adalah salah satu objek wisata di Kabupaten Simalungun, aliran pantai ini berasal dari perairan Danau Toba yang diketahui memiliki berbagai macam kandungan mikroorganisme di dalam perairannya (Malau dan Purba, 2020). Diperkirakan pada perairan mengandung sebanyak $3,6 \times 10^{29}$ jumlah total sel bakteri, khususnya bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase (Purnawan dkk., 2015).

Enzim termasuk ke dalam produk yang dihasilkan oleh makhluk hidup dalam bentuk metabolit sekunder yang memiliki fungsi sebagai katalis untuk mempercepat berlangsungnya suatu reaksi biokimia di dalam tubuh makhluk hidup. Kapabilitas enzim yang khas ketika dilakukan isolasi dalam melakukan transformasi kimianya membuat penggunaan enzim dalam berbagai skala industri, khususnya yang berasal dari mikroorganisme meningkat secara pesat (Susilawati dkk., 2015).

Enzim yang bersumber dari mikroorganisme seperti enzim amilase saat ini sangat banyak disukai khususnya dalam skala industri dikarenakan mempunyai kelebihan dibandingkan yang berasal dari tumbuhan ataupun hewan. Keuntungan dari penggunaan enzim amilase yang dihasilkan oleh mikroorganisme memiliki kinerja yang lebih tinggi dan efisien, kondisi produksi yang tidak terikat dengan musim, pengeluaran produksi yang cenderung rendah, dan dapat ditemukan dari banyak tempat (Sundari dkk., 2019).

Menurut Kresnawaty dkk. (2018), amilase termasuk enzim dengan salah satu permintaan pasar terbanyak pada berbagai industri seperti bioetanol, industri pangan hingga industri tekstil akibat penggunaannya yang luas. Bakteri amilolitik adalah mikroorganisme dari bakteri

yang mampu menghasilkan amilase. Umumnya, bakteri amilolitik yang menghasilkan amilase berasal dari genus *Bacillus* dengan spesies *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, serta *B. streatothermophilus*.

Bakteri amilolitik merupakan satu jenis golongan dari bakteri hidrolitik yang mempunyai kemampuan dalam menghidrolisis amilum (pati) menjadi bahan-bahan yang lebih sederhana seperti glukosa (Wulandari dan Purwaningsih, 2019). Bakteri amilolitik juga berperan penting dalam pengolahan limbah khususnya limbah yang terdapat di perairan yang mengandung bahan-bahan organik seperti amilum dengan bantuan enzim (Novitasari dkk., 2021).

Bakteri amilolitik memiliki spektrum aplikasi industri yang luas karena lebih stabil dengan keanekaragaman genetik yang besar, aktivitas enzimatik yang tinggi dalam berbagai kondisi, produksi yang sederhana dan hemat biaya, serta manipulasi yang mudah untuk mendapatkan enzim dengan karakteristik yang diinginkan. Bakteri amilolitik ini dapat ditemukan di berbagai jenis perairan salah satunya adalah perairan pantai (Padhiar dan Kommu, 2016).

Menurut Remijawa dkk., (2020), hampir di setiap pantai terdapat kandungan bakteri yang mampu menghasilkan enzim seperti salah satunya bakteri amilolitik yang mampu menghasilkan enzim amilase. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Purnawan dkk., (2015) yang mengatakan bahwa bakteri amilolitik dapat ditemukan pada daerah perairan pantai dikarenakan bakteri amilolitik ini mempunyai keunggulan seperti tahan pada temperatur tinggi, kondisi yang ekstrim, cahaya, dan salinitas atau kandungan NaCl yang tinggi.

Penghasil amilase saat ini umumnya diisolasi dari bakteri yang berasal dari tanah. Bakteri asal perairan belum banyak digunakan khususnya pada perairan Pantai Paris Tigaras yang terdapat di Sumatera Utara, padahal bakteri perairan memiliki karakteristik yang sangat spesifik dan unik. Bahkan pada Pantai Paris Tigaras ini sendiri hanya dimanfaatkan sebagai lokasi wisata tanpa adanya pemanfaatan lain, padahal pantai ini sendiri memiliki keanekaragaman biodiversitas

melimpah yang bisa digunakan seperti salah satunya pemanfaatan mikroorganisme berupa bakteri amilolitik penghasil amilase. Penelitian mengenai bakteri amilolitik umumnya diteliti melalui sisa-sisa bahan olahan pembuatan tape ataupun sagu, dan masih sangat jarang yang meneliti tentang bakteri amilolitik pada perairan, maka daripada itu perlu dilakukannya penelitian mengenai bakteri amilolitik yang diisolasi dari air Pantai Paris Tigaras. Tujuan dari penelitian ini sendiri yaitu untuk mengetahui bagaimana karakterisasi bakteri amilolitik yang diisolasi dari Pantai Paris Tigaras.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan selama 1 bulan pada bulan November 2021. Pengambilan Sampel dilakukan di Pantai Paris Tigaras, Kecamatan Dolok Pardamean, Kabupaten Simalungun, yang selanjutnya dilakukan penelitian skala laboratorium di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Sumatera Utara.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari: botol sampel steril, cooler box, cawan petri, jangka sorong, bunsen, autoklaf, inkubator, oven, vortex, mikropipet, jarum ose, rak tabung reaksi dan tabung reaksi.

Adapun bahan yang digunakan terdiri dari: sampel air Pantai Paris Tigaras, media Nutrient Agar (Merck), media selektif Starch Agar (Oxoid), iodin. Bahan lain terdiri dari media Tripel Sugar Iron Agar (Merck), media Sulfie Indol Motility (Merck), media Simmon's Citrate Agar (Oxoid), akuades, alkohol 70%, H₂O₂ 3%, reagen ehrlich, kristal violet, safranin, dan lugol.

Pengambilan Sampel

Sampel air diambil pada tiga titik sampel yang telah ditentukan sebelumnya pada perairan Pantai Paris Tigaras. Dimana penentuan titik sampel ini berdasarkan banyaknya jumlah pengunjung dan bahan-bahan organik disekitar pantai. Pengukuran parameter kualitas lingkungan dilakukan sebelum pengambilan sampel, yang terdiri dari suhu air, pH air, salinitas, dan kecerahan air. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam botol steril

ukuran 120 ml dan diletakkan di dalam *cooler box* (Irdawati dkk., 2015).

Isolasi Bakteri Amilolitik

Sampel bakteri yang akan diisolasi dilakukan pengenceran terlebih dahulu menggunakan aquades. Pengenceran sampel dilakukan dengan cara menghomogenkan sampel air yang telah diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades menggunakan *vortex*, selanjutnya dilakukan pengenceran menggunakan metode pengenceran bertingkat sampai didapatkan pengenceran 10⁻⁵ (Mardalisa dkk., 2015). Sebanyak 1 ml sampel air dari pengenceran terakhir disebar pada permukaan media NA lalu diratakan dengan menggunakan *Hockey stick*. Inkubasi dilakukan pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dilakukan pemurnian untuk mendapatkan koloni tunggal pada tiap-tiap sampel (Silaban dan Simamora, 2018).

Uji Aktivitas Amilolitik

Isolat bakteri yang tumbuh diinokulasikan pada media selektif SA dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. Aktivitas amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening yang terdapat disekitar koloni. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong (Cappuccino dan Weish, 2019). Setelah diukur kemudian ditentukan indeks amilolitiknya (IA) dengan rumus:

$$IA = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter kertas cakram}}{\text{Diameter kertas cakram}}$$

(Pitri dkk, 2015).

Karakterisasi Bakteri Amilolitik

Isolat bakteri yang menunjukkan positif amilolitik selanjutnya dikarakterisasi secara morfologi yang meliputi bentuk, ukuran, permukaan, tepi, dan warna, serta dikarakterisasi secara fisiologi yang terdiri dari pengujian biokimia meliputi uji katalase, fermentasi gula, sitrat, indol, motilitas, dan pewarnaan gram.

Teknik Analisa Data

Metode deksriptif dilakukan sebagai bentuk tahapan dalam teknik analisis data pada penelitian ini, dimana data yang didapatkan akan dideskripsikan secara menyeluruh. Hasil yang diperoleh kemudian akan diidentifikasi menggunakan buku panduan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume 3*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri amilolitik hasil isolasi dari sampel air Pantai Paris Tigaras didapatkan total 12 isolat dari 3 stasiun pengambilan, dimana dari stasiun 1 didapatkan 4 isolat, stasiun 2 didapatkan 2 isolat, dan di stasiun 3 didapatkan 6 isolat. Stasiun 3 menghasilkan pertumbuhan isolat terbanyak dibandingkan stasiun lainnya. Perbedaan jumlah isolat dapat disebabkan oleh pengaruh kondisi faktor fisik dan kimia pada stasiun pengambilan sampel. Kondisi faktor fisik maupun kimia pada suatu perairan dapat mempengaruhi keberadaan bakteri yang ada pada perairan tanpa terkecuali di perairan Pantai Paris Tigaras.

pH pada tiap-tiap stasiun berkisar antara 8,3 – 8,4. Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa sifat air pada masing-masing stasiun di perairan Pantai Paris Tigaras bersifat basa. Perairan yang bersifat basa dikategorikan baik dikarenakan perairan tersebut tidak mengandung senyawa asam atau logam-logam asam terlarut yang berbahaya bagi kehidupan biota maupun mikroorganisme yang hidup di dalam perairan tersebut.

Pada masing-masing stasiun pengambilan sampel memiliki suhu dengan kisaran 24,8⁰ C sampai dengan 25⁰ C. Kisaran suhu ini tergolong baik bagi pertumbuhan bakteri, dimana bakteri yang umumnya hidup pada kisaran suhu tersebut termasuk ke dalam bakteri mesofil.

Salinitas merupakan tingkat kadar atau konsentrasi garam yang terlarut dalam suatu perairan. Pada pengukuran salinitas air pada perairan Pantai Paris Tigaras memiliki kisaran nilai 1-3 ppt. Salinitas ini berhubungan dengan tekanan osmotik yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, hal ini dikarenakan salinitas dapat mempengaruhi kadar air dalam tubuh bakteri tersebut.

Perbedaan jumlah isolat yang tumbuh juga disebabkan oleh banyaknya aktivitas jumlah pengunjung. Pada titik pengambilan sampel di stasiun 3 hasil isolat bakteri yang didapatkan lebih banyak dibandingkan dua stasiun lainnya. Hal ini dikarenakan pada stasiun 3 memiliki jumlah pengunjung lebih banyak dibandingkan dengan stasiun 1 dan stasiun 2. Aktivitas pengunjung dapat membuat bahan-bahan organik menjadi lebih banyak sehingga dapat mempengaruhi kualitas perairan salah satunya kedalaman seperti yang terdapat pada stasiun 3 dibandingkan dengan stasiun lainnya. Tingkat kedalaman yang rendah pada stasiun 3 perairan Pantai Paris Tigaras membuat pengunjung lebih sering berada pada lokasi tersebut. Banyaknya jumlah pengunjung memungkinkan semakin banyaknya bahan-bahan organik dan partikel tersuspensi pada perairan Pantai Paris Tigaras sehingga jumlah bakteri yang hidup pada stasiun tersebut juga semakin banyak karena adanya bahan yang bisa diurai. Sedangkan pada lokasi di stasiun 1 dan 2 merupakan titik pengambilan sampel dengan aktivitas jumlah pengunjung yang rendah. Hal ini disebabkan oleh kedalaman perairan yang dirasa kurang cocok untuk aktivitas pengunjung.

Tabel 1. Data parameter fisik dan kimia pada stasiun pengambilan sampel

Stasiun	Parameter			
	pH	Suhu	Salinitas	Kecerahan
I	8,3	24,8 ⁰ C	3 ppt	43 cm
II	8,4	24,9 ⁰ C	2 ppt	34 cm
III	8,3	25,5 ⁰ C	1 ppt	23,1 cm

Aktivitas Amilolitik

Aktivitas amilolitik dapat dilihat dengan cara menginokulasikan hasil isolasi bakteri yang telah dimurnikan ke dalam media selektif SA (*Starch Agar*). Hasil isolasi bakteri amilolitik dari sampel air Pantai Paris Tigaras diperoleh 12 isolat yang memiliki karakterisasi morfologi yang berbeda yang dapat dilihat pada tabel 3. Duabelas isolat bakteri selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas amilolitik untuk melihat

kemampuan isolat-isolat bakteri tersebut dalam menghidrolisis pati.

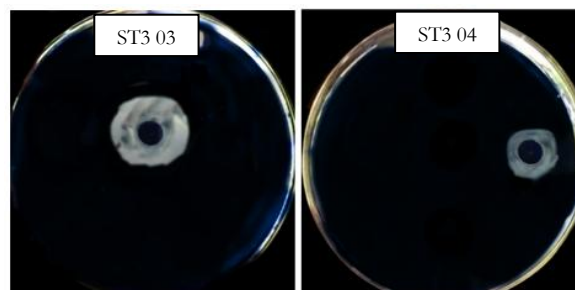
Dari 12 isolat bakteri, 9 isolat dapat tumbuh setelah proses inkubasi pada temperatur 37⁰ C selama 24 jam pada media SA (*Starb Agar*) yang terdiri dari kode isolat ST1 01, ST1 02, ST1 03, ST1 04, ST3 01, ST3 02, ST3 03, ST3 04, dan ST3 05. Namun ketika ditetesi iodin yang merupakan indikator untuk melihat adanya zona bening, 2 isolat dengan kode ST3 03 serta ST3 04 yang menunjukkan hasil positif amilolitik yang mana hasilnya bisa diamati pada tabel yang disajikan di bawah ini.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas amilolitik pada masing masing stasiun pengambilan sampel

Stasiun	Kode Isolat	Aktivitas Amilolitik	Diameter Zona Bening	Indeks Amilolitik (IA)
I	ST1 01	-	-	--
	ST1 02	-	-	-
	ST1 03	-	-	-
	ST1 04	-	-	-
II	ST2 01	-	-	-
	ST2 02	-	-	-
III	ST3 01	-	-	-
	ST3 02	-	-	-
	ST3 03	+	11,8 mm	1,97 mm
	ST3 04	+	8,2 mm	1,37 mm
	ST3 05	-	-	-
	ST3 06	-	-	-

Aktivitas amilolitik diamati dengan menggunakan metode pati-iodin dimana jika hasilnya positif akan terjadi penurunan intensitas warna iodin yang sebelumnya gelap menjadi bening. Perubahan warna ini disebabkan karena adanya reaksi kompleks antara pati dengan iodin. Dua isolat menunjukkan zona bening pada media pati terlarut 1% sehingga diyakini bahwa 2 isolat tersebut mampu memecah pati menjadi bahan yang lebih sederhana seperti glukosa ataupun dekstrin. Berdasarkan pendapat Syahfitri dkk. (2019), pati telah terhidrolisis oleh amilase menjadi oligosakarida atau monosakarida dengan memperlihatkan zona bening atau zona degradasi yang terbentuk. Isolat yang tumbuh

pada media agar pati tetapi tidak menunjukkan adanya zona bening sebagai bentuk aktivitas amilolitik kemungkinan terjadi dikarenakan 7 isolat bakteri tersebut tidak menghasilkan amilase dan hanya mampu memakai glukosa ataupun dekstrin sebagai hasil hidrolisis pati yang terjadi akibat pemanasan selama pembuatan media selektif SA (*Starb Agar*) dan semasa inkubasi.



Gambar 1. Hasil aktivitas amilolitik isolat ST3 03 dan ST3 04 pada media SA

Isolat ST3 03 dan ST3 04 menunjukkan terbentuknya zona bening sebagai bentuk hasil positif amilolitik pada media SA (*Starb Agar*) atau agar pati. Zona bening yang dihasilkan isolat ST3 03 sebesar 11,8 mm dengan nilai indeks amilolitik 1,97 mm, sedangkan zona bening yang dihasilkan oleh isolat ST3 04 sebesar 8,2 mm dengan nilai indeks amilolitik sebesar 1,37 mm. Isolat ST3 03 menghasilkan zona bening lebih besar dibandingkan dengan isolat ST3 04 sehingga mempengaruhi nilai indeks amilolitik yang dihasilkan. Adanya perbedaan kemampuan tiap-tiap isolat dalam menghidrolisis pati membuat terjadinya perbedaan pula pada indeks amilolitik. Sedangkan menurut Melisha dkk. (2016), jumlah dan aktivitas enzim yang berasal dari isolat bakteri pada media SA (*Starb Agar*) menyebabkan adanya perbedaan zona bening pada tiap-tiap media sehingga mempengaruhi indeks amilolitik, dimana indeks amilolitik ini digunakan dalam menetapkan adanya aktivitas amilase.

Kemampuan isolat ST3 03 dan ST3 04 dalam menghidrolisis pati dapat digunakan sebagai penentuan kriteria dalam produksi amilase oleh isolat bakteri yang diisolasi dengan melihat reaksi antara pati dengan iodin yang digunakan sebagai

indikator. Pati sendiri adalah golongan karbohidrat dimana proses pemecahannya membutuhkan enzim agar dapat diubah menjadi molekul yang lebih sederhana. Adanya isolat positif amilolitik dari sampel air yang diambil dari perairan Pantai Paris Tigras juga memberikan keuntungan bagi kondisi lingkungan di sekitar perairan. Hal ini dikarenakan, bakteri amilolitik sendiri mampu mengurai bahan-bahan organik yang terdapat pada perairan sehingga mengurangi pencemaran pada sekitar perairan.

Karakterisasi Bakteri Amilolitik

Karakterisasi morfologi dapat digunakan dalam melihat ciri khas suatu bakteri. setiap bakteri memiliki ciri khas morfologi yang berbeda antara bakteri yang satunya dengan bakteri yang lain pula. Bakteri amilolitik yang telah diisolasi dan dilakukan pengujian aktivitas amilolitik selanjutnya dilakukan karakterisasi guna mengetahui karakteristik dari bakteri yang diamati. Karakterisasi morfologi dapat digunakan dalam melihat ciri khas suatu bakteri. Pada karakterisasi morfologi koloni kedua isolat amilolitik memiliki karakterisasi morfologi yang berbeda antara isolat ST3 03 dan ST3 04.

Tabel 3. Karakterisasi morfologi koloni isolat bakteri amilolitik

Stasiun	Kode Isolat	Bentuk	Tepi	Ukuran	Permukaan	Warna
I	ST1 01	Irregular	Bergerigi	Kecil	Rata	Putih susu
	ST1 02	Bulat	Rata	Medium	Rata	Putih susu
	ST1 03	Bulat	Rata	Kecil	Rata	Putih susu
	ST1 04	Bulat	Rata	Kecil	Rata	Putih keruh
II	ST2 02	Bulat	Rata	Kecil	Rata	Putih susu
	ST2 04	Irregular	Bergerigi	Medium	Rata	Putih keruh
III	ST3 01	Bulat	Rata	Medium	Rata	Putih keruh
	ST3 02	Bulat	Rata	Kecil	Rata	Putih keruh
	ST3 03	Bulat	Bergerigi	Medium	Timbul	Putih keruh
	ST3 04	Bulat	Rata	Kecil	Rata	Putih susu
	ST3 05	Filamentus	Bergerigi	Medium	Timbul	Putih keruh
	ST3 06	Bulat	Rata	Medium	Rata	Kemerahan

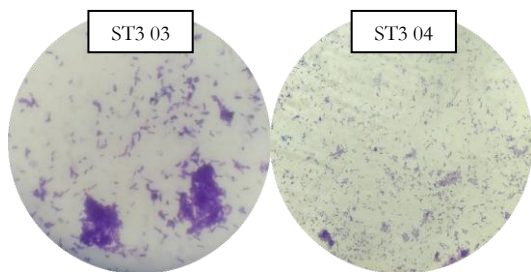
Pada karakterisasi morfologi sel dengan uji pewarnaan gram, isolat ST3 03 dan ST3 04 termasuk ke dalam bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu pada sel bakteri ketika diamati secara mikroskopik. Selain menunjukkan hasil bahwa kedua isolat merupakan bakteri Gram positif dari warna yang dihasilkan, pada uji pewarnaan gram juga memperjelas dari bentuk bakteri yang diamati. Dimana pada kedua isolat memiliki bentuk *basil* (batang) dengan penataan *diplobasil*. Hasil uji pewarnaan gram ini dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 2 berikut.

Tabel 4. Karakterisasi morfologi sel isolat bakteri amilolitik

Kode Isolat	Kelompok		Penataan Sel Bakteri
	Sifat Gram Bakteri	Bentuk Sel	
ST3 03	+	Basil	Diplobasil
ST3 04	+	Basil	Diplobasil

Kelompok zat warna yang berupa kristal violet-lugol tetap bertahan meski telah diberi alkohol memberikan

efek warna ungu pada sel kedua isolat (ST3 03 dan ST3 04). Zat warna pertama dapat dipertahankan diakibatkan oleh komponen penyusun pada dinding selnya. Struktur dinding sel bakteri gram positif tersusun oleh lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga tidak mudah luntur akibat pencucian oleh alkohol.



Gambar 2. Hasil pewarnaan gram isolat ST3 03 dan ST3 04

Uji Biokimia Bakteri Amilolitik

Pengujian biokimia dapat dilakukan untuk mengetahui karakterisasi fisiologi suatu biakan murni dari isolat bakteri amilolitik yang telah diisolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. Pengujian biokimia ini terdiri dari uji katalase, uji fermentasi gula, uji sitrat, uji indol, serta uji motilitas. Hasil pengujian biokimia ini dapat dilihat pada tabel 4.

Hasil uji katalase menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung gas sebagai bentuk reaksi penguraian dari proses respirasi aerob oleh isolat bakteri setelah ditetesi dengan H₂O₂ 3%. Hidrogen peroksida termasuk bahan yang menginaktifkan enzim dalam sel sehingga bersifat toksik, maka dari itu bakteri perlu menuraikan bahan ini agar tingkat toksisitasnya hilang (Cappuccino dan Weish, 2019).

Pada uji TSIA atau biasa dikenal dengan uji fermentasi gula dilakukan untuk mengetahui apakah isoat bakteri amilolitik yang diamati mampu memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam atau basa. Isolat ST3 03 dan ST3 04 menunjukkan hasil positif dengan terfermentasinya karbohidrat pada media. Pada ST3 03 hanya terjadi fermentasi glukosa sehingga hasil ini dikodekan K/A. Sedangkan pada isolat ST3 04 tiga jenis gula yang terdiri dari glukosa,

laktosa, dan sukrosa dapat terfermentasi sehingga hasil ini dikodekan dengan K/K. Glukosa yang termasuk ke dalam jenis monosakarida terdapat pada semua bagian media. Sedangkan laktosa dan sukrosa yang termasuk ke dalam jenis disakarida berada pada bagian tengah hingga bawah media.

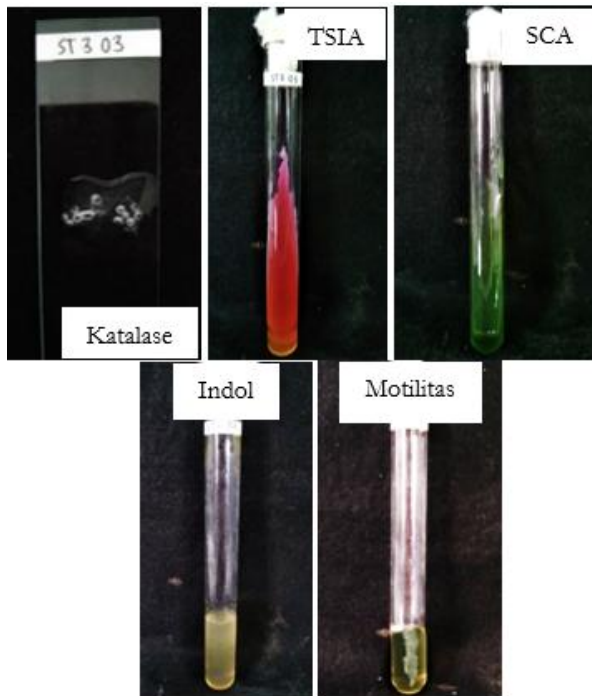
Hasil negatif ditunjukkan pada hasil uji sitrat untuk kedua isolat (ST3 03 dan ST3 04). Hal ini ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna media yang sebelumnya berwarna hijau menjadi biru. Hasil negatif menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri amilolitik tersebut tidak menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

Sama halnya dengan uji sitrat, pada uji indol kedua isolat bakteri amilolitik (ST3 03 dan ST3 04) juga menunjukkan hasil negatif dimana tidak terbentuknya cincin merah setelah diberikan reagen *Ebrlich*. Hasil negatif pada uji ini diartikan sebagai ketidakmampuan kedua isolat dalam menghidrolisis triptofan yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim *tryptophanase*. Terbentuknya cincin merah disebabkan oleh indol yang diekstrak ke lapisan reagen ketika reagen ditetaskan ke media uji sehingga membuat komponen asam butanol pada reagen membentuk *p-dimethylaminobenzaldehyde* (Cappuccino dan Weish, 2019).

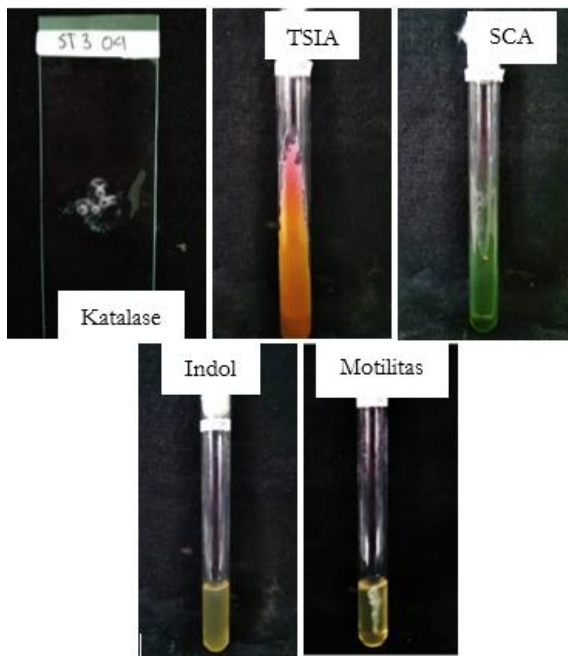
Hasil uji motilitas pada kedua isolat bakteri amilolitik (ST3 03 dan ST3 04) menunjukkan hasil positif dimana terdapat semburat-semburatan pada media yang diinokulasikan sebagai bentuk pergerakan dari isolat bakteri. pergerakan bakteri terjadi karena bakteri tersebut memiliki flagella atau *gliding motility* yang digunakan sebagai alat gerak pada bakteri.

Tabel 4. Hasil Uji biokimia isolat bakteri amilolitik

Kode Isolat	Uji Biokimia				
	Katalase	TSIA	SCA	Indol	Motilitas
ST3 03	+	+ (K/A)	-	-	+
ST3 04	+	+ (K/K)	-	-	+



Gambar 3. Hasil uji biokimia isolat ST3 03



Gambar 4. Hasil uji biokimia isolat ST3 04

Penentuan Genus Bakteri Amilolitik

Genus bakteri amilolitik ditentukan dengan menyesuaikan genus-genus bakteri yang terdapat pada buku panduan identifikasi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume 3* dan menyamakan dengan hasil pengamatan yang didapatkan, dimana hasil pengamatan tersebut meliputi pengamatan karakterisasi morfologi koloni, pengamatan karakterisasi morfologi

sel (pewarnaan gram), serta pengamatan karakteristik fisiologi yang dilakukan dengan uji biokimia pada isolat bakteri amilolitik. berdasarkan hasil pengidentifikasian dan menyesuaikan dengan hasil pengamatan yang didapatkan, isolat bakteri amilolitik (ST3 03 dan ST3 04) keduanya teridentifikasi ke dalam bakteri genus *Bacillus*.

Bakteri dari genus *Bacillus* memiliki berbagai karakteristik dan kemampuan dalam menghasilkan banyak enzim, antibiotik, dan metabolit. Selain itu, bakteri dari genus ini banyak digunakan dalam bidang medis, farmasi, pertanian, dan industri (Celandroni, dkk., 2019). Bakteri genus *Bacillus* termasuk ke dalam golongan bakteri yang terkenal sebagai dekomposer atau bakteri pendegradasi pada lingkungan. Hal ini dikarenakan bakteri dari genus tersebut mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis polisakarida kompleks dan protein yang terdapat pada lingkungan.

Hasil isolat ST3 03 dan ST3 04 yang termasuk ke dalam genus *Bacillus*, setelah dilakukan pengkajian dan analisis secara mendalam didapatkan spesies dari masing-masing kedua isolat tersebut. Dimana pada isolat ST3 03 termasuk bakteri amilolitik dari genus *Bacillus* dengan spesies *Bacillus subtilis*, dan pada isolat ST3 04 termasuk bakteri amilolitik dari genus *Bacillus* dengan spesies *Bacillus megaterium*.

KESIMPULAN

Jenis bakteri amilolitik yang berhasil diisolasi dari perairan Pantai Paris Tigaras berasal dari stasiun 3 dengan kode isolat ST3 03 dan ST3 04, dimana kedua bakteri amilolitik ini berasal dari genus *Bacillus* berdasarkan karakterisasi secara morfologi dan fisiologinya dan sesuai dengan panduan yang terdapat pada buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume 3*. Karakterisasi bakteri amilolitik yang diisolasi dari perairan Pantai Paris Tigaras terdiri dari isolat ST3 03 dan ST3 04. Keduanya teridentifikasi sebagai bakteri amilolitik yang dapat dilihat dari zona

bening yang dihasilkan sebesar 11,8 mm dan 8,2 mm sebagai bentuk aktivitas amilolitik.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi secara langsung maupun tidak langsung dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J.G., and Weish, C. 2019. *Microbiology: A Laboratory Manual Twelfth Edition*. New York: Pearson.
- Damanik, F., Rahayu, T., dan Setyawati, H. 2020. The Analysis of the Potential of Sport Tourism in Simalungun Regency, *Journal of Physical Education and Sport*, 9(3): 198-203.
- Irdawati, Fifendy, M., dan Yenti, N. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan, *Jurnal Eksaktasi*, 1(16): 73-81.
- Kresnawaty, I., Wahyu, R., dan Sangsoko, A. 2019. Aktivitas Amilase Bakteri Amilolitik Asal Larva Black Soldier Fly (*Hermetia ilucens*), *Menara Perkebunan*, 87(2): 140-146.
- Malau, E. Hp., dan Purba, E. 2020. Pengaruh Customer Experience Terhadap Minat Berkunjung di Pantai Paris Tigaras, *Jurnal Ekonomi USI*, 2(2): 116-123.
- Mardalisa., Fatwa, E.B., Yoswanty, D., Feliatra., Effendi, I., dan Amin, B. 2021. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenus Pendegradasi Plastik dari Perairan Laut Dumai Provinsi Riau, *Jurnal Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(1): 77-85.
- Melisha., Harpeni, E., dan Supono. 2016. Produksi dan Pengujian Aktivitas Amilase *Burkholderia cepacia* Terhadap Substrat yang Berbeda, *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 5(1): 559-566.
- Novitasari, D.T., Purnomo, P.W., Jati, O.K., Ayuningrum, D., dan Sabdaningsih, A. 2021. Skrining Bakteri Penghasil Enzim Amilase dari Sedimen Tambak Undang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*), *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(2): 297-303.
- Padhiar, A.R., and Kommu, S. 2016. Isolation, Characterization, and Optimization of Bacteria Producing Amylase, *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 3(7): 1-7.
- Pitri, R.E., Agustien A., dan Febria, F.A. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilotermofilik dari Sumber Air Panas Sungai Medang, *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(2): 199-122.
- Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, PA., Rahmani, N., dan Yopi. 2015. Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*), *Jurnal Biologi Indonesia*, 11(2): 215-224.
- Remijawa, E.S., Rupidara, A.D.N., Ngginak, J., dan Radjasa, O.K. 2020. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler pada Tanah Mangrove di Pantai Noelbaki, *Jurnal Enggano*, 5(2): 164-180.
- Silaban, S., dan Simamora, P. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Amilase dari Sampel Air Tawar Danau Toba, *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*, 3(2): 222-231.
- Sundari, A.S., Purwani, N.N., dan Kurniati, A. 2019. Isolasi dan Identifikasi Indeks Amilolitik Bakteri dari Sediment Mangrove di Wonorejo, Surabaya, *QUANTUM: Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*, 10(1): 38-44.
- Susilawati, I.K., Batubara, U.M., dan Riany, H. 2015. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi, *Prosiding Semirata 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Barat Universitas Tanjungpura Pontianak*, 359-367.
- Syafitri, W.A., Ningsih, F., Aningsih, P.P.S., Rachmania, M.K., Sari, D.C.A.F., Yabe, S., Yokota, A., Oetari, A.A., Sjamsuridzal, W. 2019. Screening for Amyolytic Activity and Characterization of Thermophilic *Actinobacteria* Isolated from a Geothermal Area in West Java, Indonesia. *Biodiversitas.*, 20(7):1929-1938.
- Wulandari, D., dan Purwaningsih, D. 2019. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik pada Umbi *Colocasia esculenta* L. Secara Morfologi, Biokimia, dan Molekuler, *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 6(2): 248-258.