

BAKTERI HALOFILIK DAN HALOTOLERAN DARI AIR BAKU TAMBAK GARAM UNIVERSITAS TRUNOJOYO MADURA

Salsabil Firda Nazhifan, Kartika Dewi*, Eka Nurrahema Ning Asih

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Trunojoyo Madura
Jalan Raya Telang-Kamal, Bangkalan, Jawa Timur 69162 Indonesia

Diterima: 29 November 2022/Disetujui: 17 Februari 2023

*Korespondensi: kartika.dewi@trunojoyo.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Nazhifan, S. F., Dewi, K., & Asih, E. N. N. (2023). Bakteri halofilik dan halotoleran dari air baku tambak garam Universitas Trunojoyo Madura. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 26(1), 67-76. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v26i1.44536>

Abstrak

Bakteri halofilik merupakan bakteri yang membutuhkan kadar garam tinggi untuk hidup, sedangkan bakteri halotoleran merupakan bakteri yang mampu hidup dengan atau tanpa garam. Bakteri halofilik dan halotoleran memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam bioteknologi. Tambak garam Universitas Trunojoyo Madura (UTM) yang terletak di Kabupaten Pamekasan dapat dijadikan sumber penelitian eksistensi bakteri halofilik dan halotoleran. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri halofilik moderat dan halotoleran di air baku tambak garam UTM, serta mengetahui karakteristik morfologi dan biokimia. Empat isolat bakteri halofilik diperoleh dengan kode AB.1.2, AB.2.4, AB.2.5, dan AB.3.6, dan dua isolat bakteri halotoleran dengan kode AB.1.1 dan AB.2.3. Bentuk sel keseluruhan isolat berupa kokus dan isolat bakteri didominasi oleh Gram negatif. Tiga isolat termasuk kelompok bakteri aerob berdasarkan uji katalase dan oksidase. Isolat bakteri halotoleran dengan kode AB.1.1 dan AB.2.3 mampu menghasilkan enzim sitrat, sedangkan isolat halofilik AB.1.2, AB.2.5 dan AB.3.6 mampu menghasilkan enzim urease. Keseluruhan isolat mampu memfermentasi sukrosa, glukosa, manitol dan maltosa. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai informasi awal untuk mendeskripsikan karakteristik bakteri halofilik dan halotoleran yang diisolasi dari air baku tambak garam UTM.

Kata kunci: bakteri halofilik, bakteri halotoleran, biokimia, tambak garam

Halophilic and Halotolerant Bacteria from Raw Water of Salt Ponds of Trunojoyo University Madura

Abstract

Halophiles are bacteria that require specific salt concentrations to survive, while halotolerants are bacteria that grow in the absence of salt and in the presence of high salt concentrations. Both halophiles and halotolerant bacteria have potential biotechnological applications. The aim of this study was to isolate moderate halophiles and halotolerant bacteria from the raw water of salt ponds at Trunojoyo Madura University and to determine their morphological and biochemical characteristics. Four halophilic bacterial isolates with codes AB.1.2, AB.2.4, AB.2.5, and AB.3.6, and two isolates of halotolerant bacteria with codes AB.1.1 and AB.2.3, were obtained. All isolates were coccus shaped, and most of the isolates were gram-negative. Three isolates were identified as aerobic bacteria based on catalase and oxidase tests. Only halotolerant bacteria AB.1.1 and AB.2.3, showed positive results in the citrate utilization test, while halophiles AB.1.2, AB.2.5, and AB.3.6, showed positive results in the urease test. All isolates, both halophiles and halotolerant, were able to utilize sucrose, glucose, mannitol, and maltose.

Keyword: biochemical, halophilic bacteria, halotolerant bacteria, salt pond

PENDAHULUAN

Bakteri halofilik adalah mikroorganisme yang tahan pada kadar garam tinggi karena memiliki kemampuan dalam mengakumulasi suatu zat organik terlarut dalam sitoplasmanya (Budiharjo *et al.*, 2017). Bakteri halofilik termasuk dalam domain *archaeobacteria* yang memerlukan lingkungan asin untuk kelangsungan hidupnya (Dewi *et al.*, 2022) dan biasa disebut halofilik arkaea atau haloarkaea yang termasuk dalam famili Halobacteriaceae (Nilawati *et al.*, 2015). Bakteri halofilik berdasarkan kebutuhan garamnya dikelompokkan menjadi tiga, yaitu halofilik rendah (1-3%), halofilik sedang (3-15%) dan halofilik ekstrem (15-30%) (Gaffney *et al.*, 2021). Bakteri halotoleran juga memiliki keunikan seperti bakteri halofilik, yaitu dapat hidup di lingkungan yang memiliki kadar garam (Tiquia *et al.*, 2007). Bakteri ini berbeda dengan halofilik, karena bakteri ini mampu hidup di lingkungan dengan atau tanpa garam. Bakteri halotoleran mampu hidup di lingkungan dengan kadar garam mencapai 25% NaCl (Canseco *et al.*, 2022).

Bakteri halofilik dan halotoleran memiliki berbagai potensi untuk dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi. Bakteri halofilik dalam bidang bioteknologi digunakan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas garam. Bakteri halofilik berperan penting dalam mempercepat proses pembentukan kristal garam dan sangat dipengaruhi oleh proses nukleasi kristal garam (Dewi *et al.*, 2022). Penggunaan bakteri halofilik di meja kristalisasi mampu meningkatkan kadar NaCl hingga mencapai 98,116% (Marihati *et al.*, 2014). Penelitian ini mengisolasi bakteri halofilik sedang (*moderate halophile*) karena bakteri ini dapat digunakan dalam bidang bioproduksi dan sintesis zat terlarut untuk penstabil enzim (Gaffney *et al.*, 2021). Bakteri halofilik sedang memiliki keunikan mampu menghasilkan berbagai enzim. Enzim yang diproduksi oleh bakteri halofilik sedang merupakan enzim yang stabil, karena walaupun lebih aktif pada media dengan kadar garam sedang dan tinggi namun tetap stabil dan aktif digunakan pada media tanpa garam (Rathakrishnan & Gopalan, 2022). Bakteri halotoleran dapat

digunakan sebagai pengawet makanan, penghasil enzim hidrolase, lipase, protease, amilase, selulase dan biopolimer. Beberapa spesies halotoleran memiliki kemampuan dalam memetabolisme hidrokarbon dan sebagai agen bioremediasi (Rahman *et al.*, 2017). Beberapa hasil literatur menunjukkan bahwa bakteri halofilik dan halotoleran merupakan bakteri yang dapat ditemukan di lingkungan yang memiliki kadar garam. Fitri *et al.* (2022) menyatakan bahwa bakteri halofilik ditemukan di tambak garam desa Padelegan, kecamatan Pademawu, Kabupaten Pamekasan. Tiquia *et al.*, (2007) memperoleh isolat bakteri halofilik dan halotoleran dari sungai rouge Michigan tenggara yang terpapar limbah natrium klorida yang digunakan untuk mencairkan salju di jalan raya. Tambak garam memiliki konsentrasi garam yang tinggi, oleh karena itu diduga bakteri halofilik dan halotoleran dapat ditemukan di lokasi tersebut. Tambak garam memiliki konsentrasi garam yang tinggi, oleh karena itu diduga bakteri halofilik dan halotoleran dapat ditemukan di lokasi tersebut.

Tambak garam Universitas Trunojoyo Madura (UTM) merupakan salah satu aset bagi civitas akademika UTM untuk memproduksi garam yang berkualitas sesuai kebutuhan industri. Tambak garam UTM terletak di Desa Padelegan, Kecamatan Pademawu, Kabupaten Pamekasan. Keberadaan tambak garam UTM yang usianya tergolong masih muda sehingga perlu dilakukan penelitian yang mengkaji eksistensi bakteri asli (*indigenous*) di air baku tambak garam UTM. Isolasi dan karakterisasi bakteri halofilik dan halotoleran asli dari tambak garam UTM merupakan salah satu upaya yang dilakukan sebagai landasan dan informasi awal untuk mengetahui biodiversitas bakteri di tambak garam sebelum berproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri halofilik sedang dan halotoleran di air baku tambak garam UTM, serta mengetahui karakteristik morfologi dan biokimianya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air baku tambak garam. Bahan

pembuatan media padat halophile 4% terdiri dari agar (Oxoid), *tryptic soy broth* (Merck), magnesium klorida 99% (Merck), natrium klorida (Merck), kalium klorida (Merck), magnesium sulfat (Merck) dan air laut. Bahan untuk pewarnaan Gram yaitu kristal violet (Merck), lugol (Merck), aseton (Merck), safranin (Merck). Bahan untuk uji biokimia yaitu alkohol 70% (One Med), *simmons citrate agar* (Himedia), *urea agar base* (Oxoid), laktosa monohidrat (Merck), xilosa (Merck), glukosa monohidrat (Merck), maltosa monohidrat (Merck), manitol (Merck), sukrosa (Himedia), *buffered peptone water* (Merck), fenol merah (Merck) dan *oxidase strips* (Oxiod). Alat yang digunakan ialah autoklaf (Hirayama), inkubator (Biohazard), *laminar air flow* (Euro Clone), mikropipet (Eppendorf), *microtip* (Biologix), cawan petri (Pyrex), jarum ose, *spreader*, bunsen, erlenmeyer (Duran), tabung reaksi (Iwaki), gelas ukur (Herma), pipet ukur (Pyrex), *pipet pump* (Glasfirn Jerman), vortex (Gemmy VM 300), gelas beker (Pyrex), pengaduk magnet (Biosan), neraca analitik (Mettler Toledo), mikroskop (Olympus), *cool box* (Marina Cooler).

Metode penelitian

Koleksi sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Tambak Garam Universitas Trunojoyo Madura (UTM) Desa Padelegan, Kecamatan Pademawu, Kabupaten Pamekasan menggunakan metode *purposive sampling* dengan tiga titik lokasi (Gambar 1). Sampel diambil mulai dari pintu

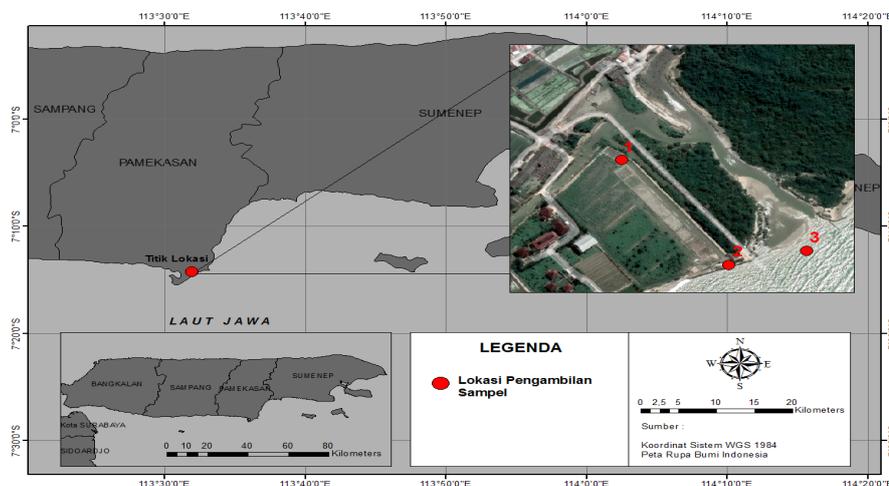
masuk tambak garam UTM ($7^{\circ}14'12,941''$ S dan $113^{\circ}31'52,859''$ E) dengan salinitas 32.1 ppt, sumber air baku menuju tambak garam UTM Ketika pasang ($7^{\circ}14'19,834''$ S dan $113^{\circ}31'57,332''$ E) dengan salinitas 31,4 ppt dan sumber air baku yang masuk ke sungai utama ($7^{\circ}14'19,834''$ S dan $113^{\circ}32'0,956''$ E) dengan salinitas 35 ppt. Sampel diambil 20 mL di setiap titiknya menggunakan tabung reaksi ulir steril. Sampel disimpan dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium untuk penelitian lebih lanjut.

Pembuatan media

Pembuatan media tanam bakteri menggunakan bahan yang mengacu pada Dewi *et al.* (2022) dengan modifikasi. Penelitian ini menggunakan kadar garam 4% sebagai media tumbuh bakteri halofilik sedang. Media halofilik dengan kadar garam 4% mengandung (g/L) NaCl 48,0; $MgSO_4$ 8,23; KCl 1,64; $MgCl_2$ 7,05; TSB 3,0; Agar 20,0. Media kemudian dihomogenkan menggunakan pengaduk magnet dengan suhu 100-150°C dan disterilisasi dengan suhu 121°C selama 20 menit.

Isolasi bakteri

Isolasi bakteri halofilik mengacu pada Fitri *et al.*, (2022) dengan modifikasi. Isolasi bakteri digunakan untuk mendapatkan isolat yang mampu tumbuh di media dengan kadar garam sebesar 4%. Isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran (Waluyo,



Gambar 1 Peta lokasi pengambilan sampel

2007). Pengenceran sampel dilakukan secara berkala mulai dari pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-7} . Sampel yang telah diencerkan pada pengenceran 10^{-5} sampai dengan 10^{-7} kemudian diisolasi pada media padat halofil 4% secara duplo dan diinkubasi selama 48 jam di suhu 32°C . Isolasi di media padat menggunakan pengenceran 10^{-5} sampai dengan 10^{-7} bertujuan untuk mengurangi kepadatan koloni bakteri yang tumbuh serta dapat mewakili semua jenis bakteri yang terdapat pada sampel (Sari *et al.*, 2020). Hasil isolasi kemudian dilakukan pemurnian untuk memperoleh isolat murni suatu bakteri yang dilakukan dengan mengambil koloni tunggal secara aseptis kemudian digoreskan pada media untuk memperoleh isolat murni (Dajoh *et al.*, 2020). Pemurnian pada penelitian ini menggunakan metode gores empat kuadran dan diinkubasi selama 24 jam di suhu 32°C .

Uji halotoleran

Uji halotoleran mengacu pada Canseco *et al.* (2022) dengan modifikasi. Uji halotoleran digunakan sebagai uji konfirmasi dalam mengelompokkan bakteri halofilik dan halotoleran. Bakteri halotoleran mampu hidup di lingkungan yang memiliki kandungan NaCl hingga 25% dan di media tanpa garam (Canseco *et al.*, 2022). Pengujian bakteri halotoleran menggunakan dua media, yakni media TSA (*Tryptic Soy Agar*) tanpa garam dan media halofil dengan 4% NaCl. Pengujian dilakukan dengan menginokulasi isolat murni ke masing-masing media kemudian diinkubasi di suhu 32°C selama 48 jam. Apabila koloni tumbuh di kedua media, maka dipastikan isolat tersebut merupakan bakteri halotoleran.

Karakterisasi morfologi bakteri

Karakterisasi morfologi bakteri meliputi morfologi koloni dan morfologi sel bakteri (Fitri & Yasmin, 2011). Karakterisasi morfologi koloni bakteri dilakukan dengan pengamatan secara langsung isolat yang tumbuh pada media agar yang meliputi margin, warna, elevasi, tekstur dan bentuk untuk memperoleh karakteristik khusus bakteri yang diinginkan (Fitri *et al.*, 2022). Karakterisasi morfologi sel menggunakan metode pewarnaan gram

mengacu pada Dussault (1995) yang dilakukan dengan memfiksasi kaca preparat dengan kultur kemudian dilakukan pewarnaan sesuai prosedur. Kaca preparat kemudian dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40 dan 100 kali.

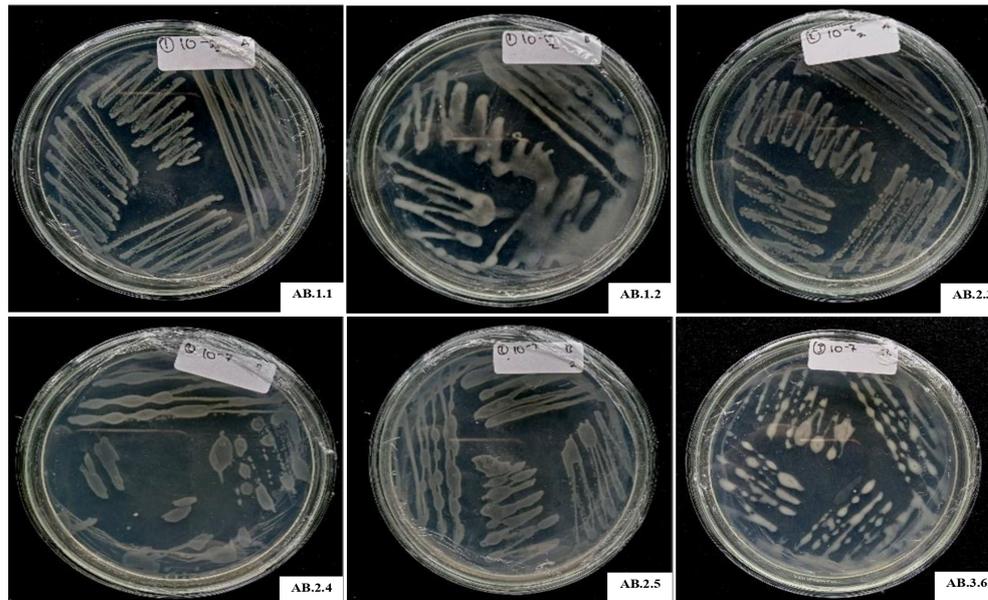
Uji biokimia

Uji biokimia pada bakteri halofilik dilakukan untuk mengetahui pemanfaatan sitrat, uji urease, uji fermentasi karbohidrat (Rathakrishnan & Gopalan, 2022) serta uji katalase dan oksidase mengikuti metode standar. Pembuatan media agar sitrat (g/L) (*simmons citrate* agar 24,28; NaCl 30) menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Pembuatan media agar urea (g/L) (*urea agar base* 24,0; NaCl 30) menggunakan autoklaf 115°C selama 20 menit. Uji pemanfaatan sitrat dan urease diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam (Rathakrishnan & Gopalan, 2022). Pemanfaatan sumber karbohidrat diawali dengan pembuatan larutan stok fenol merah 0,018 g/L, kemudian membuat media basal gula dari larutan stok fenol merah (g/L) (*Buffered Peptone Water* 10; NaCl 30; *meat extract* 1,0) lalu di-autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media basal gula yang telah steril diberi 1 g padatan gula (sukrosa, glukosa, manitol, xilosa dan laktosa) pada tiap 100 mL media basal gula. Pengamatan pemanfaatan sumber karbohidrat dilakukan selama 4-7 hari pada suhu 37°C . Indikator fenol merah berubah warna dari merah menjadi kuning menandakan isolat mampu memfermentasi karbohidrat (Marzuki, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemeliharaan Sampel

Hasil isolasi bakteri dari perairan tambak garam UTM di media halofilik 4% didapat 6 isolat murni bakteri dengan kode isolat AB.1.1, AB.1.2, AB.2.3, AB.2.4, AB.2.5 dan AB.3.6 (Gambar 2). Setelah dilakukan pemurnian kemudian disimpan ke media miring sebagai stok untuk penelitian lebih lanjut. Bakteri halofilik memerlukan kondisi asin untuk kelangsungan hidupnya. Titik lokasi pertama memiliki salinitas sebesar 32,1 ppt, titik lokasi kedua 31,4 ppt dan titik lokasi



Gambar 2 Isolat bakteri; AB.1.1 dan AB.1.2 diperoleh dari titik lokasi 1 pengenceran 10^{-5} ; AB.2.3 dari titik lokasi 2 pengenceran 10^{-6} ; AB.2.4 dan AB.2.5 dari titik lokasi 2 pengenceran 10^{-7} ; AB.3.6 dari titik lokasi 3 pengenceran 10^{-7}

ketiga 35 ppt. Salinitas merupakan jumlah garam terlarut dalam air. Perbedaan salinitas disebabkan karena adanya aliran air tawar dan perbedaan tersebut memengaruhi komunitas bakteri yang tumbuh (Rathakrishnan & Gopalan, 2022). Kebutuhan garam dalam kelangsungan hidup bakteri bervariasi, yaitu 20-50 ppt untuk halofilik ringan, 50-200 ppt untuk halofilik sedang dan 200-300 ppt untuk halofilik ekstrem (Arisandi *et al.*, 2017). Lokasi pengambilan sampel memiliki kadar garam yang tergolong rendah, dan pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri yang mampu bertahan dan beradaptasi dari lingkungan berkadar garam rendah ke dalam media dengan kadar garam sedang yaitu 4% NaCl, agar dapat dimanfaatkan lebih lanjut dalam peningkatan kualitas produksi di tambak garam UTM. Bakteri halofilik sedang diketahui mampu memproduksi enzim yang lebih aktif pada media berkadar garam sedang dan tinggi, namun tetap stabil dan aktif digunakan pada media tanpa garam. Bakteri halofilik sedang berpotensi untuk dimanfaatkan di bidang bioteknologi (Rathakrishnan & Gopalan 2022).

Bakteri Halotoleran

Pengujian bakteri halotoleran mendapatkan hasil bahwa isolat dengan

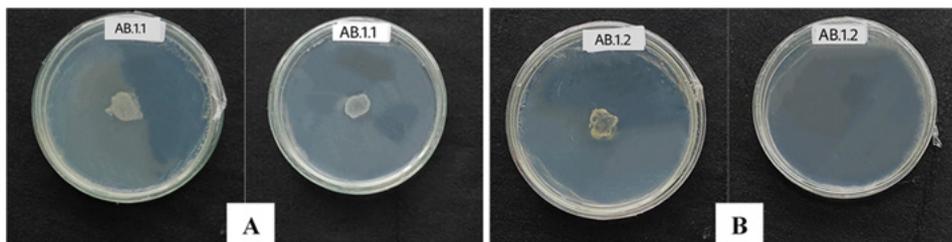
kode AB.1.1 dan AB.2.3 dapat tumbuh di media dengan dan tanpa kadar garam, yang artinya kedua isolat tersebut masuk ke dalam kelompok bakteri halotoleran (Tabel 1). Canseco *et al.*, (2022) menyatakan bahwa bakteri halotoleran merupakan bakteri yang dapat tumbuh di media dengan kadar NaCl hingga 25% dan media tanpa NaCl, sedangkan bakteri halofilik membutuhkan garam untuk tumbuh. Hasil pengujian bakteri halotoleran dapat dilihat pada Gambar 3. Bakteri halotoleran dalam bidang bioteknologi berperan membantu proses produksi dalam pengawetan makanan, menghasilkan enzim hidrolase, lipase, protease, amilase, selulase, dan biopolimer. Beberapa spesies halotoleran juga memiliki kemampuan dalam proses metabolisme hidrokarbon dan digunakan sebagai agen bioremediasi (Rahman *et al.*, 2017).

Karakteristik Isolat Bakteri Karakteristik morfologi koloni

Hasil karakterisasi morfologi koloni bakteri halofilik dan halotoleran diperoleh berupa tepian koloni berbentuk gelombang, berwarna putih buram dan putih susu dengan ketinggian atau elevasi datar dan bentuk koloni yang tidak beraturan. Tekstur yang diperoleh bermacam-macam mulai dari kering, rapuh,

Tabel 1 Uji konfirmasi bakteri halofilik dan halotoleran serta karakteristik morfologi

Hasil	Isolat					
	AB.1.1	AB.1.2	AB.2.3	AB.2.4	AB.2.5	AB.3.6
Halotoleran	+	-	+	-	-	-
Halofilik	-	+	-	+	+	+
Tepian	Gelombang	Gelombang	Gelombang	Gelombang	Gelombang	Gelombang
Warna	Putih Boram	Putih Boram	Putih Boram	Putih Susu	Putih Boram	Putih Boram
Ketinggian	Datar	Datar	Datar	Datar	Datar	Datar
Tekstur	Kering, berlapis	Berlendir, basah	Kering, berlapis	<i>Matte</i> , Rapuh	Kering, berlapis	Tembus pandang
Bentuk Koloni	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Tidak beraturan
Gram	Negatif	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Positif
Bentuk Sel	Kokus	Kokus	Kokus	Kokus	Kokus	Kokus



Gambar 3 Hasil pengujian bakteri halotoleran; (A) bakteri halotoleran (mampu tumbuh di media dengan dan tanpa kadar garam); (B) bakteri halofilik (hanya tumbuh di media dengan garam)

berlendir hingga tembus pandang (Tabel 1). Bentuk koloni bakteri dipengaruhi oleh umur, suhu, lingkungan, faktor makanan dan syarat pertumbuhan tertentu (Ilyas, 2001). Perbedaan salinitas memengaruhi komunitas bakteri yang tumbuh pada perairan (Rathakrishnan & Gopalan, 2022). Komunitas bakteri terdiri dari berbagai spesies bakteri. Bentuk koloni untuk setiap spesies bakteri berbeda dan merupakan ciri khas bagi suatu spesies bakteri (Waluyo, 2012). Warna dalam koloni menunjukkan keberadaan pigmen. Pigmen yang terdapat pada bakteri di antaranya karotenoid, antosianin, melanin, *tripiril methene* dan fenazina (Fitri *et al.*, 2022).

Karakteristik morfologi sel

Karakteristik morfologi sel berguna untuk mengetahui Gram dan bentuk sel bakteri. Hasil pemurnian bakteri menunjukkan 4

isolat termasuk bakteri Gram negatif dan 2 isolat Gram positif (Tabel 1). Bakteri Gram negatif memiliki kemampuan mengikat safranin dengan kuat jika dibanding Gram positif (Cappucino & Sherman, 1998). Pigmen berwarna merah muda merupakan ciri bakteri Gram negatif, hal ini disebabkan kelompok bakteri Gram negatif memiliki dinding sel (peptidoglikan) yang lebih tipis jika dibanding kelompok Gram positif (Sunatmo, 2007). Bakteri halofilik secara umum dibedakan menjadi Gram positif atau Gram negatif, kecuali bakteri halofilik ekstrem yang hanya terdiri dari Gram positif saja (Ventosa *et al.*, 1998). Isolat murni yang diperoleh pada penelitian ini keseluruhan selnya berupa kokus. Bakteri laut 75-85% ditemukan selnya berbentuk basil dan memiliki flagela sebagai alat geraknya. Sel bakteri halofilik yang berbentuk kokus

cenderung berlendir sehingga saling berikatan dan membentuk lapisan permukaan untuk hidup bersimbiosis (Wantania *et al.*, 2016).

Isolat AB.1.1 dan AB.1.2 diperoleh dari titik lokasi 1, isolat AB.2.3, AB.2.4 dan AB.2.5 diperoleh dari titik lokasi 2, dan isolat AB.3.6 diperoleh dari titik lokasi 3. Setiap lokasi memiliki salinitas yang berbeda. Hasil karakterisasi morfologi pada penelitian ini yang membedakan antar isolat ialah bentuk gram dan tekstur koloni bakteri. Karakteristik morfologi bakteri yang diamati berbeda, hal ini diduga karena adanya perbedaan salinitas. Perbedaan salinitas memengaruhi komunitas bakteri yang tumbuh pada perairan (Rathakrishnan & Gopalan 2022). Komunitas bakteri terdiri dari berbagai jenis bakteri yang menyebabkan karakteristik morfologi antar isolat berbeda. Penelitian Arisandi *et al.* (2017) menemukan bakteri halofilik jenis *Pseudomonas* yang memiliki karakteristik morfologi koloni dengan warna krem, tepian rata, elevasi cembung, tekstur lembut dengan gram negatif. Arisandi *et al.* (2017) dalam penelitiannya menyatakan bahwa perbedaan salinitas mampu memengaruhi pertumbuhan bakteri. Penelitiannya menunjukkan bahwa bakteri halofilik *Pseudomonas* mampu tumbuh normal pada kadar garam 0-40 ppt, mengalami penurunan pada kadar garam 40-

80 ppt dan pada kadar garam 80-100 ppt tidak dapat tumbuh sama sekali.

Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisiologi suatu bakteri hasil isolasi. Uji biokimia erat kaitannya dengan proses metabolisme sel bakteri (Dewi *et al.*, 2022). Pengamatan sitrat dan urea dicatat setelah masa inkubasi 48 jam, sedangkan untuk fermentasi karbohidrat selama 4-7 hari. Perbedaan lama masa inkubasi karena setiap bakteri memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespons pengujian biokimia (Rathakrishnan & Gopalan 2022). Hasil pengujian biokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Uji oksidase digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim oksidase. Terjadinya perubahan warna pada kertas oksidase menunjukkan adanya enzim oksidase (Marzuki, 2019). Enzim oksidase ini merupakan salah satu enzim yang dihasilkan oleh bakteri aerob (Volk & Wheeler 1993). Uji katalase bertujuan untuk mengetahui adanya enzim katalase yang dihasilkan bakteri untuk memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Hasil positif dari pengujian katalase ditandai dengan adanya gelembung setelah ditetesi larutan H_2O_2 . Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan racun yang mampu merusak sistem metabolisme bakteri. Bakteri

Tabel 2 Karakteristik biokimia isolat bakteri

Karakterisasi biokimia	Isolat					
	AB.1.1	AB.1.2	AB.2.3	AB.2.4	AB.2.5	AB.3.6
Uji Katalase	+	+	+	+	+	+
Uji Oksidase	+	-	+	-	+	-
Sitrat	+(1d)	-(2d)	+(1d)	-(2d)	-(2d)	-(1d)
Urease	-(2d)	+(2d)	-(2d)	-(2d)	+(3d)	+(2d)
Sukrosa	+(1d)	+(1d)	+(1d)	+(2d)	+(2d)	+(1d)
Glukosa	+(1d)	+(1d)	+(1d)	+(2d)	+(1d)	+(1d)
Manitol	+(1d)	+(2d)	+(1d)	+(2d)	+(3d)	+(3d)
Xilosa	-(3d)	+(3d)	-(3d)	-(2d)	-(5d)	-(5d)
Maltosa	+(1d)	+(2d)	+(1d)	+(2d)	+(1d)	+(2d)
Laktosa	-(1d)	+(2d)	-(3d)	+(2d)	+(4d)	+(2d)

Keterangan: d=hari

akan mengalami kematian apabila tidak bisa memecah H_2O_2 menggunakan enzim katalase menjadi senyawa lain yang tidak berbahaya. Mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob dapat menguraikan H_2O_2 (Pulungan & Tumangger, 2018). Tiga isolat mampu menghasilkan enzim oksidase dan enzim katalase, yaitu AB.1.1, AB.2.3 dan AB.2.5. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga isolat tersebut merupakan bakteri aerob.

Hasil positif simon sitrat ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru, sedangkan jika hasilnya negatif tidak mengalami perubahan warna (Marzuki, 2019). Hasil dari penelitian ini isolat AB.1.1 dan AB.2.3 menunjukkan hasil positif karena mengalami perubahan warna pada media. Pengujian sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi (Dewi *et al.*, 2018).

Uji urease dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim urease dengan mengubah urea menjadi amonia. Uji urease dinyatakan positif apabila terjadi perubahan warna pada media menjadi merah muda dan tetap berwarna kuning apabila negatif (Marzuki, 2019). Amonia akan menyebabkan suasana menjadi basa sehingga media akan berubah warna menjadi merah muda (Fallo & Sine 2016). Berdasarkan penelitian isolat AB.1.2, AB.2.5, dan AB.3.6 mampu menghasilkan enzim urease.

Pengujian fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat menjadi asam-asam organik. Bakteri yang dapat memfermentasi karbohidrat ditandai dengan adanya perubahan warna dari merah menjadi kuning (Marzuki, 2019). Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat memiliki waktu yang bervariasi. Hasil yang diperoleh yaitu bakteri mampu memfermentasi sukrosa, glukosa, manitol dan maltosa dan hanya beberapa isolat yang mampu memfermentasi xilosa dan laktosa.

KESIMPULAN

Isolat murni bakteri dari tambak garam UTM terdapat enam macam dengan kode AB.1.1, AB.1.2, AB.2.3, AB.2.4, AB.2.5 dan AB.3.6. Isolat AB.1.2, AB.2.4, AB.2.5 dan AB.3.6 merupakan isolat bakteri halofilik, sedangkan isolat AB.1.1 dan AB.2.3 merupakan bakteri halotoleran. Isolat yang diperoleh memiliki bentuk koloni bergelombang, dengan sebagian besar berwarna putih buram, memiliki tekstur yang beragam mulai dari kering, rapuh, berlendir hingga tembus pandang. Keseluruhan isolat selnya berbentuk kokus dengan 2 Gram positif dan 4 Gram negatif. Hasil uji biokimia diperoleh 3 isolat termasuk golongan bakteri aerob berdasarkan uji katalase dan oksidase. Hanya isolat halotoleran yaitu AB.1.1 dan AB.2.3 yang mampu menghasilkan enzim sitrat, sedangkan isolat halofilik AB.1.2, AB.2.5 dan AB.3.6 mampu menghasilkan enzim urease. Keseluruhan isolat mampu memfermentasi sukrosa, glukosa, manitol dan maltosa dan hanya ada beberapa isolat yang mampu memfermentasi xilosa dan laktosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Trunojoyo Madura melalui Program Hibah Penelitian Mandiri UTM 2022 dengan nomor kontrak penelitian 394 UN46.4.1/PT.01.03/2022

DAFTAR PUSTAKA

- Arisandi, A., Wardhani, M. K., Badami, K., & Sopiyan, A. (2017). Pengaruh perbedaan salinitas terhadap viabilitas bakteri *Pseudomonas* spp. *Jurnal Ilmiah Rekayasa*, 10(1), 16-22.
- Budiharjo, R., Sarjono, P. R., & Asy'ari, M. (2017). Pengaruh konsentrasi NaCl terhadap aktivitas spesifik protease ekstraseluler dan pertumbuhan bakteri halofilik isolat bittern tambak garam Madura. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 142-145.
- Canseco, J. H., Cruz, A. B., Mendosa, S. S., Balanos, T. A., & Patricia, S. S. M. (2022). Plant growth-promoting halobacteria

- and their ability to protect crops from abiotic stress: An eco-friendly alternative for saline soils. *Agronomy*, 12(4),1-22.
- Dajoh, T., Bara, R. A., Angkouw, E., Ongku, M., Lintang, R. A. J., & Lumenta, C. (2020). Uji aktivitas antibakteri dan anti UV *Phyllidiella nigra* dan bakteri simbiotiknya dari Perairan Tanjung Mandolang. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 8(2), 61-71.
- Dewi, K., Pringgenis, D., Haeruddin, & Muchlissin, S. I. (2018). Fenomena bioluminesensi (*Harpadon nehereus*) berasal dari bakteri luminesen. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 451-459.
- Dewi, K., Asih, E. N. N., Fitri, D. A., & Astutik, S. (2022). Karakterisasi fisiologis isolat bakteri halofilik dari kolam Peminihan tambak garam rakyat di Kabupaten Pamekasan. *Juvenil*, 3(3), 79-84.
- Dussault, H. P. (1955). An improved technique for staining red halophilic bacteria. *J. Bacteriol.*, 70(1), 484-485.
- Fallo, G., & Sine, Y. (2016). Isolasi dan uji biokimia bakteri selulolitik asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.). *Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(2), 27-29.
- Fitri, D. A., Asih, E. N. N., Kartika, A. G. D., Agustina, N., Fadholi, B., Dewi, K., & Effendy, M. (2022). Morphological characteristics of halophilic bacteria in traditional salt production. *Journal Of Marine Resources And Coastal Management*, 3(1), 1-7.
- Fitri, L. & Yasmin, Y. (2011). Isolasi dan pengamatan morfologi koloni bakteri kitinofilik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi Edukasi*, 3(2), 20-25.
- Gaffney, E. M., Simoska, O., & Minter, S. D. (2021). The use of electroactive halophilic bacteria for improvements and advancements in environmental high saline biosensing. *Biosensors*, 11(1), 48-55.
- Marihati, Harihastuti, N., Muryati, Nilawati, Eddy, E., & Danny, W. H. (2014). Penggunaan bakteri halofilik sebagai biokatalisator untuk meningkatkan kualitas dan produktivitas garam NaCl di meja kristalisasi. *Jurnal Riset Industri*, 8(3),191-196.
- Marzuki, I. (2019). Aplikasi mikrosimbion spon dalam bioremediasi lingkungan. CV. Tohar Media.
- Nilawati, Marihati, Susdawanita, & Setianingsih, N. I. (2015). Kemampuan bakteri halofilik untuk pengolahan limbah industri pemindangan ikan. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 5(2), 23-28.
- Pulungan, A. S. & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit penghasil enzim katalase dari daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume). *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 5(1), 72-80.
- Rahman, S. S., Sidique, R., & Tabassum, N. (2017). Isolation and identification of halotolerant soil bacteria from coastal Patenga Area. *BMC Research Note*, 10(1), 1-6.
- Rathakrishnan, D., & Gopalan, A. K. (2022). Isolation and characterization of halophilic isolats from indian salterns and their screening for production of hydrolitic enzymes. *Elsevier*, 6(1), 1-10.
- Sari, D. P., Amir, H., & Elvia, R. (2020). Isolasi bakteri dari tanah tempat pembuangan akhir (TPA) air sebakul sebagai agen biodegradasi limbah plastik polyethylene. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 4(2), 98-106.
- Sunatmo, T. I. (2007). Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium. Penerbit Ardy Agency.
- Tiquia, S. M., Davis, D., Gadid, H., Kasparian, S., Ismail, M., Sahly, R., Shim, J., Singh, S., & Murray, K. S. (2007). Halophilic and halotolerant bacteria from river waters and shallow groundwater along the Rouge River of southeastern Michigan. *Environmental technology*, 28(3), 297-307. <https://doi.org/10.1080/09593332808618789>
- Ventosa, A., Nietto, J. J., & Oren, A. (1998). Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiol Mol Biol. Rev.*, 62(2), 504-544.
- Volk, W. A., & Wheeler, M. F. (1993). Mikrobiologi Dasar. Erlangga.

Waluyo, L. (2007). Mikrobiologi umum. UMM Press.

Wantania, L. L., Ginting, E. L., & Wullur, S. (2016). Isolasi bakteri simbiosis dengan spons dari Perairan Tongkeina, Sulawesi Utara. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 3(1), 57-65.

Figure 3 Test results of halotolerant bacteria; (A) Halotolerant bacteria (able to grow in media with and without salt content); (B) Halophilic bacteria (grow only in media with salt)

Table 1 Confirmation tests of halophilic and halotolerant bacteria and morphological characteristics of bacterial isolates

Table 2 Biochemical characteristics of bacterial isolates

FIGURE AND TABLE TITLES

Figure 1 Sampling location map

Figure 2 Bacterial isolates; Isolates AB.1.1 and AB.1.2 were obtained from location 1 with dilution 10^{-5} ; isolates AB.2.3 obtained from location 2 with dilution 10^{-6} ; AB.2.4 and AB.2.5 were obtained from location 2 with dilution 10^{-7} , and AB.3.6 obtained from location 3 with dilution 10^{-7}