

**KARAKTERISASI FISILOGIS ISOLAT BAKTERI HALOFILIK DARI KOLAM PEMINIHAN  
TAMBAK GARAM RAKYAT DI KABUPATEN PAMEKASAN**  
*PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HALOPHILIC ISOLATES FROM PURIFICATION WATER OF  
TRADITIONAL SALT POND, PAMEKASAN REGENCY*

**Kartika Dewi\*, Eka Nurrahema Ning Asih, Dewi Anugrah Fitri, Sri Astutik**

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

\*Corresponding author, e-mail: kartika.dewi@trunojoyo.ac.id

Submitted: 04 October 2022 / Revised: 04 November 2022 / Accepted: 04 November 2022

<http://doi.org/10.21107/juvenil.v3i3.17074>

**ABSTRAK**

Kelompok bakteri slight halofilik dapat ditemukan di air laut pada kolam peminihan yang menjadi bahan baku utama dalam pembuatan garam di Pamekasan-Madura. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik biokimia isolat bakteri halofilik yang di isolasi dari kolam peminihan pada tambak garam rakyat di Pamekasan-Madura. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pengujian biokimia bakteri halofilik meliputi pewarnaan Gram, uji indol, katalase, dan oksidase, uji metil red, uji Voges Proskauer, asimilasi citrat, dan uji pemanfaatan sumber karbon. 3 isolat berhasil ditumbuhkan dalam media padat halophile menggunakan kadar garam sebesar 1% dengan kode P.P.1, P.P.2 dan P.P.3. Hasil uji indol ketiga isolat bakteri halofilik P.1, P.2 dan P3 menunjukkan hasil uji indol negatif. Sumber karbon yang digunakan bakteri tersebut diantaranya glukosa, sukrosa dan mallosa dengan uji O/F, fermentative untuk isolat P.P.1 dan P.P.3 sedangkan non fermentatif untuk isolate P.P.2. Uji MR-VP menunjukkan hasil negatif untuk ke tiga isolat tersebut. Uji katalase dan uji oksidasi masing-masing isolat menunjukkan hasil positif, sehingga isolat P.P.1, P.P.2 dan P.P.3 termasuk bakteri aerob.

**Kata kunci:** slight halofilik, kolam peminihan, uji biokimia

**ABSTRACT**

A diverse group of slight halophilic bacteria can be found in saline environment such purification water of traditional salt production Pamekasan-Madura. The aim of this study was biochemical characterization of the halophilic bacteria isolated from traditional salt pond Pamekasan- Madura. The biochemical characterization were done using standart methodes which included indole test, catalase and oxidase activities, methyl red test, Voges-Proskauer (VP) test, citrate utilization test and carbohydrates utilisation . 3 isolates, P.P.1, P.P.2 and P.P.3 were successfully grown in halophile agar plates containing 1% of total salt. All of these isolates were negative for indole production and MR-VP test, but were positive for catalase and oxidase activities. The carbon sources used by these isolates included glucose, sucrose and mallose with the O/F test was fermentative for P.P.1 and P.P.3 while non-fermentative for P.P.2. All of these isolates were identified as aerob bacteria.

**Keyword:** slight halophilic, purification water, biochemical characterization

**PENDAHULUAN**

Luas wilayah laut Indonesia mencapai 3.257.357 km<sup>2</sup> (Saksono, 2013) memiliki sumberdaya hayati berupa air laut dan keanekaragaman mikroba yang melimpah salah satunya bakteri halofilik. Air laut mengandung 3,5% mineral garam diantaranya klorida, natrium, sulfat, magnesium dan kalsium (Burhan *et al.*, 2021). Bakteri halofilik

merupakan bakteri yang membutuhkan mineral garam yang terkandung dalam air laut untuk hidup secara optimal (Davis, 2006). Bakteri halofilik merupakan kelompok bakteri unik yang hidup pada perairan dengan salinitas tertentu. Bakteri ini yang tergolong dalam mikroorganisme domain *archaeobacteria* merupakan mikroorganisme yang membutuhkan kondisi salin untuk hidup (Pooja dan Gopal, 2011). Bakteri halofilik

diklasifikasikan tiga kelompok meliputi halofil rendah, halofil sedang dan halofil ekstrim (Das Sarma, 2001). Pengelompokan bakteri halofilik berdasarkan kemampuan untuk beradaptasi dalam air laut khususnya pada kadar NaCl tertentu diantaranya kelompok halofil rendah dengan 1-3% kadar garam, halofil sedang 3-15% kadar garam dan halofil ekstrim dengan kadar garam 15-30% (Gaffney *et al.*, 2021). Kemampuan bakteri halofilik yang mampu bertahan hidup di kondisi perairan *saline* diprediksi bahwa kelompok bakteri ini memiliki karakter dan sifat biokimia yang unik dibandingkan kelompok bakteri lainnya.

Sumberdaya air laut yang melimpah di Indonesia khususnya di Kabupaten Pamekasan-Madura menjadi peluang besar untuk mendapatkan sediaan bakteri halofilik. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki potensi besar untuk dimanfaatkan di bidang bioteknologi dan peningkatan kualitas pangan khususnya garam. Keberadaan bakteri halofilik di tambak garam dapat membantu mempercepat proses pembentukan kristal garam (Javor, 2002). Bakteri ini juga mampu dijadikan sebagai agen biokatalisator untuk meningkatkan kualitas dengan kandungan NaCl 98,116% dan produktivitas lahan 84 ton garam/Ha/musim (Marihati *et al.*, 2014). Pigmen merah yang dihasilkan bakteri ini juga mampu memproduksi senyawa NaCl pada garam dengan tingkat kemurnian tinggi >94% (Oren, 2010). Pemanfaatan bakteri halofilik di bidang bioteknologi dapat digunakan untuk meningkatkan produksi biosurfaktan skala laboratorium (Yuliana *et al.*, 2019). Bakteri ini juga memiliki kemampuan untuk mendegradasi limbah industri pemindangan ikan yang optimal selama 6 hari (Nilawati *et al.*, 2015).

Pemanfaatan dan pengujian bakteri halofilik sebagai agen biologis di beberapa bidang telah dilakukan di beberapa lokasi di Indonesia, namun pemanfaatan bakteri halofilik dari perairan Pamekasan Madura belum pernah dilakukan khususnya bakteri halofilik rendah. Kabupaten Pamekasan merupakan salah satu kabupaten penghasil garam di pulau Madura yang terpusat di Kecamatan Galis, Pademawu dan Tlanakan (Efendy *et al.*, 2014). Air laut sebagai bahan produksi garam umumnya memiliki biodiversitas bakteri halofilik rendah cukup tinggi dan bersifat unik. Hasil penelitian

Agustina *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa air baku dan air bouzem untuk produksi garam memiliki kelompok bakteri halofilik rendah yang mudah untuk di isolasi dan menghasilkan pigmen putih tulang. Secara umum bakteri halofilik rendah yang diamati dan di teliti belum dilakukan proses karakterisasi dan pengujian biokimia bakteri. Pengujian karakterisasi dan uji biokimia bakteri halofilik rendah perlu dilakukan untuk mendapatkan informasi tentang sifat-sifat fisiologis koloni bakteri halofilik rendah hasil isolasi tersebut. Informasi sifat fisiologi ini merupakan informasi awal yang dapat digunakan sebagai rujukan dan dasar jenis bakteri halofilik rendah *indigenous* khususnya dari perairan Pamekasan. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi karakter dan sifat-sifat fisiologis koloni bakteri halofilik rendah (*slight halophilic*) dari perairan kabupaten Pamekasan. Data hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan rujukan dan informasi awal terkait karakter dan sifat fisiologis bakteri halofilik rendah yang kedepannya dapat dimanfaatkan dan dikembangkan untuk keperluan bioteknologi lanjutan.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan April Tahun 2022. Pengambilan data dilakukan dengan metode eksperimental di Laboratorium Bioteknologi Laut, Fakultas Pertanian, Universitas Trunojoyo Madura. Sampel air laut dari kolam peminihan tambak garam sebanyak 10 ml diperoleh dari Tambak Garam Rakyat, Desa Tanjung, kecamatan Pademawu, Pamekasan (Gambar 1) dengan titik koordinat -7,230603, 113,537369 Air Peminihan. Sampel air peminihan (kode isolat P) dimasukkan ke dalam tabung ulir dan disimpan di dalam cool box yang berisi es. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk penelitian lebih lanjut. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, bahan pembuatan media isolasi bakteri halofilik yang terdiri dari TSB agar, NaCl, MgSO<sub>4</sub>, KCl, MgCl<sub>2</sub>, air suling Aquades dan bahan-bahan untuk uji biokimia yaitu alkohol 70% , senyawa kovacks, pereaksi oksidasi, reagen H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> medium MR, medium VP, medium urea, medium acid, medium sitrat, medium glukosa, laktosa, sukrosa, maltose. Alat yang digunakan adalah autoclave, cawan petri, jarum ose, bunsen, erlenmeyer tabung reaksi, tabung durham, spreader, vortex, mikropipet dan microtip.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

### Karakterisasi Bakteri Halofilik

Air laut dari kolam peminihan diambil sebanyak 1 ml untuk dijadikan sampel seri pengeceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-5}$ , kemudian ditanam dalam media *slight halophiles* dengan kadar garam sebesar 1%. Media diinkubasi selama 48 jam, kemudian setelah 48 jam cawan petri dipantau pertumbuhan koloninya. Koloni yang tumbuh pada media *slight halophile* dipilih berdasarkan perbedaan morfologi dan warna kemudian diinokulasikan ke dalam media baru dengan metode streak quadran, selanjutnya dilakukan purifikasi hingga didapatkan koloni tunggal bakteri halofilik untuk dipelajari karakteristik biokimianya. Karakterisasi biokimia dari bakteri meliputi pewarnaan Gram, uji indol, katalase, dan oksidase, uji metil red, uji Voges Proskauer, asimilasi citrat, dan uji

pemanfaatan sumber karbon dengan mengikuti metode standar (Colome, 2001).

### HASIL DAN PEMBAHASAN Isolat bakteri halofilik

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari karakterisasi morfologi bakteri halofilik pada air produksi garam tradisional (Dewi, et al., 2022), pada kolam peminihan didapatkan 3 isolat bakteri halofilik dari seri pengeceran ke-5 dan 6 dari sampel air laut kolam peminihan tambak garam yaitu P.P.1, P.P2 dan P.P.3. Hasil pengeceran disebarakan pada media padat *slight halophiles* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $28-30^{\circ}$ . Hasil karakteristik morfologi dari isolat P.P.1, P.P2 dan P.P.3 berdasarkan Dewi et al., (2022) tersaji pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Halofilik Air Peminihan

Karakteristik	Isolat Bakteri Halofilik		
	P.P.1	P.P.2	P.P.3
Warna dan Opacity	Putih tulang, tidak transparan	Putih tulang, transparan	Putih kekuningan, tidak transparan
Bentuk	Circular	Filamentous	Irregular
Margin	Entire	Filiform	Undulate
Elevasi	Raised	Flat	Raised
Permukaan	Halus	Halus	Halus

Keterangan: P= Air Peminihan  
(Sumber: Dewi *et al.*, 2022)

Bakteri yang tumbuh di media halofilik berisi 1% kadar garam membuktikan bahwa bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri halofilik rendah. Bakteri halofilik merupakan bakteri yang membutuhkan garam untuk hidup secara optimal (Davis, 2006). Bakteri halofilik diklasifikasikan menjadi tiga kelompok berdasarkan tingkat kebutuhan kadar garam, yaitu halofil rendah dengan 1-3%, halofil sedang 3-15% dan halofil ekstrim dengan kadar garam 15-30% (Gaffney *et al.*, 2021). Berdasarkan konsentrasi garam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berkisar 1% maka, isolat bakteri P.P1, P.P2, dan P.P3 termasuk kedalam kelompok bakteri halofilik rendah (*slight halophiles*).

Identifikasi bakteri meliputi deskripsi sifat morfologi dan sifat fisiologis bakteri (Liempepas, 2019). Bakteri halofilik rendah sebagai bakteri unik memiliki kemampuan mempertahankan konsistensi dinding sel terhadap tekanan senyawa mineral garam pada air laut. Karakter unik ini perlu diuji dan diamati dengan menggunakan uji biokimia bakteri halofilik. Uji biokimia merupakan uji yang dilakukan untuk melihat sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi. Biokimia bakteri berhubungan dengan proses metabolisme sel bakteri (Gobbetti, 2005). Informasi sifat fisiologis ini merupakan informasi awal yang dapat digunakan sebagai rujukan dan dasar jenis bakteri halofilik *indigenous* khususnya dari perairan Pamekasan.

**Tabel 2.** Karakteristik biokimia bakteri halofilik air peminihan tambak garam

Karakterisasi Biokimia	Hasil		
	Isolat P.P.1	Isolat P.P.2	Isolat P.P.3
Gram	Gram Negatif	Gram Positif	Gram Positif
TSI Agar	A/A	K/A	K/A
Katalase	+	+	+
Oksidasi	+	+	+
O/F	F	N	F
Glukosa	+	+	+
Laktosa	-	-	-
Sukrosa	+	+	+
Malloso	+	+	+
Manitol	+	+	+
Salicin	+	+	+
Inositol	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
arabinosa	+	+	+
Dulcitol	-	-	-
trehalosa	+	+	+
Xylosa	-	+	-
Gelatin	+	+	+
Motility	+	-	+
Indol	-	-	-
Simmons Citrate	-	-	-
Methyl Red (MR)	-	-	-
VP	-	-	-
Lysine Decarboxylase	-	-	-
ornithine decarboxylase	-	-	-

Bakteri halofilik dapat dibedakan menjadi Gram Negatif atau Gram Positif, berbeda dengan bakteri halofilik ekstrim yang hanya terdiri atas bakteri Gram Positif saja (Ventosa *et al.*, 1998). Isolat P.P.1 merupakan bakteri Gram Negatif sedangkan isolat P.P.2 dan P.P.3 adalah kelompok bakteri Gram Positif. Hasil uji indol ketiga isolat bakteri halofilik air peminihan, isolat P.1, P.2 dan P3 menunjukkan hasil uji indol negatif artinya bahwa bakteri ketiga isolat halofilik ini tidak

membentuk indol dari asam amino triptofan sebagai sumber karbon. Berdasarkan uji biokimia fermentasi polisakarida, sumber karbon yang digunakan oleh isolat-isolat tersebut adalah glukosa, sukrosa dan malloso dengan uji O/F *fermentative* untuk isolat P.P.1 dan P.P.3 sedangkan non fermentatif untuk isolat P.P.2. Bakteri Halofilik berwarna merah ekstrim mampu mengimbangi tekanan osmotik ekstraseluler yang lebih tinggi, dengan memanfaatkan sifat biokimia yang dimiliki

bakteri tersebut dalam mengakumulasi polisakarida, peptida, protein dan senyawa-senyawa organik lain seperti gliserol, glisin, betain (Roberts, 2005). Sehingga bakteri halofilik mampu menjaga tekanan osmotik dari garam dengan sifat biokimia dari sel mereka.

Uji MR negatif artinya isolat P.P.1, P.P.2 dan P.P.3 tidak menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam MR-VP. Uji VP negatif menunjukkan bahwa hasil akhir fermentasi dari isolat-isolat bakteri halofilik ini bukan asetil metil karbinol (asetolin). Katalase positif menunjukkan bakteri ini memiliki enzim katalase (Colome, 2001). Uji katalase masing-masing isolat P.P.1, P.P.2 dan P.P.3 menunjukkan hasil positif, begitu juga untuk uji oksidasi. Enzim katalase digunakan oleh bakteri untuk memecah  $H_2O_2$ .  $H_2O_2$  merupakan hasil respirasi aerobik yang bersifat racun bagi bakteri, oleh sebab itu bakteri akan mengkatalis senyawa tersebut dengan enzim katalase tersebut (Volk dan Wheeler, 1993). Hasil uji katalase dan oksidase dari isolat P.P.1, P.P.2 dan P.P.3 dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri aerob. Menurut Ventosa et al., 1998, respirasi bakteri halofilik non ekstrim adalah aerob atau anaerob fakultatif.

Karakterisasi kemampuan bakteri halofilik rendah dalam uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis bakteri. Informasi ini dibutuhkan sebagai informasi awal untuk pemanfaatan bakteri halofilik dalam memperbaiki mutu dan kuantitas garam yang dihasilkan dari tambak garam rakyat Pamekasan-Madura. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa Halofilik memegang peranan penting dalam proses pembentukan inti kristal NaCl. Kemampuan tersebut membantu pembentukan kristal NaCl akan terbentuk lebih cepat daripada endapan atau pembentukan senyawa lain, sehingga meminimalkan kopresipitasi. Pembentukan dan perkembangan kristal garam sangat dipengaruhi oleh proses nukleasi kristal garam (Lopez-cortes dan Ochoa, 1998). Peran bakteri halofilik merah ekstrim dalam proses pembentukan garam memberikan kontribusi yang signifikan yaitu menghasilkan garam NaCl dengan kemurnian tinggi sebesar lebih dari 94% (Oren, 2010). Sehingga, penelitian tentang bakteri halofilik memegang peranan penting dalam pemanfaatan bakteri halofilik dibidang bioteknologi terutama peningkatan kualitas garam tambak rakyat yang ada di Indonesia.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Bakteri halofilik isolat P.P.1, P.P.2 dan P.P.3 merupakan bakteri halofilik rendah atau *slight halophiles* yang mampu hidup di media padat *halophile* dengan kadar garam total sebesar 1%. Hasil uji indol ketiga isolat bakteri halofilik P.1, P.2 dan P3 menunjukkan hasil uji indol negatif. Sumber karbon yang digunakan bakteri tersebut diantaranya glukosa, sukrosa dan mallosa dengan uji O/F, *fermentative* untuk isolat P.P.1 dan P.P.3 sedangkan non fermentatif untuk isolat P.P.2. Uji MR-VP menunjukkan hasil negatif untuk ke tiga isolat tersebut. Uji katalase dan uji oksidasi masing-masing isolat menunjukkan hasil positif, sehingga bakteri halofilik isolat P.P.1, P.P.2 dan P.P.3 merupakan bakteri aerob.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Trunojoyo Madura melalui Program Hibah Penelitian Mandiri UTM 2021 dengan nomor kontrak penelitian: 3217/UN46.4.1/PT.01.03/2021.

## DAFTAR PUSTAKA

- A.Volk, W., & F.Wheeler, M. (1988). *Mikrobiologi Dasar*. (S. Adisoemarto, Ed.) (Edisi 5). Jakarta: Erlangga.
- Budiharjo, R., Purbowatiningrum, S. R., dan Mukhammad, A. (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.
- Burhan., Suherman., dan P.H. Abram (2021). Penentuan Kadar Natrium (Na) dan Kalsium(Ca) Pada Air Laut Desa Posona. *Media Eksakta*, 17(1), 57-61.
- Colome JS. 2001. *Laboratory Exercises in Microbiology*. New York (USA): West Publishing Company.
- Das Sarma, S. dan Arora, P. (2001). *Halophiles*. Encyclopedia of life science. pp 1-9.
- Efendy, M., Sidik R.F., Muhsoni F.F. (2014). Pemetaan Potensi Pengembangan Lahan Tambak Garam di Pesisir Utara Kabupaten Pamekasan. *Jurnal Kelautan*, 7(1), 1-11.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., & Di Cagno, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 57-69.
- Fitri, D. A., Asih. E.N.N., Kartika. A.G.D.,

- Agustina. N., Fadholi. B., Dewi. K., dan Efendy. M. (2022). Morphological characteristics of halophilic bacteria in traditional salt production. *Journal of Marine Resources and Coastal Management*, 3(1), 1–7.
- Gaffney, E.M., Simoska, O., Minteer, S.D. 2021. The Use of Electroactive Halophilic Bacteria for Improvements and Advancements in Environmental High Saline Biosensing. *Biosensors*, 11(1), 48-55.
- Javor, B.J. (2002). Industrial microbiology of solar salt production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 28, 42-47.
- Joseph, S., Davis. (2006). Biological and Physical Management Information for Commercial Solar Saltworks. *Proceedings of the 1st International Conference on the Ecological Importance of Solar Saltworks (CIESSA06) Santorini Island Greece*, 5-14.
- Liempepas, A., Lolo, W. A., & Yamlean, P. V. 2019. Isolasi Dan Uji Antibakteri Dari Isolat Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons Callyspongia aerizusa Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmakon*, 8(2), 380- 387.
- Lopez-Cortes, L.A., Ochoa, L.J. (1998). The Biological Significance of Halobacteria on Nucleation and Sodium Chloride Crystal Growth. Elsevier science B.V. *Studies in Surface Science and Catalysis*, 120, 903-922.
- Marihati, Harihastuti, N., Muryati, Nilawati, Syarifudin E., dan Danny W. H. (2014). Penggunaan Bakteri Halofilik Sebagai Biokatalisator Untuk Meningkatkan Kualitas Dan Produktifitas Garam NaCl Di Meja Kristalisasi. *Jurnal Riset Industri*, 8(3), 191 – 196.
- Nilawati, Marihati, Susdawanita dan Setianingsih. N.I. (2015). Kemampuan Bakteri Halofilik untuk Pengolahan Limbah Industri Pemindangan Ikan. *Jurnal Riset Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri*, 5(2), 23 – 28.
- Oren, A. (2010). Thoughts on the “Missing Link” Between Saltworks Biology and Solar Salt Quality. *Global NEST Journal*, 2(4), 417-425.
- Pooja, S. dan Gupta, M. (2011). Halophilic bacteria and their compatible solutes osmoregulation and potential application. *Current science*, 100(10), 1516-1521.
- Roberts, M.F. (2005). Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganism. *Saline systems*, 1(5), 1-30.
- Saksono, H. (2013). Ekonomi Biru: Solusi Pembangunan Daerah Berciri Kepulauan Studi Kasus Kabupaten Kepulauan Anambas. *Jurnal Bina Praja*, 5(1), 1 – 12.
- Ventosa, A., Nieto, J.J. dan Oren, A. 1998. Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiol.Mol. Biol. Rev.* 62, 504-544
- Yuliana, C., Hertadi, R., Wahyuningrum, D. (2019). Produksi dan Optimasi Biosurfaktan dari Bakteri Halofilik *Chromohalobacter japonicus*. *Chemical Engineering Research Articles*, 2(2), 56-65.