Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

EKSPLORASI MIKROFLORA ALAMI CAIRAN *Nepenthes mirabilis* (Lour) Druce DI KAWASAN HUTAN PENELITIAN DAN PENDIDIKAN BIOLOGI UNIVERSITAS ANDALAS

Hania Titami[1], Periadnadi[2]*, & Nurmiati[3]
[1,2,&3]Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Limau Manis, Padang, Sumatera Barat 25175, Indonesia
**Email: periadnadi@sci.unand.ac.id*
Submit: 04-04-2024; Revised: 09-06-2024; Accepted: 13-06-2024; Published: 30-06-2024

ABSTRAK: Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman flora dan fauna, salah satu flora unik yang ada di Indonesia adalah *Nepenthes*. Kantong ini berfungsi untuk menjebak serangga atau hewan-hewan kecil lainnya, Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) terletak di kawasan kampus Universitas Andalas Limau Manis yang tergolong hutan hujan tropis dataran rendah yang merupakan habitat dari *Nepenthes*, di dalam Pendidikan Biologi dan Hutan Penelitian (HPPB) jenis tanaman kantong semar yaitu *Nepenthes mirabilis*. *Nepenthes mirabilis* merupakan tumbuhan yang mampu mencerna serangga yang terperangkap pada kantong di ujung sulur daunnya, sehingga tergolong tumbuhan karnivora. Mikroorganisme berperan penting dalam menguraikan bahan organik menjadi bahan anorganik yang tersedia bagi tanaman. Jenis bakteri dan populasi bakteri sangat menentukan proses pembusukan hewan yang terperangkap di dalam kantong sebagai sumber nutrisi bagi tanaman *Nepenthes*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mikroflora alami cairan *Nepenthes mirabilis*, mengetahui proporsi keberadaan bakteri potensial, dan mengetahui potensi in vitro bakteri kitinolitik dari cairan *Nepenthes mirabilis*. Penelitian ini menggunakan metode survei yang dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cairan *Nepenthes mirabilis* mengandung bakteri Fermentatif, Amilolitik, Proteolitik, Kitinolitik dan Lipolitik. Cairan *Nepenthes mirabilis* dalam kantong terbuka mengandung bakteri kitinolitik, keberadaan bakteri kitinolitik tertinggi terdapat pada sampel MBB (20.104 cfu/ml) dan sampel MBA (18.104 cfu/ml). 0,28), fermentatif (2,33 dan 2,00), amilolitik (1,42 dan 1,28), proteolitik (2,00 dan 2,00), lipolitik (1,75 dan 1,28).

Kata Kunci: *Nepenthes mirabilis* (Lour) Druce, Kitinolitik, Potensi *In Vitro*.

ABSTRACT: *Indonesia is a country that is rich in flora and fauna diversity, one of the unique flora in Indonesia is Nepenthes. This bag serves to trap insects or other small animals, the Biology Education and Research Forest (HPPB) is located in the Andalas Limau Manis University campus area which is classified as lowland tropical rain forest which is the habitat of Nepenthes, in the Biology Education and Research Forest (HPPB) this type of pitcher plant, namely Nepenthes mirabilis. Nepenthes mirabilis is a plant that is able to digest insects trapped in pockets at the ends of its leaf tendrils, so it is classified as a carnivorous plant. Microorganisms play an important role in breaking down organic materials into inorganic ones available to plants. Types of bacteria and bacterial populations greatly determine the decomposition process of animals that have been trapped in the bag as a source of nutrients for Nepenthes plants. This study aims to explore the natural microflora of Nepenthes mirabilis fluids, determine the proportional presence of potential bacteria, and determine the in vitro potential of chitinolytic bacteria from Nepenthes mirabilis fluids. This study used a survey method which was analyzed descriptively. The results showed that Nepenthes mirabilis fluid contained the presence of Fermentative, Amylolytic, Proteolytic, Chitinolytic and Lipolitical bacteria. Nepenthes mirabilis liquid in open bags contained chitinolytic bacteria, the highest presence of chitinolytic bacteria was found in MBB samples (20,104 cfu/ml) and MBA samples (18,104 cfu/ml). .28), fermentative (2.33 and 2.00), amylolytic (1.42 and 1.28), proteolytic (2.00 and 2.00), lipolytic (1.75 and 1.28).*

Keywords: *Nepenthes mirabilis (Lour) Druce, Chitinolytic, Potency In Vitro.*

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

How to Cite: Titami, H., Periadnadi, P., & Nurmiati, N. (2024). Eksplorasi Mikroflora Alami Cairan *Nepenthes mirabilis* (Lour) Druce di Kawasan Hutan Penelitian dan Pendidikan Biologi Universitas Andalas. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, *12*(1), 1369-1381. https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.11277

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi *is Licensed Under a CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License*.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman flora dan fauna, salah satu flora unik yang ada di Indonesia adalah kantong semar. Disebut kantong semar karena ujung daunnya termodifikasi menjadi kantong seperti perut buncit semar. Kantong ini sangat menarik, karena bentuk dan warnanya yang cantik. Keunikan kantong semar inilah yang sering dimanfaatkan masyarakat sebagai tanaman hias unik dan obat tradisional. (Chow *et al*., 2021).

Keunikan lain yang dimiliki oleh kantong semar adalah di dalam kantong yang berbentuk corong tersebut terdapat cairan yang didalamnya terdapat berbagai jenis serangga. *Nepenthes* merupakan tumbuhan karnivora. Kantong ini berfungsi untuk menjebak serangga atau hewan kecil lainnya, karena di dalam kantong terdapat kelenjar nektar (kelenjar madu) yang dapat menarik serangga, terutama yang menyukai rasa manis. *Nepenthes* mempunyai permukaan dinding kantong yang halus, sehingga ketika serangga mendekati kantong, serangga tersebut akan terpeleset dan terjebak di dalam kantong (Vidianti *et al*., 2022).

Habitat kantong semar umumnya berada di daerah yang tidak subur dengan kandungan unsur hara (N, P, dan K) rendah, tanah masam dengan pH tanah berkisar antara 2 sampai 4,5 dan tingkat kelembaban tinggi (Clarke *et al*., 2017). Habitat kantong semar di Indonesia dapat ditemukan di padang rumput, hutan rawa gambut, pegunungan karst, hutan pegunungan atas, padang savana, tepi danau dan hutan hujan tropis (Raslina *et al.*, 2018; Wistara *et al.*, 2018).

Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) terletak di kawasan kampus Universitas Andalas Limau Manis yang tergolong hutan hujan tropis dataran rendah yang merupakan habitat dari tanaman *Nepenthes*, di dalam Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) jenis tanaman kantong semar ini adalah ditemukan yaitu *Nepenthes mirabilis*. *Nepenthes mirabilis* adalah salah satu spesies paling terkenal dalam genusnya. Spesies ini melimpah di habitat musiman, seperti rawa-rawa. Tumbuh secara umum di tanah basa dan asam (Handayani, 2017).

Nepenthes mirabilis merupakan tumbuhan yang mampu mencerna serangga yang terperangkap pada kantong di ujung sulur daunnya, sehingga tergolong tumbuhan karnivora. Komponen utama cangkang serangga adalah kitin, sehingga diduga tanaman tersebut bersimbiosis dengan bakteri kitinolitik yang mampu mendegradasi kitin dari kulit serangga yang terperangkap dalam cairan kantong semar tanaman. Menurut penelitian yang dilakukan (Siciliano *et al*., 2021), di dalam cairan kantong semar menganalisis komunitas mikroba, termasuk bakteri, yang terdapat pada cairan kantong semar dari berbagai spesies, dan perannya dalam siklus nutrisi.

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

Habitat atau ekosistem yang sangat menarik untuk diteliti adalah ekosistem mikro yang terdapat pada cairan kantong *Nepenthes mirabilis*. Sejauh ini hanya ada sedikit penelitian mengenai eksplorasi keanekaragaman mikroba dari cairan tanaman kantong semar. Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian mengenai Eksplorasi Mikroflora Alam dari Cairan *Nephentes mirabilis* di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas, serta proporsi kelompok mikroflora dalam cairan kantong semar dan aktivitas mikroba penghasil kitinase yang terkandung dalam cairan kantong semar. Penelitian ini dapat mengungkap komunitas mikroba yang hidup di dalamnya serta interaksinya dengan tanaman inang.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang. Penelitian ini menggunakan metode survei yang hasilnya akan dianalisis secara deskriptif. Sampel diambil dari Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas (HPPB).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu Bahan-bahan: Cairan *Nepenthes mirabilis*, aquades, medium *Colloidal Chitin Agar* (CCA), *Glucose Peptone Agar* (GPA), medium GPA+$CaCO_3$, medium Agar Pati Beras (APB), medium *Skim Milk Agar* (SMA), *Nutrient Agar Modifikasi* (NA modifikasi), medium etanol+$CaCO_3$, *congo red* 1% dan *lugol iodine* 0,5%.

Pengambilan Sampel di Lapangan

Pengambilan sampel cairan kantong semar *Nepenthes mirabilis* dilakukan dengan cara disedot menggunakan alat suntik steril atau dapat juga langsung dituangkan ke dalam vial. Volume yang diambil berkisar 1-20 ml tergantung banyaknya cairan di dalam kantong. Cairan kantong semar diambil dari kantong yang masih tertutup dan sudah terbuka.

Pembuatan Medium

Medium Glucose Peptone Agar (GPA)

Medium ini digunakan untuk melihat total mikroba dengan komposisi 20 g glukosa, 2,5 g pepton, 15 g agar dan 1000 ml aquadest steril. Selanjutnya medium dipanaskan sambil diaduk sampai homogen dan disterilisasi. (Periadnadi dan Nurmiati 2010).

Medium Glucose Peptone Agar (GPA) + Calcium Carbonate ($CaCO_3$)

Medium dengan komposisi 20 g glukosa, 2,5 g pepton, dan 15 g agar. Pada medium GPA modifikasi dilakukan penambahan $CaCO_3$ sebanyak 15 g/L berguna untuk melihat aktivitas mikroba yang menghasilkan asam. Kemudian dicukupkan volumenya dengan aquadest menjadi 1000 ml. Setelah itu medium dimasukkan kedalam erlenmeyer untuk disterilkan (Periadnadi dan Nurmiati, 2010).

Medium Skim Milk Agar (SMA)

Medium SMA merupakan medium selektif untuk melihat dan menguji kemampuan proteolitik suatu mikroba. Komposisi medium SMA yaitu 40 g susu skim dan 15 g agar dalam 1000 ml aquadest. Selanjutnya medium dipanaskan sambil diaduk sampai homogen dan disterilisasi (Fatoni, 2008).

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

Medium Etanol + $CaCO_3$

Medium ini merupakan medium selektif untuk menentukan golongan bakteri (asetat atau laktat). Hanya bakteri asetat yang dapat menggunakan alkohol sebagai sumber C dari media menjadi asam asetat, yang ditandai dengan terbentuknya daerah halo di sekitar koloni. Komposisi medium ini yaitu 50 mL Etanol, 20 g Agar, 15 $CaCO_3$g/L, dan aquades steril. Selanjutnya medium dipanaskan sambil diaduk sampai homogen dan disterilisasi (Periadnadi, 2003).

Medium Agar Pati Beras (APB)

Medium ini merupakan medium selektif untuk menguji kemampuan amilolitik dari suatu mikroba denan komposisi 40 gram tepung beras, 1 gram yeast extract, 20 gram agar yang dicukupkan volumenya menjadi 100 ml dengan aquadest, dihomogenkan dan selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121 ^oC, tekanan 15 lbs Selama 15 menit (Periadnadi, 2005).

Medium Nutrient Agar (NA) Modifikasi

Medium ini dalah medium selektif untuk menguji kemampuan lipolitik suatu mikroba dengan komposisi 23 gram NA dalam aquadest menjadi 1000 ml, ditambahkan 10 gram margarine dengan 0,5 gram *Neutral Red*, lalu dipanaskan sampai homgen. Kemudian disterilisasi (Swandi *et al*, 2015).

Medium Colloidal Chitin Agar (CCA)

Medium ini merupakan medium selektif untuk menguji kemampuan kitinolitik dari suatu mikroba. Komposisi medium Chitin Agar (g/L) adalah (K2HPO4, 0.7; KH2PO4, 0.3; MgSO4. 5H2O, 0.5; FeSO4. 7H2O, 0,01; ZnSO4, 0.001; MnCl2 0.001) ditambahkan dengan 2.0% *moist colloidal chitin* dan 2,0% Bacto Agar, dihomogenkan dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121^oC, tekanan 15 lbs selama 15 menit (Murthy and Bleakley, 2012).

Keberadaan dan Total Mikroflora Alami Pada Cairan *Nepenthes mirabilis*

Masing-masing cairan *Nephentes mirabilis* diencerkan secara bertahap sampai 10^{-6}, dipipet 1 ml pengenceran dengan mikropipet untuk ditanam dalam pour plate dalam cawan petri dengan medium GPA, SMA, GPA+$CaCO_3$, Etanol + CaCO3, CA, NA termodifikasi, dan APB, kemudian diinkubasi pada suhu 37^oC selama 2 x 24 jam, kemudian diamati zona bening (halozone) yang terbentuk untuk melihat potensi dan menghitung secara proporsional keberadaan mikroflora alami Nepenthes mirabilis Cairan yang mempunyai zona bening dan yang tidak mempunyai zona bening dihitung dengan menggunakan *Colony counter*.

Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis secara deskriptif. Adapun parameter yang dianalisis adalah total mikroflora, total bakteri pemfermentasi, total bakteri proteolitik, total bakteri asam laktat dan asam asetat, total bakteri kitinolitik, total bakteri amilolitiik, total bakteri lipolitik

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai Eksplorasi Mikroflora Alami Cairan *Nepenthes mirabilis* (Lour) Druce. Di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas diketahui jumlah total bakteri terbanyak berada pada sampel cairan kantong *Nepenthes mirabilis* adalah pada kantong terbuka. Hal ini dipengaruhi oleh jumlah dan ragam jenis serangga yang terperangkap di dalam

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

kantong tersebut serta jenis eksudat yang dieksresikan tanaman kantong semar ke dalam cairan. Maka didapatkan hasil sebagai berikut:

Keberadaan Mikroflora Cairan *Nepenthes mirabilis* (Lour) Druce.

Berdasarkan hasil penelitian Eksplorasi Mikroflora Alami Cairan *Nepenthes mirabilis* (Lour) Druce. Di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas diperoleh hasil sebagai berikut.

Tabel 1. Total Keberadaan Bakteri Alami dari Cairan *Nepenthes mirabilis*.

No.	Jenis Bakteri	Total Mikroflora (....x10^4 cfu/ml)		
		MT %	MBA%	MBB%
1.	Total Mikroflora	96.0 x 10^4 (100%)	104 x 10^4 (100%)	157 x 10^4 (100%)
2.	Kitinolitik	-	17,3	12,7
3.	Fermentatif	43,7	58,6	70
4.	Proteolytik	32	48	50
5.	Lipolytik	12,5	25	34,6
6.	Amylolytik	31	46,1	47

Keterangan: (MT: *Nepenthes mirabilis* Kantong Tertutup), (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB: *Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa keberadaan bakteri pada cairan kantong dipengaruhi oleh kondisi pada cairan kantong tanaman itu sendiri. Kantong tanaman dapat menghasilkan senyawa yang berperan dalam perombakan serangga yang mati. Kondisi ini tentu dapat mempengaruhi cairan kantong sebagai media tumbuhnya bakteri. Kantong tersebut akan mengeluarkan beberapa senyawa yang berperan dalam merombak atau mendegradasi serangga yang menjadi substrat tanaman tersebut seperti fosfat, kalium, dan unsur kecil lainnya dari senyawa hasil isolasi (Bittleston *et al*., 2022).

MT MBA MBB

Keterangan: (MT: *Nepenthes mirabilis* Kantong Tertutup), (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB*: Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Berdasarkan gambar 1. Dapat dilihat bakteri alami pada cairan Nepenthes mirabilis. Jumlah bakteri setiap kantong sampel dilihat dari media umum yaitu IPK sebagai media dasar dalam menunjang pertumbuhan bakteri. Sampel MT ditemukan mikroflora alami 96,10^4 cfu/ml, sampel MBA 104,10^4 cfu/ml, dan sampel MBB 157,10^4 cfu/ml. Pada dasarnya semua bakteri menyukai gula dan sedikit pepton untuk pertumbuhannya, sehingga pada media IPK tergambar semua

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

jenis mikroflora alami dalam suatu sampel, baik bakteri fermentasi, kitinolitik, proteolitik, lipolitik, proteolitik, dan amilolitik.

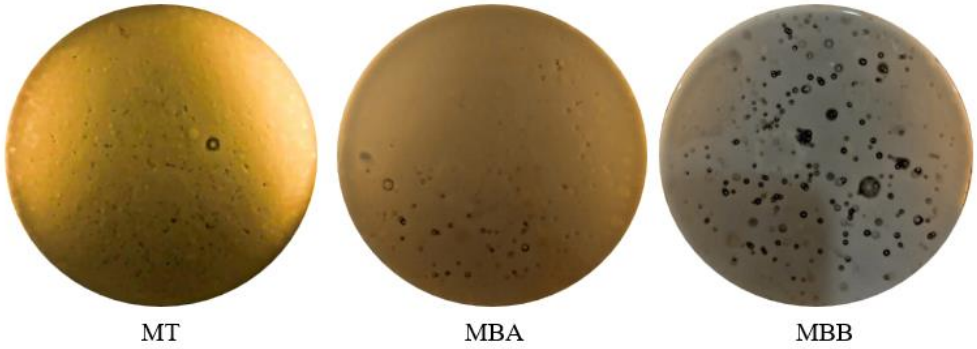
MBB MBA

Keterangan: (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB*: Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Keberadaan bakteri kitinolitik terdapat pada kantong terbuka sampel cairan Nepenthes mirabilis dengan persentase berkisar antara 12,7% hingga 17,3% dari total bakteri. Keberadaan bakteri kitinolitik tertinggi terdapat pada sampel cairan Nepenthes mirabilis MBA, disusul sampel MBB. Bakteri kitinolitik hanya terdapat pada sampel cairan kantong terbuka Nepenthes mirabilis, hal ini disebabkan karena adanya serangga yang terdapat pada cairan kantong, pada serangga (serangga) dan krustasea (udang). Enzim kitinase berperan dalam proses molting kulit eksim. Suatu bakteri kitinolitik dapat diketahui menghasilkan kitinase jika terjadi perubahan warna medium menjadi lebih transparan di sekitar koloni bakteri yang disebabkan oleh terdegradasinya kitin pada media pertumbuhan akibat adanya enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. ke dalam media. Kitinase merupakan enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri kitinola yang berperan penting dalam menghidrolisis kitin. Enzim kitinase yang disekresikan di luar sel menghidrolisis kitin yang tidak larut dalam air menjadi monomer yang larut dalam air sehingga menghasilkan zona bening di sekitar koloni (Taokaew & Kriangkrai, 2023).

Aktivitas hidrolisis kitinolitik merupakan gambaran kemampuan bakteri kitinolitik dalam memecah kitin, semakin besar nilai aktivitas hidrolisis maka semakin besar pula diameter zona bening yang terbentuk disekitar koloni, hal ini diperkuat dengan pernyataan, (Bhunia *et a*l., 2023) yang menyatakan bahwa zona bening yang terbentuk di sekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas penguraian kitin pada media. Secara umum mikroba penghasil kitinase melakukan hidrolisis substrat ekstraseluler, artinya enzim diproduksi di dalam sel, namun dilepaskan (disekresi) ke media pertumbuhan (substrat), sehingga pada media padat akan terlihat zona bening yang menunjukkan aktivitasnya. dari bakteri kitinolitik.

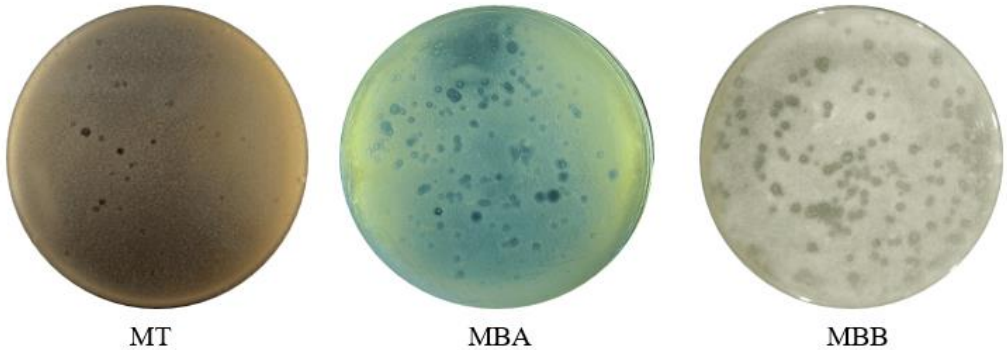
Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id



Keterangan: (MT: *Nepenthes mirabilis* Kantong Tertutup), (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB*: Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Keberadaan bakteri fermentasi pada cairan Nepenthes mirabilis dapat dilihat melalui media selektif GPA+CaCO3. Bakteri fermentasi tertinggi dimiliki oleh sampel MBB dengan persentase sebesar 70%, disusul sampel MBA yaitu 58,6%, dan bakteri fermentasi terendah dimiliki oleh sampel MT yaitu 43,7%. Telah terjadi fermentasi pada cairan *Nepenthes mirabilis*, semakin tinggi jumlah mikroorganisme bakteri yang memfermentasi maka semakin rendah nilai pH (asam), derajat keasaman pada cairan kantong tertutup pH lebih tinggi dibandingkan dengan kantong terbuka yaitu berkisar pH 6- 8,5 dalam kantong terbuka pH cairan berkisar antara 2-5,5. PH yang rendah mempengaruhi proses pencernaan mangsa dan penyerapan nutrisi yang dihasilkan dari proses tersebut. Menurunnya pH cairan kantong dipengaruhi oleh penumpukan mangsa yang terperangkap dan mati, serta reaksi fermentasi yang dilakukan oleh mikroba.

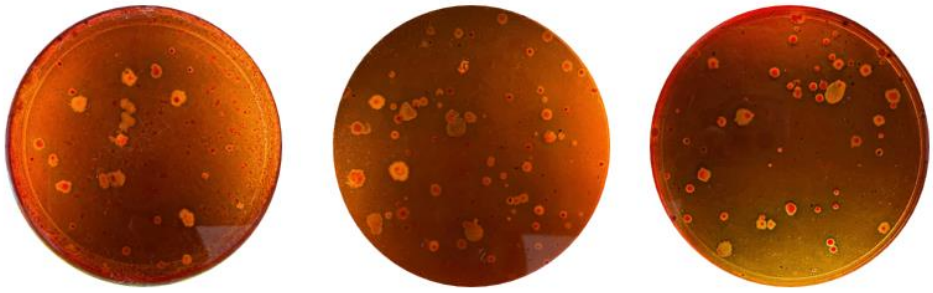
Media yang digunakan dalam menganalisis keberadaan bakteri fermentasi pada sampel adalah media umum tempat tumbuhnya CaCO3. Penambahan $CaCO_3$ berfungsi untuk membedakan bakteri penghasil asam dan akan bereaksi membentuk kalsium laktat yang larut dalam media dengan membentuk zona bening di sekitar koloni. Jumlah bakteri yang tumbuh pada media sesuai dengan jumlah asam yang dihasilkan (Aditiawati *et al*., 2021).



Keterangan: (MT: *Nepenthes mirabilis* Kantong Tertutup), (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB*: Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

Diketahui keberadaan bakteri proteolitik pada cairan Nepenthes mirabilis dengan persentase berkisar antara 32% hingga 50%. Bakteri proteolitik ditandai dengan bakteri yang mampu membentuk zona halo pada medium SMA. Keberadaan bakteri proteolitik tertinggi terdapat pada sampel MBB dengan persentase 50%, disusul sampel MBA sebesar 48%, persentase terendah terdapat pada cairan kantong MT dengan persentase 32%. Menurut Hastuti *et al*. (2017) adanya aktivitas proteolitik ditandai dengan adanya zona bening yang luas di sekitar koloni akibat hidrolisis kasein menjadi asam amino yang larut dalam media.



MT MBA MBB

Keterangan: (MT: *Nepenthes mirabilis* Kantong Tertutup), (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB*: Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Bakteri lipolitik juga diperoleh dari pertumbuhan pada media NA yang dimodifikasi. Keberadaan bakteri lipolitik tertinggi terdapat pada cairan kantong terbuka dengan persentase berkisar antara 31% hingga 47%. Keberadaan bakteri lipolitik tertinggi dimiliki oleh kantong terbuka (MBB) dan kantong terbuka atas (MBA) dengan persentase sebesar 46,1% dan 47% serta bakteri lipolitik terendah dimiliki oleh kantong tertutup (MT) dengan persentase sebesar 31%. Lipase dikenal juga sebagai enzim lipolitik dan berfungsi menghidrolisis minyak dan lemak dengan cara memecahnya menjadi lipid rantai pendek dan asam lemak (Pramiadi *et al*. 2014).

Lipase berperan dalam pencernaan serangga pada tanaman kantong semar, tanaman kantong semar akan mengeluarkan cairan yang mengandung enzim seperti protease, kitinase, dan lipase ke dalam struktur seperti kantong di ujung daunnya. sekresi enzim pencernaan ke dalam rongga, lipase bersama dengan enzim lainnya, membantu memecah lipid serangga menjadi asam lemak dan gliserol. (Lee *et al.*, 2016). Media NA termodifikasi yaitu NA+margarin+merah netral merupakan media terpilih hasil optimasi beberapa media lipolitik selektif yang telah dilakukan sebelumnya oleh Fardiaz (1993) yang dimodifikasi oleh Swandi *et al.,* (2015).

Bakteri yang tumbuh pada media ini mampu mengubah substrat lipid berupa lemak pada margarin pada media NA menjadi sumber karbon yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Indikator berwarna merah netral menunjukkan reaksi positif terhadap bakteri lipolitik, ditandai dengan tumbuhnya koloni bakteri yang warnanya lebih gelap dibandingkan warna medium.

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

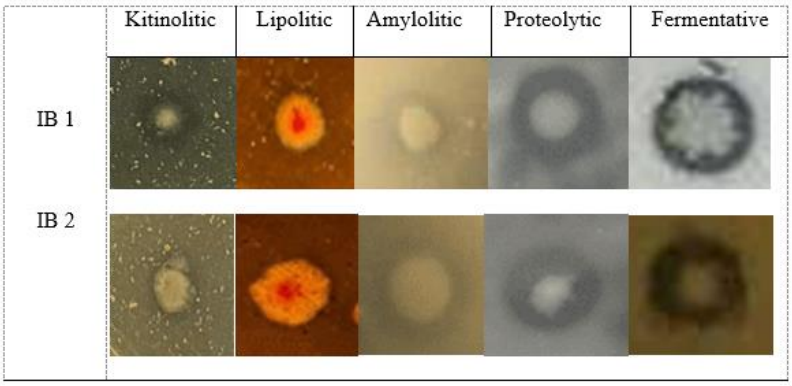
MT MBA MBB

Keterangan: (MT: *Nepenthes mirabilis* Kantong Tertutup), (MBA: *Nepenthes mirabilis* Kantong Atas Terbuka) (MBB*: Nepenthes mirabilis* Kantong bawah Terbuka).

Pada cairan *Nepenthes mirabilis*, keberadaan bakteri amilolitik juga ditemukan pada kisaran 12,5% hingga 34,6%. Keberadaan bakteri amilolitik tertinggi dimiliki oleh sampel cairan kantong terbuka (MT) *Nepenthes mirabilis* dengan persentase sebesar 34,6% disusul sampel kantong terbuka atas (MBA) dengan persentase sebesar 25%. Keberadaan bakteri amilolitik terendah dimiliki oleh cairan kantong tertutup (MBB) dengan persentase 2,5%. Amilase dapat diperoleh dari berbagai sumber mikroorganisme, tumbuhan dan hewan. Molekul pati akan dipecah oleh amilase pada ikatan α-1,4-glikosida dan α-1,6-glikosida. Pada tumbuhan, amilase berperan dalam memecah cadangan makanan biji yaitu pati menjadi senyawa yang lebih sederhana yang dapat segera digunakan sebagai sumber energi. (Memahadi *et al*., 2023).

Potensi *In Vitro* isolat Potensif

Kedua isolat terpilih diuji potensinya secara in vitro dengan melihat indeks degradasi isolat terpilih yang ditumbuhkan pada beberapa media tertentu. Isolat yang dipilih untuk uji potensi in vitro merupakan isolat yang mempunyai indeks kitinolitik tertinggi. Hasil uji potensi *in vitro* kedua isolat dapat dilihat pada gambar.



Potensi *in vitro* isolat bakteri IB 1 dan IB 2

Berdasarkan gambar di atas, dua isolat terpilih diuji secara in vitro ke dalam berbagai media spesifik dengan tujuan untuk melihat kemampuan suatu jenis bakteri dalam menguraikan berbagai jenis substrat. Kemampuan tersebut terlihat pada zona bening yang dihasilkan di sekitar koloni pada setiap medium tertentu.

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

Kemampuan ini akan diukur dalam suatu indeks. Nilai indeks tersebut meliputi indeks kitinolitik, -fermentatif, -proteolitik, -lipolitik, dan -amilolitik. Nilainya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai indeks potensi *in vitro* pada isolat IB 1 dan IB 2.

No.	Potensi I*n Vitro*	Indeks Isolat	
		IB 1	IB 2
1.	Kitinolitic	1,28	1,83
2.	Fermentative	2,00	2,33
3.	Proteolytic	2,00	2,00
4.	Lipolytic	1,75	2,33
5.	Amylolityc	1,28	1,42

Tabel 2 menunjukkan nilai indeks potensi in vitro isolat IB1 dan IB 2. Isolat IB 1 mempunyai indeks kitinolitik sebesar 1,28, -fermentatif 2,00, -proteolitik 2,00, -lifolitik 1,75 dan -amilolitik 1,28. Sedangkan isolat IB 2 mempunyai indeks kitinolitik sebesar 1,83, - Fermentatif 2,33, -Proteolitik 2,00 -Lipoli 2,33 dan -Amilolitik 1,42. Berdasarkan nilai tersebut terlihat bahwa kedua isolat mempunyai kemampuan kitinolitik, fermentatif, proteolitik, lipolitik dan amilolitik.

Berdasarkan hasil uji in vitro kedua isolat bakteri potensial kitinolitik yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa isolat IB 2 mempunyai nilai indeks kitinolitik tertinggi dibandingkan dengan nilai indeks isolat IB 1. Tingginya nilai kitinolitik Indeks tersebut menunjukkan bahwa IB 2 mempunyai kemampuan yang tinggi dalam memanfaatkan kitin sebagai sumber karbon. Mikroorganisme kitinolitik mampu menghasilkan enzim kitinase dan memanfaatkan kitinase sebagai asimilasi kitin sebagai sumber karbon dan nitrogennya (Yan *et al.*, 2023).

Indeks tertinggi pada IB 2 adalah indeks fermentatif dengan nilai 2,33. Hal ini menunjukkan bahwa pada pengujian in vitro pada medium GPA+CaCO3 menunjukkan bahwa isolat tersebut mempunyai kemampuan fermentasi. Pada indeks proteolitik ditemukan indeks isolat IB 1 dan IB 2 mempunyai nilai indeks yang sama yaitu 2,00. Kemampuan potensi proteolitik menunjukkan bahwa isolat mempunyai kemampuan dalam memecah molekul protein yang disebut dengan aktivitas protease. Besarnya zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa bakteri dapat memecah protein karena adanya produksi protease ekstraseluler enzim. Pada medium SMA yang mengandung kasein sebagai satu-satunya sumber nitrogen dalam medium selektif yang digunakan oleh bakteri proteolitik untuk mensekresi enzim protease ekstraseluler dalam mengubah protein menjadi peptida yang terdapat pada media susu (Hao *et al*,. 2020).

Tabel 2 juga menunjukkan kemampuan isolat dalam mendegradasi pati, hal ini ditunjukkan dengan indeks amilolitik isolat yang menunjukkan angka 1,28 dan 1,42. Tingginya kemampuan dua isolat bakteri amilolitik dalam membentuk zona bening menunjukkan tingginya kemampuan mendegradasi pati dibantu oleh enzim amilase (D'rose *et al*. 2019). Keberadaan amilolitik pada isolat diduga disebabkan adanya substrat pati pada tanaman Nepenthes mirabilis maupun pada serangga yang terperangkap. karena enzim amilase bisa berasal dari hewan dan tumbuhan.

Isolat juga mempunyai kemampuan dalam melisiskan lipid, hal ini didukung dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri pada medium

Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi
E-ISSN 2654-4571; P-ISSN 2338-5006
Volume 12, Issue 1, June 2024; Page, 1369-1381
Email: bioscientist@undikma.ac.id

NA termodifikasi yang mengandung lipid. Pada isolat IB I mempunyai indeks sebesar 1,28 dan pada isolat IB 2 mempunyai indeks sebesar 1,42. Enzim lipase merupakan enzim ekstraseluler dan termasuk dalam kelompok ester. Enzim ini akan memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol (Sharma *et al.*, 2023).

SIMPULAN

Mikroflora yang terdapat pada ketiga sampel cairan *Nepenthes mirabilis* di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas didominasi oleh bakteri dengan jumlah mikroflora tertinggi diperoleh pada sampel MBB (157 x 10^4 cfu/ml) kemudian sampel MBA (104 x 10^4 cfu/ml) dan sampel MT (96 x 10^4 cfu/ml). Persentase kelompok bakteri tertinggi pada ketiga sampel cairan *Nepenthes mirabilis* terdapat pada bakteri fermentasi (43,7% - 70%), bakteri proteolitik (32% - 50%), bakteri amilolitik (31% - 47%), bakteri lipolitik (12,5%). % - 34,6%) dan bakteri kitinolitik (12,7% - 17,3%). Secara *in vitro* terdapat 2 isolat potensial kitinolitik dalam cairan kantong terbuka Nepenthes mirabilis. Isolat potensial IB 1 mempunyai nilai indeks Kitinolitik sebesar 1,28, - Fermentatif 2,00 - Proteolitik 2,00 - Lipolitik 1,75 dan - Amilolitik 1,28. Sedangkan isolat IB 2 mempunyai potensi secara in vitro dengan nilai indeks -Kitinolitik sebesar 1,83, - Fermentatif 2,33, - Proteolitik 2,00 - Lipolitik 2,33 dan Amylolitik 1,42.

SARAN

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengidentifikasian bakteri secara molekuler menggunakan analisis 16S rRNA agar diketahui spesiesnya dan dapat dipatenkan sebagai isolat unggul.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Jurusan Biologi Universitas Andalas yang telah memfasilitasi para peneliti dalam hal penelitian ini dan terima kasih juga kepada seluruh anggota tim penyusun yang telah berkontribusi membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

Aditiawati, P., Yudhistira, B., Astuti, D. I., & Sajidan, S. (2021). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Indonesian fermented foods as a starter culture. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(6), 2878-2887. https://doi.org/10.13057/biodiv/d220644

Bittleston, L. S., Wolock, C. J., Satyanti, A., Jurgens, J. A., Chambers, N. L., Venturi, V., & Caraballo-Rodríguez, A. M. (2022). Degradative metabolic pathways and nutrient acquisition strategies of a keystone commensal bacterium from the *Nepenthe*s pitcher plant phytobiome. *mBio*, 13(2), e03545-21. https://doi.org/10.1128/mbio.03545-21

Chou, L. Y., Yeh, C. C., Lee, T. M., Chan, C. F., & Wong, S. L. (2021). *Nepenthes* Plant Species and Their Environmental Adaptations: Mutualistic Associations and Functional Genomics of Carnivory. Frontiers in Plant Science, 12, 619444. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.619444

Clarke, C. M., Bauer, U., Lee, C. C., Tuen, A. A., Rembold, K., & Moran, J. A.

(2017). Insecticidal toxins from the *Nepenthes* genus of pitcher plants. *Annals of Botany*, 120(4), 511-521.

D'rose, V.. T. K. Johny.. and S. Bhat. 2019. Comparative analisys of metagenomic DNA extraction methods from gut microbiota of zebrafish *(Danio rerio)* for downstream next-geeration sequencing. Journal of Applied Biology and Biotecnology. 7 (1). 11-15. https://doi.org/10.7324/JABB.2019.70103

Fatoni, A. 2008. Pengaruh propolis Tak bersengat spp asal Bukittinggi terhadap beberapa bakteri usus halus sapi dan penelusuran komponen aktifnya [*Tesis*]. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Handayani T. 2017. Flower morphology, floral development and insect visitors to flowers of *Nepenthes mirabilis*. *Biodiversitas* 18 (4): 1624- 1631. https://doi.org/10.13057/biodiv/d180441

Hao, W., P, Tian., M. Zheng., H. Wang., and C. XU. 2020. Characteristics of proteolityc microorganisms and their effects on proteolysis in total mixed ration silages of soybean curd residue. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 33 (1), 100-110. https://doi.org/10.5713/ajas.18.0933

Hastuti, U.S., F.S.A. Nugraheni., dan P.M.A.Asna. 2017. Identifikasi dan penentuan indeks Hidrolisis Protein Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference.* Vol. 14 (1):265-270.

Lee, P.H., Han. F., Ting. C.L., Chen, Y.C., Chang. C.C., and Hsien. H.L. 2016. Glycemic Control and the Risk of Tuberculosis: A Cohort Study. *PLoS Med* 13(8): e1002072.

Mehamadi, A., Tayefi-Nasrabadi, H., & Dehghan-Noudeh, G. (2023). Recent advances in microbial α-amylases: Production, properties, and applications. Biotechnology Reports, 37, e00728. https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00728

Murthy, N and B. Bleakley 2012. Simplified Method of Preparing Colloidal Chitin Used For Screening of Chitinase- Producing Microorganisms. The Internet Journal of Microbiology. Volume 10 Number 2.

Periadnadi. 2005. Hubungan antara komposisi ragi tapai dan beberapa daerah di sumatera barat dengan tapai yang dihasilkan. "Regularly Scientific Seminar" TPSDP Batch III. FMIPA: Universitas Andalas.

Periadnadi dan Nurmiati. 2010. Makroflora Indigenous pada Buah-Buahan Tropis. Jurusan Biologi FMIPA UNAND. Padang (Unpublished).

Pramiadi D. Evy Y dan Anna R. 2014. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Lipase Termostabil dari Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi. *Journal Sains Dasar* 3(1):9-19. Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.

Raslina, H., Dharmawibawa, I. D., & Safnowandi, S. (2018). Diversity of Medicinal Plants in National Park of Rinjani Mountain in Order to Arrange Practical Handout of Phanerogamae Systematics. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, *4*(1), 1-6. https://doi.org/10.33394/bioscientist.v4i1.210

Sharma, S., Dutta, N., & Kumari, A. (2023). Lipases: Versatile biocatalysts for diverse applications. Bioresource Technology, 365, 128108. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128108

Siciliano, G., Puddick, J., Bevacqua, D., Stedje, B., & Pokorny, L. (2022). Microbiome of the Nepenthes pitchers: Ecology and role in nutrient cycling. *Frontiers in Microbiology*, 13, 939590. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.939590

Swandi, M. K., Periadnadi dan Nurmiati. 2015. Isolasi Bakteri Pendegradasi Limbah Cir Industri Minyak Sawit, *J.Bio.UA*, 4(1):71-76.

Taokaew, S., & Kriangkrai, W. (2023). Chitinase-Assisted Bioconversion of Chitinous Waste for Development of Value-Added Chito Oligosaccharides Products. *Biology*, *12*(1). https://doi.org/10.3390/biology12010087

Vidianti, V. A. N., Trimanto, T., & Handayani, N. A. (2022). Kandungan Protein dan Asam Amino dari *Nepenthes mirabilis* (Lour.) Druce. Jurnal Biotropika: *Jurnal Penelitian Biologi, Sains dan Aplikasinya*, 10(1), 11-17.

Wistara, I. G. R., Ardana, I. K., & Sritamin, N. (2018). Molecular Characterization of *Nepenthes* spp. from Bali Based on matK Gene Sequences Analysis. *Bioscience Research*, 15(2), 893-898. https://www.isisn.org/BR15(2)2018/893-898-15(2)2018BR18-131.pdf

Yan, Q., & Fong, S. S. (2022). Chitinolytic enzymes and their applications in bioremediation and biotechnology. International Journal of Molecular Sciences, 23(13), 7379. https://doi.org/10.3390/ijms23137379