

Original Research Paper

Undesirable Microbial Growth from The Biodegradation Process of Nypa Palm Fronds Supplemented with Cellulolytic Bacteria Culture Isolated from Nypa Palm Worms (*Namalyctis rhodochorde*)

Albertus Williem¹, Rikhsan Kurniatuhadi^{1*}, Tri Rima Setyawati¹, & Ari Hepi Yanti¹

¹Biology Department, Mathematic and Natural Sciences Faculty, Tanjungpura University, Pontianak 78241, West Kalimantan, Indonesia;

Article History

Received : April 25th, 2024

Revised : May 01th, 2024

Accepted : May 13th, 2024

*Corresponding Author:
Rikhsan Kurniatuhadi,
Biology Department,
Mathematic and Natural
Sciences Faculty, Tanjungpura
University, Pontianak 78241,
West Kalimantan, Indonesia;
Email: rikhsan.kurniatuhadi@fmipa.untan.ac.id

Abstract: Biodegradation of nipa palm fronds using cellulolytic bacteria on an in-vitro scale was conducted to produce feed for cultivating palm worms (*Namalyctis rhodochorde*). The spontaneous degradation process is thought to trigger the growth of other microbes from raw materials from unsterilized nypa palm fronds. This research aims to determine the presence of different microbes that participate in the degradation process of palm fronds supplemented with cellulolytic bacterial isolates. The biodegradation process was conducted using dry palm fronds that were not sterilized, without pressurized heat, for 30 days in a sterile container. Cellulolytic bacterial isolates were added to facilitate the process. The research results revealed three characteristics of bacterial colonies with two cell shapes: bacilli and spirals bacterial isolates. The study also identified the presence of protozoa that exhibited morphological similarities to the *Ciliophora* group. This research provides valuable reports for further studies on the biodegradation process of palm fronds, specifically about ensuring feed safety for cultivating nypa palm worms.

Keywords: Cellulose degradation, cellulose fermentation, cellulolytic bacteria, nypa palm litter, protozoa.

Pendahuluan

Cacing nipah (*Namalyctis rhodochorde*) merupakan jenis cacing dari kelompok polychaeta yang memiliki potensi dan nilai ekonomi bagi masyarakat di Kalimantan Barat. Cacing nipah digunakan masyarakat sebagai umpan pancing dan pakan ikan sehingga memiliki nilai jual yang baik dan menjadi komoditas lokal daerah muara dan pesisir. Cacing nipah memiliki kandungan asam amino dan asam lemak yang baik bagi pertumbuhan hewan budidaya seperti udang dan ikan (Kurniatuhadi *et al.*, 2023). Pemenuhan permintaan cacing nipah saat ini melalui eksplorasi secara masif di habitat asalnya, yaitu daerah muara di dominasi vegetasi nipah (*Nypa fruticans*). Eksplorasi cacing nipah (*N. rhodochorde*) secara langsung di habitat asalnya menyebabkan penurunan jumlahnya di alam

pada masa yang akan datang (Junardi, 2008).

Budidaya cacing nipah secara intensif merupakan upaya konservasi dan memenuhi kebutuhan akan cacing nipah tanpa harus eksplorasi langsung di habitatnya. Dua komponen yang memengaruhi kesuksesan budidaya perikanan adalah nutrisi dan upaya pencegahan penyakit (Singh *et al.*, 2018), komponen tersebut juga berlaku dalam proses budidaya cacing nipah. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan larva cacing nipah skala laboratorium sangat lambat dan mudah terserang penyakit akibat parasit. Tingkat keberhasilan hidup larva cacing nipah sampai fase 3 setiger <20% dan 20.77% pada fase juvenil. Tingkat juvenil dicapai dengan jumlah segmen 40, dibutuhkan waktu sekitar 3 - 4 bulan (Setyawati, *et al.*, 2015).

Selulosa merupakan bahan organik yang banyak terkandung pada pelepasan nipah. Mikroba

penghasil selulase diperlukan dalam proses degradasi selulosa menjadi senyawa gula sederhana. Proses biodegradasi pelepas nipah selama ini dibantu dengan penambahan isolat mikroba probiotik EM4 (*Effective Microorganism* 4). Mikroorganisme yang ada dalam EM4 akan memecah bahan organik pada pelepas nipah menjadi nutrisi tersedia yang akan diberikan pada media pertumbuhan *N. rhodochorde*.

Penelitian yang dilakukan oleh Yanti *et al.* (2020) menemukan sepuluh jenis bakteri probiotik selulolitik pada saluran gastrointestinal *N. rhodochorde*. Tiga dari sepuluh isolat tersebut memiliki indeks selulolitik yang tinggi (lebih dari 2.0) yaitu NrLtC 2, NrLtC 4, dan NrLtG 2. Kemampuan isolat lokal menghasilkan enzim selulase memungkinkan untuk digunakan sebagai dekomposer pakan budidaya *N. rhodochorde*. Menurut Caruffo *et al.* (2015) proses produksi pakan dapat dipercepat dengan melakukan penambahan mikroba probiotik indigenus yang berasal dari saluran cerna suatu organisme.

Bakteri lokal memiliki kemampuan mendegradasi pelepas nipah dapat digunakan untuk membantu proses penyediaan pakan dengan kandungan nutrisi yang dibutuhkan *N. rhodochorde* dapat menjadi solusi penyediaan pakan cacing nipah (Yanti *et al.*, 2020; Setyawati *et al.*, 2021). Namun, perlu dipelajari terkait mikrob lokal dari substrat alam seperti pelepas nipah untuk proses biodegradasi menggunakan bakteri selulolitik spesifik pada suatu fermentor. Hal ini terkait dengan komunitas mikrob lokal yang berasal dari substrat yang tidak dilakukan sterilisasi (Beaton *et al.*, 2019). Belum tersedianya informasi mengenai mikrob kontaminan lokal atau spontan pada proses degradasi pelepas nipah sebagai sumber pakan budidaya cacing nipah menjadi dasar diperlukannya penelitian ini.

Penelitian lanjutan sebelum dilakukan formulasi pakan dibutuhkan untuk melihat apakah penggunaan pelepas nipah yang tidak steril dapat menginisiasi mikrob selain starter dapat muncul dan tumbuh pada proses degradasi pelepas nipah. Oleh karena itu, penelitian ini diperlukan untuk melihat presensi mikrob yang dapat mengkontaminasi substrat biodegradasi pelepas nipah yang dilakukan secara spontan dengan starter selulolitik potensial.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari hingga April 2023. Pengambilan pelepas nipah dilakukan pada kawasan mangrove Kampung Bahari Nusantara, Sungai Kakap, Kubu Raya, Kalimantan Barat. Pengambilan isolat dari koleksi sebelumnya dan pengujian dilakukan pada Laboratorium Hidrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura.

Degradasi selulosa pelepas nipah

Pelepas nipah dikeringkan terlebih dahulu dengan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 70°C hingga berat konstan. Kadar selulosa diukur terlebih dahulu. Setelah itu ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 1250 ml aquades. Ketiga jenis isolat dengan kepadatan $>10^7$ CFU/ml dimasukkan masing-masing ke dalam wadah sebanyak 2%, 3.5%, dan 5% dengan tiga pengulangan. Wadah degradasi kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan kedap udara selama 30 hari (Egwatu & Appeh, 2018).

Pengamatan mikrob kontaminan substrat degradasi pelepas nipah

Petroff-Houser Counting dbersihkan dengan alkohol 70% lalu dikeringkan dengan *tissue*. Alat hitung ditutup menggunakan *cover glass*. Suspensi yang mengandung bakteri diambil sebanyak 1 tetes dan diletakkan pada parit kaca pada alat hitung. Biarkan sejenak sehingga sel diam di tempat. Alat hitung diletakkan pada meja benda dan diamati dengan perbesaran 400 kali. Perhitungan dilakukan secara kasar terlebih dahulu untuk melihat apakah diperlukan pengenceran atau tidak, jika dalam satu kotak sedang terdapat sel yang bertumpuk maka diperlukan pengenceran. Karakter sel kemudian diamati dan diinterpretasikan.

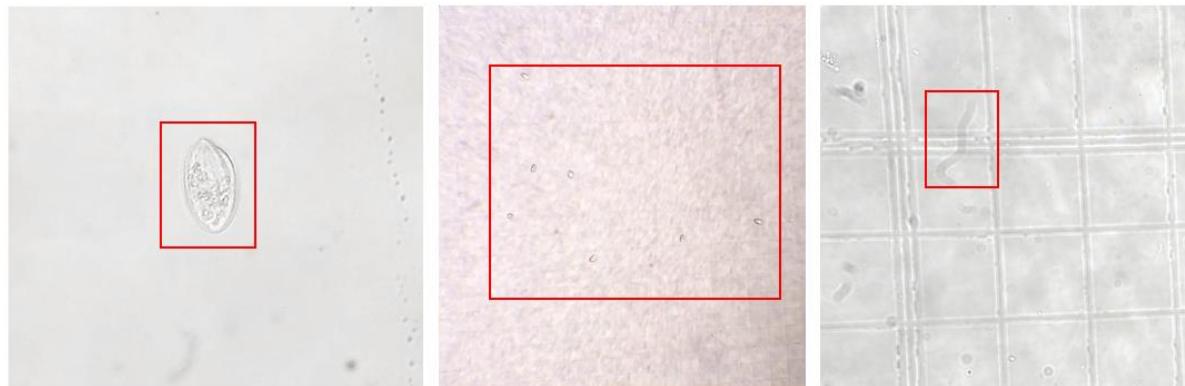
Hasil dan Pembahasan

Kelompok mikrob kontaminan selama proses degradasi pelepas nipah

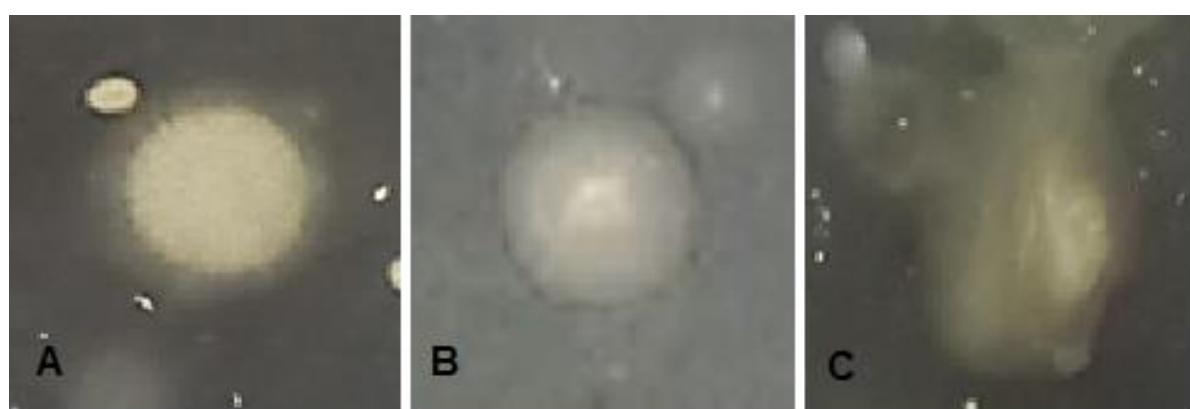
Hasil pengamatan dari proses inkubasi selama 30 hari pada media fermentasi dan

degradasi pelepasan nipah dan pengamatan terhadap fermentasi menunjukkan keberadaan mikroba kontaminan selain isolat bakteri uji. Berdasarkan pengamatan terhadap karakter sel, mikroba-mikroba tersebut terdiri atas protozoa dan tiga bentuk karakter koloni bakteri (Gambar 2; Tabel 1). Protozoa teramati melakukan predasi terhadap bakteri yang terdapat pada media. Protozoa tersebut termasuk famili *Ciliophora* dengan ciri-ciri tubuh berbentuk oval dengan silia di permukaan sel (Gambar 1, kiri). Bakteri yang berhasil diamati menggunakan mikroskop diduga berasal dari kelompok *Spirillum* karena memiliki bentuk spiral dan bersifat motil (Gambar 1, kanan). Protozoa dari kelompok *Ciliophora* juga terdeteksi berada pada fermentasi dari saluran rumen ruminansia yang

diberi pakan biji-bijian dan mempengaruhi fermentasi bakteri asam laktat terhadap sumber biji-bijian tersebut (Nagaraja *et al.*, 1992). Gijzen *et al.* (1988) juga menemukan keterkaitan aktivitas selulolitik yang dilakukan oleh kelompok protozoa *Ciliophora* dalam proses fermentasi dan biodegradasi pada fermentor yang telah ditambahkan dengan bakteri selulolitik dan diketahui dapat meningkatkan 19-28% aktivitas selulolitik secara keseluruhan. Hasil penelitian ini diperkuat oleh temuan Pastorelli *et al.* (2022) bahwa kelimpahan *Ciliophora* meningkat ketika proses pembusukan kayu pinus sedang berlangsung. Hal ini mengindikasikan secara alamiah *Ciliophora* memiliki keterkaitan dengan proses degradasi selulosa.



Gambar 1. Mikroba kontaminan yang muncul pada saat proses degradasi pelepasan nipah selama 30 hari (ditandai dengan garis kotak merah). Pengamatan mikroskopik perbesaran 1000 kali memperlihatkan dominansi protozoa yang memiliki kemiripan dengan *Ciliophora* (kiri dan tengah) dan bakteri berbentuk batang dan spiral (kanan)



Gambar 2. Morfologi koloni bakteri kontaminan yang muncul pada saat proses degradasi pelepasan nipah selama 30 hari

Ciliophora umum ditemukan di berbagai habitat perairan estuaria (Acosta-Mercado & Lynn, 2004; Lynn, 2006; Kulas *et al.*, 2021).

Dugaan tersebut diperkuat dengan ciri-ciri yang sesuai dengan *Ciliophora* pada umumnya, terdapat dimorfisme pada nukleus, serta teramati

bergerak menggunakan silia yang ada di sekitar tubuhnya (Gambar 1, kiri). Protozoa pada umumnya dapat membantu dalam proses degradasi serat kasar selulosa (Aprilia *et al.*, 2021) seperti pelepas nipah. Di samping itu, kelompok *Ciliophora* dapat melakukan predasi terhadap mikroba (Weimer, 2022). Seperti yang terlihat pada pengamatan di substrat biodegradasi pelepas nipah. Predasi yang dilakukan umumnya hanya untuk mempertahankan keadaan homeostasis (Soeharsono, 2010).

Keberadaan *Ciliophora* dan mikroba lainnya pada saat inkubasi diduga berasal dari pelepas nipah. Penggunaan metode sterilisasi tanpa menggunakan panas bertekanan menyebabkan mikroba yang terdapat pada pelepas tersebut dapat bertahan selama proses sterilisasi. Sterilisasi air dilakukan dengan metode *overkill*, namun pelepas nipah hanya dikeringkan dengan oven selama tiga hari pada suhu 70°C. Metode sterilisasi terhadap pelepas nipah dapat menyebabkan mikrob kontaminan pada pelepas nipah yang resisten terhadap panas dapat bertahan. Selain itu inkubasi yang dalam skala besar juga menjadi salah satu alasan sulitnya menjaga kontaminan yang masuk melalui udara. Beberapa jenis *Ciliophora* memiliki kemampuan untuk membentuk krista yang menyebabkan dormansi dan akan aktif kembali saat kondisi lingkungan membaik (Berger, 2006). Beberapa di antara kelompok *Ciliophora* memiliki kemampuan untuk bertahan

pada kondisi pH rendah dan suhu tinggi (Mikami, 2000).

Keberadaan sel *spirillum* (Gambar 1, kanan) teramat dalam substrat biodegradasi pelepas nipah. Jumlah bakteri tersebut tidak dapat dikonfirmasi secara pasti, namun saat pengamatan dilakukan pada setiap bilik yang diamati memiliki perbandingan jumlah yang hampir sama dengan isolat bakteri uji yang berbentuk kokobasil. *Spirillum* menjadi salah satu kelompok bakteri yang umum ditemukan pada kawasan estuari, keberadaan bakteri tersebut diduga berasal dari pelepas nipah. Pelepas nipah yang tumbuh pada kawasan estuari memiliki kandungan mikroba yang tinggi. Penelitian Foong *et al.* (1997) pernah melihat koloniasi bakteri berbentuk spiral pada substrat selulosa tanaman pada hewan ruminansia yang berkoeksistensi dengan bakteri kokus dan basil.

Nontji (2008) menyatakan bahwa konsentrasi bakteri pada kawasan estuari umumnya berkisar 10^6 - 10^7 sel/ml. *Spirillum* merupakan bakteri heterotrofik yang memanfaatkan bahan organik yang terdapat di sekitar lingkungan hidupnya, diduga *spirillum* yang ditemukan bersama dengan isolat bakteri uji melakukan degradasi selulosa pada pelepas nipah. Tidak terdapat penekanan jumlah sel isolat bakteri uji oleh *spirillum* diduga sebagai hubungan positif dengan isolat bakteri uji seperti yang diungkapkan oleh Palimirmo *et al.* (2016).

Tabel 1. Karakter morfologi koloni bakteri non-perlakuan dari media degradasi pelepas nipah

Ciri-Ciri Koloni								
Kode Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Ukuran Penampilan	Properti Optik	Tekstur	Warna Koloni	
Sp1	Bundar	Halus	Cembung	Sedang	Berkilau	Opak	Halus	Putih
Sp2	Bundar	Halus	Umbonatus	Sedang	Berkilau	Tembus cahaya	Halus	Putih
Sp3	Ireguler	Bergelombang	Datar	Sedang	Kusam	Tembus cahaya	Kasar	Putih

Uji lanjut dilakukan untuk mendeteksi keberadaan mikroba selain isolat bakteri uji dengan mengisolasi media kontrol. Tiga jenis koloni ditemukan pada proses isolasi tersebut (Tabel 4.4). Tipe koloni pertama memiliki bentuk bundar, tepian halus, elevasi cembung, berkilau, tidak tembus cahaya, halus dan berwarna putih. Tipe koloni tersebut mendominasi pertumbuhan pada cawan petri.

Tipe koloni kedua memiliki bentuk bundar, tepian halus, elevasi berbentuk umbonate, berkilau, tembus cahaya, halus dan berwarna putih.

Tipe koloni terakhir memiliki bentuk yang tidak beraturan, tepian yang bergelombang, elevasi datar, kusam, tembus cahaya, kasar dan berwarna putih. Jumlah tipe ketiga ini yang paling sedikit. Bakteri-bakteri tersebut diduga

merupakan bakteri heterotrofik estuari. Bakteri heterotrofik yang umum ditemukan pada lingkungan perairan antara lain *Micrococcus*, *Sarcina*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Spirillum*, *Mycoplana* dan *Streptomyces* (Pratiwi et al., 2023). Namun, diperlukan identifikasi lebih lanjut bakteri kontaminan yang muncul dari biodegradasi pelepasan nipah yang diambil dari perairan estuari Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya agar diketahui jenis dan potensinya.

Kesimpulan

Proses biodegradasi pelepasan nipah tanpa sterilisasi dengan isolat selulolitik lokal menghadirkan mikrob kontaminan yang berasal dari kelompok *Ciliophora* dan bakteri berbentuk spiral dan batang. Perlu dilakukan proses sterilisasi bahan baku nipah untuk mengurangi kontaminan agar proses degradasi dan fermentasi pelepasan nipah dapat berjalan sempurna.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura atas bantuan dana penelitian. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada seluruh anggota Tim Riset Cacing Nipah Program Studi Biologi atas pelaksanaan sampling di Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya.

Referensi

- Acosta-Mercado, D., & Lynn, D.H. (2004). Soil Ciliate Species Richness and Abundance Associated with The Rhizosphere of Different Subtropical Plant Species. *Journal of Eucaryotic Microbiology*, 51(5): 582-8. DOI:10.1111/j.1550-7408.2004.tb00295.x
- Aprilia, R.M., Huda, A.N., Sumitro, A.M., Kusmartono, Soetanto, H. (2021). Rumen Protozoa Diversity of Indonesian Indigenous Cattle. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 31(3): 267-273. DOI: 10.21776/ub.jiip.2021.031.03.10
- Beaton, D., Pelletier, P., & Goulet, R.R. (2019). Microbial Degradation of Cellulosic Material and Gas Generation: Implications for the Management of Low- and Intermediate- Level Radioactive Wastes. *Front. Microbiol.* 10:204. doi: 10.3389/fmicb.2019.00204
- Berger, H. (2006). *Monograph of the Urostyloidea (Ciliophora. Hypotricha)*. Springer. The Netherlands. DOI: 10.1007/1-4020-5273-1_1
- Caruffo, M., Navarette, N., Salgado, O., Diaz, A., Paulina, L., Garcia, K., Celjoo, C.G., Navarette, P. (2015). Potential Probiotic Yeast Isolated from Fish Gut (*Danio rerio*) to Protect from a *Vibrio anguillarium*. *Front Microbiol*, 6: 1-9. doi.org/10.3389/fmicb.2015.01093.
- Egwatu, T.F., & Appeh, O.G. (2018). Isolation and Characterization of Filter Paper Degrading Bacteria from the Guts of *Coptotermes formosanus*. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 9(3)1-5. DOI:10.4172/2155-6199.1000440
- Foong, F.C.F., Cheng, K.J., Abdullah, N., Ho, Y.W., Jalaludin, S., Sugiura, M., Nagamine, T., Arakaki, C., & Kudo, H. (1997). Selective Isolation and Characterization of Cellulolytic Bacteria by Cellulose Enrichment Method from the Rumen of Ruminants. *JIRCAS Journal*, 5: 79-89.
- Gijzen, H.J., Lubberding, H.J., Gerhardus, M.J.T., & Vogels, G.D. (1988). Contribution of Rumen Protozoa to Fibre Degradation and Cellulase Activity In Vitro. *FEMS Microbiology Letters*, 53(1): 35-43. https://doi.org/10.1016/0378-1097(88)90010-9
- Junardi. (2008). Karakteristik Morfologi dan Habitat Cacing Nipah *Namalycastis rhodochorde* (*Polychaeta: Nereididae: Namanereididae*) di Kawasan Hutan Mangrove Estuari Sungai Kakap Kalimantan Barat. *Jurnal Sains MIPA*, 14(2): 85-89. https://jurnal.fmpa.unila.ac.id/sains/article/e/view/192
- Kulaš, A., Gulin, V., Kepčija, R.M., Perić, P.Z.M.S., Orlić, S., Kajan, K., Stoeck, T., Lentendu, G., Čanjevac, I., Martinić, I., & Udovič, M.G. (2021). Ciliates (Alveolata, *Ciliophora*) as Bioindicators of Environmental Pressure: A Karstic River Case. *Ecological Indicators*, 124.

- https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.107430.
- Kunarso, D.H. (1988). Peranan Bakteri Heterotrofik dalam Ekosistem Laut. *Oseana*. 13(4):133-142.
- Kurniatuhadi, R., Setyawati, T.R., Yanti, A.H., Karunia, E. (2023). Growth of *Bacillus* spp. Isolated From Nipah Worm Intestine (*Namalycastis rhodochorde*) with Different Combination of pH and Salinity. *BIOMA*, 12(1): 31-43. https://doi.org/10.26877/bioma.v12i1.4387
- Lynn, D.H. (2006). *Ciliophora, Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & Sons. New York.https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001966.pub3
- Mikami, K. (2000). Fertilization in Protozoa. In: Tarín, J.J., Cano, A. (eds) Fertilization in Protozoa and Metazoan Animals. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-58301-8_1
- Nagaraja, T.D., Towne, G., & Beharka, A.A. (1992). Moderation of Ruminal Fermentation by Ciliate Protozoa in Cattle Fed A High Grain Diet. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8):2410-4. DOI:10.1128/AEM.58.8.2410-2414.1992
- Nontji, A. (2008). *Plankton Laut*. LIPI Press. Jakarta.
- Palimirmo, F.S., Damar, A., & Effendi, H. (2016). Dinamika Sebaran Bakteri Heterotrofik di Teluk Jakarta. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 21 (1): 26–34. http://journal.ipb.ac.id/index.php/JIPI. DOI: 10.18343/jipi.21.1.26
- Pastorelli, R., Cucu, M.A., Lagomarsino, A., Paletto, A., De Meo, I. (2022). Analysis of Ciliate Community Diversity in Decaying *Pinus nigra* Logs. *Forests*, 13(5):642. https://doi.org/10.3390/f13050642
- Pratiwi, L., Rasyidah, & Mayasari, U. (2023). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Heterotrofik di Perairan Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. *Bioma*, 25(1): 28-37.
- Lynn, D.H. (2006). *Ciliophora, Encyclopedia of Life Science*. John Wiley & Sons. New York.https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001966.pub3
- Setyawati, T.R., Junardi dan Ari, H.Y. (2015). *Paket teknologi budidaya cacing nipah Namalycastis rhodocordea (Polychaeta: Nereididae)*. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun II. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Setyawati, T.R., Yanti, A.H., & Kurniatuhadi, R. (2021). Identification and Probiotic Screening of Cellulolytic Bacilli Isolated from Fecal Pellets and Gastrointestinal Tract of *Nypa* Worm (*Namalycastis rhodochorde*), West Kalimantan, Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia*, 17(2): 189-195. DOI: 10.47349/jbi/17022021/189.
- Singh, P., Paul, B.N., & Giri, S.S. (2018). Potentiality of New Feed Ingredients for Aquaculture: A Review. *Agricultural Reviews*, 39(4): 282-291. DOI: 10.18805/ag.R-1819.
- Soeharsono. (2010). *Probiotik: Basis Ilmiah, Aplikasi dan Aspek Praktis*. Widya Padjadjaran. Bandung.
- Weimer, P.J. (2022). Degradation of Cellulose and Hemicellulose by Ruminal Microorganism. *Microorganisms*, 10(12):2345. doi: 10.3390/microorganisms10122345.
- Yanti, A.H., Setyawati, T.R., & Kurniatuhadi, R. (2020). Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fecal Pellets, Coelomic Fluid, and Gastrointestinal Tract of *Nypa* Worm (*Namalycastis rhodochorde*) from West Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(1): 4726-4731. https://doi.org/10.13057/biodiv/d211036