

ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK TERMOFILIK KOMPOS PERTANIAN DESA BAYAT, KLATEN, JAWA TENGAH

(Isolation Thermophilic Cellulolytic Bacteria from Agricultural Compost of Bayat,
Klaten, Central Java)

Alam, M.S, Sarjono P.R, Aminin, A.L.N

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas

Diponegoro Email : agus_nurulaminin@yahoo.com

ABSTRAK - Isolasi bakteri penghasil selulase termofil sangat penting untuk dilakukan, mengingat besarnya potensi selulase termofil pada industri. Salah satu sumber isolasi bakteri selulolitik termofilik alternatif yaitu kompos pertanian. Desa Bayat Klaten merupakan desa dengan potensi kompos yang besar dan belum dieksplorasi dengan maksimal. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri selulolitik termofilik dari kompos pertanian fase termofil. Bakteri selulolitik termofilik kompos diisolasi dari kompos pertanian dengan menggunakan metode pengenceran, *streaking* dan *spreading* pada media CMC (*Carboxymethylcellulose*). Isolat bakteri selulolitik yang tumbuh pada media CMC tentukan suhu optimum pertumbuhannya dengan parameter jumlah sel yang diukur dengan menggunakan metode OD 600. Penelitian ini menghasilkan isolat bakteri KB dan KK yang diisolasi dari kompos pertanian desa Bayat, Klaten Jawa Tengah, Isolat bakteri KB tumbuh sedikit lebih optimal daripada isolat bakteri KK pada media CMC dengan suhu kultivasi optimum pada suhu 50 °C.

Kata kunci: Bakteri termofilik, Kompos, CMC (*Carboxymethylcellulose*)

1. PENDAHULUAN

Mikroorganisme termofilik merupakan mikroorganisme yang tahan terhadap suhu tinggi dengan suhu optimum pertumbuhan mencapai lebih dari 60 °C (Trismilah dkk, 2005). Salah satu pemanfaatan mikroorganisme termofilik yaitu sebagai penghasil berbagai enzim yang bersifat termostabil. Enzim yang dapat dihasilkan dari mikroorganisme termofilik antara lain selulase (Meriyandini, 2009), α -amilase, kitinase (Rahayu, 1999) dan lipase (Tika, 2007).

Mikroorganisme selulolitik termofilik merupakan mikroorganisme termofilik yang dapat menghasilkan selulase (Jang, 2003). Isolasi bakteri penghasil selulase sangat penting untuk dilakukan, mengingat besarnya potensi selulase pada industri antara lain industri makanan dan minuman, industri pulp dan kertas, industri tekstil, industri deterjen, industri pakan ternak dan pertanian (Bhat, 2000). Bakteri penghasil selulase dapat diisolasi dari berbagai sumber, antara lain lambung sapi (Bai, 2012), kompos pertanian

(Baharuddin, 2010), sumber air panas (Aminin, 2007). Salah satu sumber isolasi bakteri selulolitik termofilik alternatif itu dari kompos pertanian, dimana penelitian tentang eksplorasi bakteri selulolitik termofilik di Indonesia pada umumnya dan di Jawa Tengah khususnya masih jarang dilakukan. Desa Bayat Klaten merupakan desa dengan potensi kompos yang besar dan belum dieksplorasi dengan maksimal. Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri termofilik penghasil selulase dari kompos pertanian desa Bayat, Klaten dan dilakukan penentuan suhu optimum pertumbuhan bakteri selulolitik termofilik.

2. METODOLOGI

2.1 Alat dan Bahan

Alat

Termometer, neraca analitis (*Mettler Toledo JL602-G/L*), gunting, mikrotube (*Effendorf*), autoklaf (*Clinical Autoclave Prestige Medical Series 2100*), autoklaf (*Napco model 8000-DSE autoclave*), shaker inkubator TIT (*TS-330A*), lemari pendingin (*Sanyo SR-LV 239 N*), sentrifus, spektrofotometer *UV-Vis* (*Simadzu*).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompos termofilik suhu 49^oC, akuades, ekstrak ragi, *beef extract*, pepton, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, CaCl₂, FeCl₃, Na₂HPO₄.2H₂O, CMC (*Carboxymethylcellulose*), asam 3,5-dinitrosalisilat, NaH₂PO₄, kalium natrium tartrat, NaOH, Fenol, Na₂SO₃, glukosa, bacto agar, buffer natrium fosfat pH 6 ; 6,5; 7; 7,5; 8, buffer Glisin-NaOH pH 8,5; Larutan BaCl₂, membran selofan, BSA (*Bovine Serume Albumin*), Ammonium Sulfat, CuSO₄.5H₂O, larutan

Folin Ciocalteu's Phenol.

2.2 Inokulasi Isolat Bakteri Kompos Termofil pada Media CMC Cair

Sebanyak 0,5 mL suspensi kompos yang telah dibuat sebelumnya diinokulasikan dalam 50 mL media CMC cair, diinkubasi pada suhu 55^oC selama 3 hari (Al Bashori, 2011). Setiap 100 mL media CMC cair mengandung ekstrak ragi 0,2 g, *beef extract* 0,4 g, pepton 0,51 g, KH₂PO₄ 0,1 g, MgSO₄.7H₂O 0,02 g, CaCl₂ 0,3 g, FeCl₃ 0,028 g, Na₂HPO₄ 0,1 g, dan CMC 0,5 g (Baharuddin dkk., 2010). Hasil inkubasi akan dilanjutkan pada proses penentuan suhu optimum inkubasi.

2.3 Penentuan Suhu Optimum Inkubasi

Sebanyak 0,5 mL isolat bakteri kompos hasil inkubasi ditumbuhkan dalam 50 mL media CMC cair dan diinkubasi selama 3 hari dengan variasi suhu inkubasi yaitu 50°C, 55°C, dan 60°C. Hasil inkubasi dengan variasi suhu inkubasi selama 3 hari diukur kekeruhannya dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada $\lambda = 600$ nm.

2.4 Seleksi Isolat Bakteri Selulolitik Termofilik

Isolat bakteri ditumbuhkan kembali pada media CMC padat untuk mendapatkan isolat-isolat tunggal dengan metode sebar dan gores media CMC padat, diinkubasi pada suhu optimum selama 3 hari. Setiap 100 mL media CMC padat mengandung ekstrak ragi 0,2 g, *beef extract* 0,4 g, pepton 0,51 g, KH_2PO_4 0,1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,02 g, CaCl_2 0,3 g, FeCl_3 0,028 g, Na_2HPO_4 0,1 g, CMC 0,5 g dan bacto agar 2,5 g (Baharuddin dkk., 2010). Masing-masing isolat diinokulasikan dalam media CMC cair, diinkubasi pada suhu optimum selama 3 hari, pada kondisi non-aerasi. Banyaknya sel bakteri yang tumbuh pada masing-

masing media diukur dengan menggunakan Spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 600 nm.

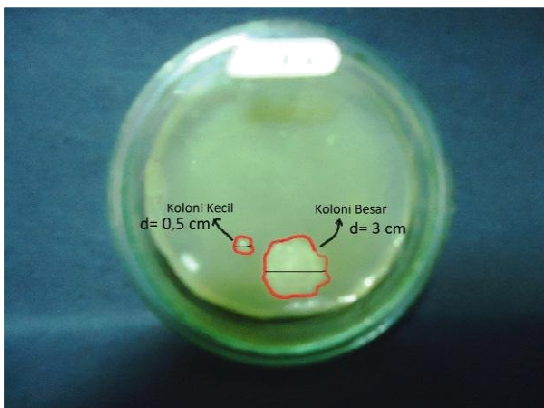
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Seleksi Isolat Bakteri yang Paling Efektif Menghasilkan Enzim Selulase

Isolat bakteri ditanam pada media padat CMC dengan metode *streak*, *spread* dan *pengenceran* untuk memperoleh isolat tunggal bakteri selulolitik termofilik dalam bentuk koloni yang tumbuh pada suspensi kompos, dikultivasi pada suhu 50 °C. Pada hari ketiga tampak dua koloni bakteri, yang diberi nama KB (Koloni Besar) dan KK (Koloni Kecil), berdasarkan karakteristiknya seperti pada tabel IV.1. Langkah selanjutnya masing-masing koloni ditumbuhkan pada media CMC baru untuk penentuan isolat yang paling efektif dalam menghasilkan enzim selulase.

Tabel 3.1 Karakteristik isolat bakteri KK dan KB

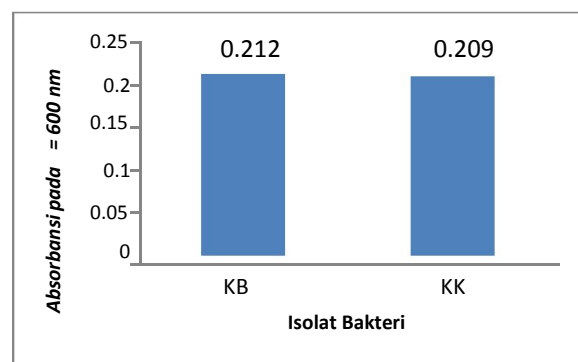
Isolat Koloni	Morfologi		
	Warna	Bentuk	Tepi
KB	Putih tulang	Bulatan besar, menyatu	tidak beraturan
KK	Bening	Bulatan kecil, menyebar	Tidak beraturan



Gambar. 3.1 Isolat bakteri KK dan KB
Seleksi isolat bakteri koloni kecil

(KK) dan isolat koloni besar (KB) dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh masing-masing isolat tunggal bakteri selulolitik termofilik dalam media CMC, dimana kemampuan tumbuh bakteri selulolitik berbanding lurus dengan enzim selulase yang dihasilkan. Isolat bakteri yang tumbuh efektif dalam media CMC cair pada kondisi kultivasi non-aerasi ditunjukkan dengan banyaknya sel yang tumbuh pada media CMC. Hal ini dikarenakan pada kondisi sebenarnya bakteri kompos berada pada tempat yang tertimbun didalam kompos yang minim oksigen (mikroaerofil). Kondisi optimum bakteri KB dalam dalam menghasilkan enzim selulase dilihat dari kekeruhannya, semakin keruh berarti semakin banyak sel yang ada, sehingga enzim selulase

yang dihasilkan akan semakin banyak. Adanya oksigen menjadi faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri, namun bagi sebagian isolat bakteri, adanya oksigen justru menghambat pertumbuhan sel (Yung dkk., 2010). Jumlah sel yang tumbuh diasumsikan berbanding lurus dengan banyaknya enzim yang diproduksi. Banyaknya sel ditunjukkan dengan kekeruhan media yang diukur dengan Spektrofotometer *UV-Vis* dengan $\lambda = 600$ nm. Hasilnya dapat dilihat pada gambar 3.2



Gambar 3.2 Grafik efektifitas pertumbuhan isolat KB dan KK

Dari gambar IV.2 terlihat bahwa pada isolat KB (Koloni Besar) dengan kondisi kultivasi non-aerasi menunjukkan serapan yang sedikit lebih besar dari isolat KK (koloni Kecil). Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri KB

tumbuh sedikit lebih optimal dari pada isolat bakteri KK.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan yang telah dipaparkan, dapat disimpulkan bahwa telah dihasilkan isolat bakteri selulolitik termofilik yang diisolasi dari kompos

pertanian desa Bayat, Klaten Jawa Tengah yakni isolat bakteri KB dan KK.

Isolat bakteri selulolitik termofilik

tumbuh optimum dalam media CMC pada suhu 50 °C dengan isolat bakteri KB tumbuh sedikit lebih optimal dari isolat bakteri KK.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Bashori, K.A., 2011, Isolasi Komunitas Bakteri Termofilik Selulolitik dari Kompos Identifikasi secara Fenotipik dan Genotipik dengan Metode SSCP, *Skripsi*, Fakultas MIPA, Universitas Diponegoro, Semarang
- Aminin, A.L.N., Madayanti, F., Aditiawati, P., dan Akhmaloka, 2007, 16S Ribosomal RNA-Based Analysis of Thermophilic Bacteria in Gedongsongo Hot Spring, *Microbiology Indonesia*, Vol. 1, No.1, ISSN 1978-3477
- Baharuddin, A.S., Razak, M.N.A., Hock, L.S., Ahmad M.N., Aziz, S.A., Rahman, N.A.A dan Shah, U.K.M., 2010, Isolation and Characterization of Thermophilic Cellulase-Producing Bacteria from Empty Fruit Bunches-Palm Oil Mill Effluent Compost, *American Journal of Applied Sciences*, 7: 56-62
- Bai, S., Kumar, R.M., Kumar, D.J., Mukesh, Balashanmugam P, Kumaran. Bala M.D., dan Kalaichelvan P.T., 2012, Cellulase Production by *Bacillus subtilis* isolated from Cow Dung, Department of Biotechnology, *KSR College of Arts and Science*, Tiruchengode, TN, India
- Bhat, M.K., 2000, Cellulases and related enzymes in biotechnology, *Biotechnol Adv.*, 18, 355–383
- Jang, H.D., dan Chen, K.S., 2003, Production and Characterization of Thermostable Cellulases from *Streptomyces* Transformant T3-1, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19: 263–268
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T.C., Rachmania, N., dan Satria, H., 2009, Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya, *Makara Sains*, Vol. 13, No. 1, 33-38
- Rahayu, s, Fredy T, Maggy T., J.K. Hwang, dan Y.R. Pyun, 1999, Eksplorasi Bakteri Termofilik Penghasil Kitinase asal Indonesia, *Penelitian Ilmu Hayat*, IPB
- Tika, I.N, Redhana I.W dan Ristiati, N.P, 2007, Isolasi Enzim Lipase Termotabil Dari Bakteri Termofilik Isolat Air Panas Banyuwedang Kecamatan Gerogak, Buleleng Bali, *Akta Kimindo Vol. 2 No. 2: 109 – 112*
- Trismilah, D dan Sumaryanto, 2005, Produksi Xilanase Pengaruh Komposisi Media Pada Produksi Xilanase dari *Bacillus stearothermophilus* DSM 22 Menggunakan Substrat Kulit Pisang, *Jurnal Sains dan Teknologi BPPT*, vol.II, 66-69

Yung-Chung Lo, Wei-Chung Lu, Chun-Yen Chen, Wen-Ming Chen, dan Jo-Shu Chang, 2010, Characterization and high-level production of xylanase from an indigenous cellulolytic bacterium *Acinetobacter junii* F6-02 from southern Taiwan soil, *Biochemical Engineering Journal* 53 77–84