
POTENSI ISOLAT BAKTERI PROTEOLITIK DARI PROSES PEMBUATAN
PUPUK ORGANIK SEBAGAI STARTER PENGOLAHAN LIMBAH
PETERNAKAN

*POTENTIAL OF PROTEOLYTIC BACTERIA ISOLATES FROM THE PROCESS OF
MAKING ORGANIC FERTILIZER AS A STARTER FOR FARM WASTE
MANAGEMENT*

Received : Des 25th 2020

Accepted : Apr 9th 2021

Nadhira Yahdiyani*¹
Akhdad Hidayatulloh¹
Lilih Siti Nurhayati¹

¹Fakultas Peternakan,
Universitas Padjadjaran,
Sumedang.

*Korespondensi:
Nadhira Yahdiyani

Fakultas Peternakan,
Universitas Padjadjaran,
Sumedang.

Jalan Raya Bandung-Sumedang
KM 21 Jatinangor, Sumedang.
45363.

e-mail:

nadhira.yahdiyani@unpad.ac.id

Abstract. Cattle farms produce waste in the form of feces and urine, the handling of this waste must be managed properly so that it can reduce the adverse effects. One way to use it is to process it into fertilizer. During the process of making microorganism fertilizer helps the process of degradation of complex compounds, one of which plays a role is proteo-lytic bacteria. The purpose of this study is to obtain proteo-lytic bacterial isolates that will be used as a starter in the manufacture of fertilizer. This research was conducted experimentally with research stages including isolation of proteolytic bacteria from the process of making fertilizer, measurement of proteolytic index and morphological cha-racterization of proteolytic bacteria microscopically and microscopically. From the results, 7 isolates of proteolytic bacteria with the largest proteolytic index were 1.51 of NS 3 isolates with the characteristics of small round colonies, flat edges, clear colors, flat surfaces and cell characteristics of bacilli and gram negative isolates.

Keywords: *waste; fertilizer; bacteria; proteolytic; proteolytic index*

Sitasi:

Yahdiyani, N., Hidayatulloh, A. & Nurhayati, L. S. (2021). Potensi Isolat Bakteri Proteolitik Dari Proses Pembuatan Pupuk Organik Sebagai Starter Pengolahan Limbah Peternakan. *Jurnal teknologi Hasil Peternakan*, 2(1):17-23.

PENDAHULUAN

Usaha dalam bidang peternakan khususnya sapi menghasilkan limbah yang dapat berpotensi menjadi sumber pencemaran apabila tidak dikelola dengan baik. Proses pengolahan limbah peternakan menjadi produk olahan misalnya pupuk organik cair dan biogas perlu dilakukan dengan baik guna mendapatkan hasil yang berkualitas (Asep, dkk., 2013). Proses pengolahan limbah peternakan terutama feses memiliki konsep dasar yakni mengubah substrat menjadi komponen-komponen organik yang lebih sederhana dengan proses fermentasi yang dibantu oleh mikroorganisme lokal yang ada sepanjang proses pengolahan limbah tersebut. Limbah yang dihasilkan dari aktivitas ternak sapi mempunyai potensi untuk dikembangkan menjadi berbagai macam produk yang bermanfaat, contoh yang sederhana adalah memanfaatkan limbah peternakan menjadi pupuk organik (padat dan cair) atau mengolahnya menjadi biogas (Adityawarman, dkk., 2015).

Pada proses pembuatan pupuk dan biogas mikroorganisme yang berperan merupakan *indigenous* mikroorganisme yang dapat hidup selama proses pengolahan limbah peternakan. Mikroorganisme tersebut berperan sebagai agen pengurai bahan dasar menjadi komponen yang lebih sederhana selama proses pengolahan limbah peternakan tersebut (Firdus dkk., 2010). Salah satu bakteri yang berperan adalah bakteri proteolitik yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim protease yang berperan menguraikan

protein menjadi peptida dan asam amino.

Pengolahan limbah memiliki kelemahan yakni belum adanya mikroorganisme spesifik yang dapat bekerja secara optimal dalam proses tersebut, dimana salah satu indikator optimal adalah diperolehnya produk yang beragam dalam setiap proses pengolahan limbah. Guna mendapatkan proses yang efisien dan hasil yang optimal maka perlu dilakukan seleksi mikroorganisme yang memiliki potensi besar untuk dijadikan starter dalam pengolahan limbah peternakan.

Adapun manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh bakteri proteolitik dari kompos yang dapat menghasilkan enzim protease dengan aktivitas yang relatif lebih baik, sehingga dapat digunakan pada berbagai macam aplikasi seperti bioremediasi limbah. Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan isolasi dan identifikasi bakteri proteolitik dengan aktivitas proteolitik tinggi sehingga dapat digunakan sebagai starter dalam pembuatan limbah.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, cawan petri, gelas ukur, *hockey stick*, inkubator, jangka sorong, jarum ose, labu erlenmeyer, *laminar air flow*, lampu bunsen, mikro pipet, rak tabung reaksi, refrigerator, tabung reaksi, timbangan analitik, vortex. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah dekomposan, NaCl fisiologis, etanol 70%, media Nutrient Agar (NA, Himmedia India)

dan skim (Prolac), larutan McFarland, Gram Stains-Kit yang terdiri dari Crystal Violet, Iodine, Safranin, dan Decolorizer, kertas cakram 6mm.

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental, dengan objek penelitian adalah dekomposan. Dekomposan merupakan hasil dekomposisi campuran antara feses sapi dan jerami dengan perbandingan karbon dan nitrogen (30 : 1). Dekomposan diinkubasi secara anaerob selama 7 hari dengan tujuan mengubah bahan organik kompleks menjadi bahan organik yang lebih sederhana dengan bantuan mikroba. Parameter uji isolasi dan karakterisasi bakteri proteolitik yang di seleksi menggunakan indeks proteolitik.

1. Penyiapan Media Nutrien Agar-Skim

Pembuatan media Nutrient Agar (NA) dimulai dengan menimbang NA sebanyak 28 gram ditambahkan skim 3% (30g) dan dilarutkan dengan akuades sehingga volumenya menjadi 1000 mL. Larutan yang terbentuk dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian media dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 25 mL dan dibiarkan memadat.

2. Isolasi Bakteri Proteolitik

Pembuatan media *Muller Hinton Agar* (MHA) dimulai dengan menimbang MHA sebanyak 19 gram dan dilarutkan ke dalam Labu erlenmeyer de-

ngan akuades hingga mencapai volume 500 mL, kemudian dipanaskan hingga homogen. Media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuang media ke dalam cawan petri sekitar 25 mL dan dibiarkan hingga memadat.

3. Pengukuran Aktifitas Proteolitik

Aktifitas proteolitik diukur dengan menghitung indeks proteolitik isolat. Mula-mula disiapkan suspensi isolat bakteri uji dalam NaCl fisiologis. Suspensi bakteri proteolitik distandarkan dengan McFarland 0.5 yang setara dengan jumlah bakteri 1.5×10^8 CFU/ml diswab ke media NA-skim. Media Na-skim yang telah dibuat sumuran dimasukkan suspensi bakteri sebanyak 10 μ L, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah selesai inkubasi dilakukan pengukuran zona bening.

Zona bening yang terbentuk disekitar koloni menggambarkan aktivitas proteolitik dari bakteri. Dilakukan pengukuran zona bening untuk memperoleh indeks proteolitik. Indeks proteolitik diukur menggunakan rumus berikut (Sumardi dkk, 2018)

$$\text{Indeks Proteolitik} = \frac{a - b}{b}$$

Keterangan:

a = diameter zona bening (mm)

b = diameter koloni (mm)

Koloni dengan indeks proteolitik tiga tertinggi dilakukan pengamatan makroskopis meliputi bentuk koloni,

warna koloni, permukaan koloni dan tepian koloni dan pengamatan mikroskopis. Pengamatan morfologis secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pengecatan Gram.

4. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan mengambil satu ose dari setiap koloni dari isolasi, selanjutnya difiksasi diatas nyala api, dibilas crystal violet dan dibiarkan 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air kemudian dibilas larutan Iodine selama 1 menit, dicuci kembali dengan air mengalir, lalu ditetesi decolourizer sampai tidak ada lagi warna violet. Cuci kembali dengan air dan ditetesi safranin selama 1 menit lalu cuci kembali dengan air kemudian keringkan. Terakhir diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 100. Sel yang telah terwarnai bersifat gram positif jika sel berwarna biru gelap atau ungu dan bersifat gram negatif bila sel berwarna merah muda (Rahmawati, 2016).

5. Pewarnaan Spora

Pewarnaan spora dilakukan dengan membuat suspensi bakteri yang ditambahkan Carbol Fuchsin dengan perbandingan 1:1 dalam tabung reaksi steril. Kemudian suspensi bakteri tersebut dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit diatas penangas air. Sus-

pense bakteri tersebut kemudian dibuat preparat ulas pada gelas objek. Preparat di tetesi H₂SO₄ 1% kemudian dibilas dengan akuades. Preparat selanjutnya ditetesi Methylene Blue dan didiamkan selama 2 menit. Preparat selanjutnya dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Preparat yang telah selesai diwarnai lalu ditetesi dengan minyak Immer-si dan diamati menggunakan mikroskop perbesaran 10x100 (Sunatmo,2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian didapatkan tujuh isolat dengan aktivitas proteolitik yang diberikan kode NS (Tabel 1). Isolat dengan aktivitas proteolitik ditandai dengan adanya zona bening disekeliling koloni. Zona bening terbentuk karena bakteri dapat mencerna kasein yang terdapat pada susu skim pada medium. Bakteri menghasilkan enzim protease yang menguraikan protein kasein pada susu skim menjadi asam amino (Zahidah dan Shovitri, 2013) Dari Tabel 1 didapatkan 3 isolat dengan indeks proteolitik tertinggi yaitu isolat NS-3, NS-6 dan NS-4 dengan indeks proteolitik 0,57, 0,49 dan 0,40. Ketiga isolat tersebut kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis Tabel 2 dan Tabel 3.

Setelah didapatkan morfologi koloni kemudian dipelajari morfologi selnya yaitu pewarnaan, hasilnya tercantum pada Tabel 3.

Tabel 1. Isolat proteolitik hasil isolasi dan Indeks Proteolitiknya.

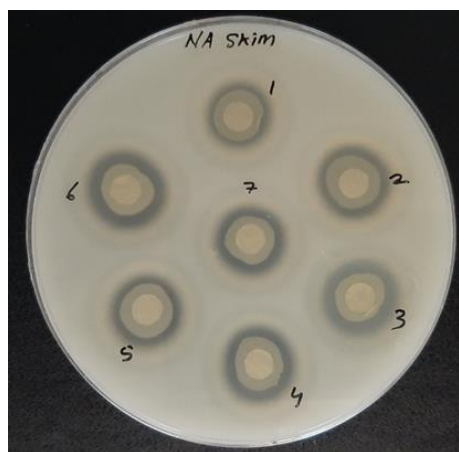
No.	Kode Bakteri	Diamter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Proteolitik
1	NS-3	0,96	1,51	0,57
2	NS-6	0,98	1,46	0,49
3	NS-4	0,99	1,39	0,40
4	NS-7	0,95	1,31	0,38
5	NS-5	1,07	1,35	0,26
6	NS-1	0,98	1,22	0,24
7	NS-2	1,09	1,35	0,24

Tabel 2. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Proteolitik

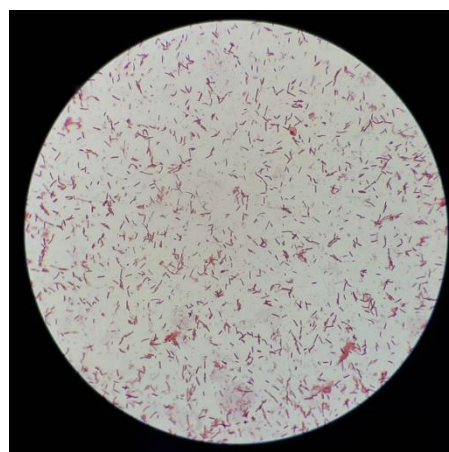
No	Kode Isolat	Bentuk koloni	Tepi	Warna	Permukaan
1	NS-3	Bulat kecil	Rata	Bening	Datar
2	NS-6	Bulat kecil dengan lapisan timbul	Rata	Putih susu	Cembung
3	NS-4	Bulat kecil	Rata	Bening	Datar

Tabel 3. Morfologi Sel Isolat Bakteri Proteolitik

No	Kode Isolat	Bentuk sel	Pewarnaan Gram	Spora
1	NS-3	Basil	Negatif	negatif
2	NS-6	Basil	Positif	negatif
3	NS-4	Basil	Negatif	negatif



Gambar 1



Gambar 2

Gambar 1. Aktivitas Proteolitik Isolat 1,2,3,4,5,6 dan 7 Pada Media NA-Skim

Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Ns 3 Diamati Menggunakan Mikroskop Dengan Perbesaran 100x

Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram untuk isolat NS 3 diperoleh hasil merupakan gram negatif ditandai dengan warna isolat yang merah dalam Gambar 2. Berdasarkan karakteristik yang didapatkan diduga isolat NS 3 merupakan bakteri dengan genus *Pseudomonas* yang morfologinya mirip yaitu berbentuk batang, gram negatif dan non spora. Sesuai dengan pendapat Puspitasari (2012) bahwa kelompok bakteri proteolitik adalah bakteri dari genus *Bacillus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptobacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*. Untuk mengidentifikasi isolat bakteri NS3 sampai spesiesnya diperlukan metoda yang lain seperti identifikasi molekular gen 16sRNA.

KESIMPULAN

Didapatkan tujuh isolat bakteri proteolitik dan didapatkan tiga isolat dengan indeks proteolitik tertinggi. Indeks proteolitik terbesar adalah 1,51 dari isolat NS 3 dengan karakteristik koloni berbentuk bulat kecil, tepi rata, warna bening, permukaannya datar serta karakteristik sel isolatnya berbentuk basil dan gram negatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada hibah riset internal (Riset Tenaga Kerja Unpad) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Adityawarman, A.C., Salundik & Lucia C. (2015). Pengolahan Limbah Ternak Sapi Secara Sederhana di Desa Pattalassang Kabupaten Sin-

jai Sulawesi Selatan. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan* 3(3):171-177.

Asep, S., Benito, A.K., & Yuli, A.H. (2013). Pengelolaan Limbah Ternak pada Kawasan Budidaya Ternak Sapi Potong di Kabupaten Majalengka. 13(1).

Firdus & Muchlisin Z.A. (2010). Degradation Rate Of Sludge and Water Quality of Tangki septik (Water Closed) by Using Starbio and Freshwater Catfish as Biodegradator. *Jurnal Natural*. 10(1).

Puspitasari, Fajar Diah. Shovitri, Maya. & Kuswytasari. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*. 1(1).

Rahmawati, Nur. (2016). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik Dari Feses Hewan Luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*). *Jurnal Biologi*. 5(4).

Sunatmo, T.I. (2007). Eksperimen Mikrobiologi Dalam Laboratorium. Penerbit Ardy Agency, Bogor.

Sumardi, Agustrina, R., Ekowati, C.N., & Pasaribu, Y.S. (2018). Characterization of protease from bacillus sp. on medium containing FeCl₃ exposed to magnetic field 0.2 mt. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 130.

Zahidah & Shovitri. (2013). Isolasi, Karakterisasi Dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegrasi Lim-

bah Organik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, 2(1).