

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL JERAMI PADI DI PERSAWAHAN BOGOR BARAT

Siti Nur Azizah

Akademi Farmasi Jember

Jl. Pangandaran No.42 Jember 68125

Email: azizah.ariza@gmail.com

ABSTRAK

Kandungan selulosa pada jerami padi tergolong tinggi yaitu sekitar 35%. Sebagai senyawa yang paling melimpah di dunia, selulosa dari jerami padi dapat digunakan sebagai sumber penghasil bakteri selulolitik yang dapat menghasilkan enzim selulase sebagai katalis yang bermanfaat dalam bidang industri, pertanian dan kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri selulolitik asal jerami padi di Desa Kampung Jawa Kelurahan Setigede Kecamatan Bogor Barat dengan cara isolasi dan karakterisasi isolat yang didapat pada medium CMC agar. Hasil isolasi pada media CMC agar diperoleh sebanyak 5 isolat bakteri selulolitik yaitu isolat J1, J2, J3, J4 dan J5. Hasil skrining aktivitas selulolitik secara semikuantitatif menggunakan metode congo red menunjukkan bahwa isolat J2 memiliki nilai IAE tertinggi yaitu 1,84. Hasil karakterisasi secara fisik yaitu makroskopis dan mikroskopis serta karakterisasi secara biokimia sesuai petunjuk *Bergey's Manual of systematic bacteriology* menunjukkan bahwa isolat J2 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp.

Kata kunci: Bakteri selulolitik, jerami padi, karakterisasi bakteri

PENDAHULUAN

Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa. Beberapa genus bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik adalah *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Clostridium*, *Cellivibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Poliangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula* (Rao 1994), *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, dan *Aeromonas* (Anand *et al.* 2009). Bakteri selulolitik dijumpai pada habitat yang kaya akan selulosa, salah satunya adalah jerami padi.

Jerami padi merupakan sumber bahan organik yang mudah didapat dan memiliki kandungan selulosa tinggi mencapai 35% (Wati *et al.* 2007). Selulosa ini merupakan senyawa paling melimpah di dunia sebagai sumber daya alam terbarukan sehingga dapat dijadikan bahan baku potensial sebagai makanan, bahan bakar, senyawa kimia dan

tambahan obat-obatan. Selama ini jerami padi dianggap tidak memiliki nilai ekonomi, bahkan cenderung dianggap limbah yang menyebabkan lingkungan bau dan tidak sehat. Pada umumnya jerami hanya dibakar atau ditinggal di lahan persawahan. Disisi lain pengolahan dengan cara membakar jerami dapat meningkatkan konsentrasi gas rumah kaca (Litbang Deptan 2008). Bakteri selulolitik yang memiliki aktivitas selulolitik tinggi dapat diisolasi dari jerami padi yang memiliki kadar selulosa tinggi. Hal ini diduga karena bakteri *indigenous* lebih mudah untuk beradaptasi dengan lingkungan yang sama. Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi bakteri selulolitik dari jerami padi yang berpotensi tinggi dalam proses dekomposisi jerami padi.

Berdasarkan latar belakang tersebut tujuan praktikum ini adalah untuk mengisolasi bakteri, melakukan karakterisasi morfologi dan fisiologi serta untuk mengukur aktivitas enzim selulolitik bakteri.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel

Sampel jerami padi yang telah membusuk diambil dari sawah di Desa Kampung Jawa Kelurahan Setigede Kecamatan Bogor Barat. Pada saat pengambilan sampel juga dilakukan pengukuran suhu dan pH sampel.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sebanyak 1gr sampel jerami dilarutkan dalam 9 mL larutan gasfis (NaCl 0,85%) lalu divortex sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan hingga 10^{-6} . Pada pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6} diambil 0,1 mL dan diinokulasikan secara *spread plate* pada media *Carboximethyl cellulase* (CMC). Komposisi media CMC per 100 mL mengandung 0,02 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,075 gr KNO_3 ; 1 gr CMC; 0,05 gr K_2HPO_4 ; 0,002 gr $FeSO_4$; 0,004 gr $CaCl_2$; 0,2 gr ekstrak yeast; 1,8 gr agar; 0,1 gr glukosa. Kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam.

Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh terpisah dan menunjukkan karakter morfologi yang berbeda. Isolat tersebut diinokulasikan pada media CMC baru dengan metode *streak* kuadran. Lalu inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 48 jam. Amati adanya koloni tunggal yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut murni.

Aktivitas Selulolitik Secara Semikuantitatif

Pengujian aktivitas selulolitik dilakukan dengan metode *Congo Red*. Larutan *Congo Red* (0,1% w/v) dituang pada kultur dan dibiarkan selama 15 menit. Larutan kemudian dibuang dan dibilas dengan NaCl 1 M selama 15 menit sebanyak dua kali selanjutnya diamati. Isolat bakteri yang mampu menguraikan CMC ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni setelah diuji dengan metode *Congo Red*.

Indeks aktivitas selulase dapat ditentukan dengan cara mengukur rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni. Isolat yang memiliki indeks aktivitas enzim terbesar ditumbuhkan dalam media agar miring CMC untuk digunakan uji lebih lanjut.

Karakteristik Bakteri Selulolitik Terpilih Karakter makroskopis

Karakter makroskopis dilakukan dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri (bentuk koloni, elevasi, tepi dan struktur dalam koloni). Kemudian hasil pengamatan disesuaikan dengan petunjuk identifikasi menggunakan *Bergey's Manual of systematic bacteriology* oleh Vos et al. (2009)

Karakter mikroskopis

1. Pengecatan Gram

Pengecatan Gram dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri yang berumur 24 jam, kemudian dilarutkan kedalam 5 ml aquades steril dan divortek. Larutan tersebut kemudian diambil 100 µl dan dipindahkan pada permukaan kaca objek kemudian difiksasi. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 1-2 tetes kristal violet selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan di keringanginkan. Pewarna kedua adalah ditambahkan 1 tetes iodine. Selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Pewarna ketiga adalah etil alkohol 95% selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir. Pewarna ketiga adalah safranin selama 2 menit dan dicuci dengan air mengalir, dikering anginkan, lalu diamati dengan mikroskop. Bakteri Gram Positif berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah.

2. Pewarnaan Endospora

Bakteri yang menunjukkan Gram positif dilanjutkan pewarnaan endospora dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat bakteri 1 ose berumur 7 hari, kemudian dilarutkan kedalam 5 ml aquades steril dan divortek. Larutan tersebut

kemudian diambil 100 μl dan dipindahkan pada permukaan kaca objek kemudian difiksasi. Kaca objek tersebut kemudian digenangi dengan malakit hijau 1-2 tetes selama 10 menit dan di fiksasi hingga menguap. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir, setelah kering ditambah safranin 1-2 tetes selama 1 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, selanjutnya diamati dengan mikroskop.

Uji Fisiologi Bakteri Selulolitik

Uji fermentasi glukosa

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi tabung durham dan media PRGB (*Phenol Red Glucose Broth*) yang mengandung tripton, *carbohidrat solution* dan *phenol red*. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan media menjadi kuning.

Uji sitrat

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam media agar miring *Simmons citrate* secara goresan. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Reaksi positif diindikasikan dengan warna biru, sedangkan reaksi negatif media tetap berwarna hijau.

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam dimedia CMC miring diinokulasikan diinokulasikan pada media TSIA dengan cara tusuk-gores (*stab and streak*). Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan media berwarna gelap atau hitam.

Uji indol

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam media yang mengandung triptopan 1%. Kemudian selama 24 jam pada suhu 30 °C. Setelah inkubasi selanjutnya ditambahkan 0,5 mL reagen kovac's. Reaksi positif ditandai

dengan terbentuknya lapisan warna merah pada permukaan media.

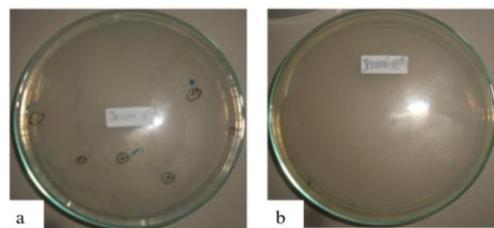
Uji MR-VP

Sebanyak 1 ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan kedalam dua media cair MR-VP. Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah inkubasi selanjutnya ditambahkan reagen MB (metil merah) sebanyak 10 tetes pada media cair MR dan ditambahkan reagen AB (alcohol- α -naftol dan KOH 40%) 10 tetes pada media cair VP. Reaksi positif diindikasikan adanya warna merah pada media cair MB. Serta reaksi positif pada media cair VP ditandai dengan warna merah yang menandakan bakteri mampu menghasilkan 2,3 butadienol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sebanyak 5 isolat bakteri selulolitik berupa koloni tunggal dan memiliki morfologi berbeda telah berhasil diisolasi dari jerami yang berasal dari lahan persawahan di Desa Kampung Jawa Kelurahan Setigede Kecamatan Bogor Barat (Gambar 1). Kelima isolat tersebut tumbuh pada media CMC agar pada pengenceran 10^{-5} dan bakteri sudah tidak tumbuh pada pengenceran 10^{-6} .



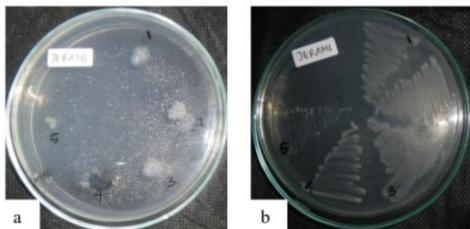
Gambar 1. Hasil isolasi bakteri selulolitik pada media CMC agar : a) pengenceran 10^{-5} , dan b) pengenceran 10^{-6}

Jerami padi tersebut digunakan sebagai salah satu substrat dalam isolasi bakteri selulolitik pada penelitian ini. Hal ini dikarenakan jerami merupakan bahan organik yang memiliki kandungan selulosa

tinggi (38%). Saraswati *et al* (2010) menyatakan bahwa bakteri selulolitik banyak ditemukan pada limbah organik yang mengandung selulosa.

Kelima isolat bakteri hasil isolasi menunjukkan kemampuan tumbuhnya pada media CMC *plate*. Sehingga isolat-isolat tersebut disebut bakteri selulolitik karena mampu memanfaatkan selulosa pada media CMC sebagai satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhannya. Selulosa pada media CMC merupakan selulosa yang berbentuk amorf, sedangkan selulosa pada jerami selain mengandung selulosa amorf juga mengandung selulosa kristalin. Sehingga diduga kelima isolat bakteri selulolitik ini juga mampu menghidrolisis selulosa amorf yang terdapat di jerami.

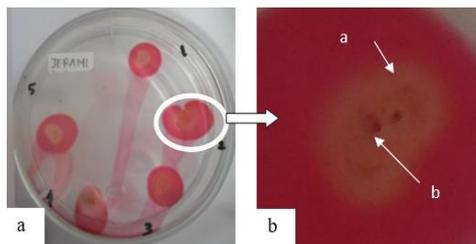
Setiap koloni tunggal dari 5 isolat hasil isolasi tersebut yang telah dibuat replika yaitu untuk pewarnaan *Congo Red* pada uji aktivitas enzim selulase secara kuantitatif dan untuk uji fisiologis ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil *replica plating*: a) untuk uji aktivitas selulolitik secara semikuantitatif, dan b) untuk uji fisiologis

Aktivitas Selulolitik Secara Semikuantitatif

Secara umum adanya aktivitas selulolitik pada kelima isolat bakteri asal jerami ini selain ditunjukkan dengan kemampuan tumbuh pada media CMC *plate*, selain itu juga diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni selama inkubasi 24 jam yang nampak setelah di uji dengan *Congo Red* 0,1% (Gambar 3).



Gambar 3. isolat bakteri pada media CMC 1% menggunakan metode *Congo Red* setelah inkubasi 24 jam: a) zona bening, b) koloni bakteri

Zona bening tersebut menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang diekskresikan oleh isolat-isolat bakteri dengan diameter tertentu. Produk hidrolisis tersebut berupa gula sederhana monosakarida dan tidak terjadi ikatan kompleks dengan *Congo Red*. Menurut Anand *et al* (2009) *Congo Red* akan berikatan secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan β -1,4 glikosida, pada penelitian ini polisakarida yang terkandung dalam media uji adalah CMC. Sedangkan warna merah menunjukkan sisa selulosa yang tidak terhidrolisis sehingga terjadi pembentukan selulosa *Congo Red*.

Berdasarkan indeks aktivitas enzim selulase kelima isolat bakteri memiliki indeks aktivitas selulolitik antara 0,15 sampai 2,12 (Tabel 1). Isolat J2 merupakan salah satu isolat yang memiliki indeks aktivitas selulase tinggi yaitu 1,84. Perbedaan indeks aktivitas selulolitik tersebut diduga karena selulase diekskresikan oleh masing-masing isolat bakteri yang berbeda potensinya untuk menguraikan substrat dalam media pertumbuhan (Sudiana *et al*. 2001). Semakin besar indeks selulase pada isolat maka semakin besar pula aktivitas selulolitik yang dihasilkan (Apun *et al*. 2000). Sehingga isolat J2 dipilih untuk uji lanjut karena diduga merupakan isolat potensial yang

memiliki indeks selulolitik tinggi dibanding isolat 1, 3 dan 5.

Tabel 1. Indeks aktivitas enzim selulase isolat bakteri pada uji semikuantitatif

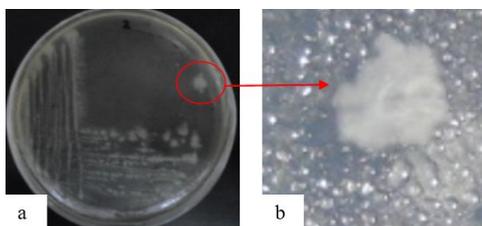
No.	Kode isolat	Rata-rata θ zona bening	Rata-rata θ koloni	Indeks Aktivitas Enzim Selulase
1.	J1	0,85	0,4	1,12
2.	J2	1,85	0,65	1,84
3.	J3	0,95	0,82	0,15
4.	J4	1,25	0,4	2,12
5.	J5	0,85	0,55	0,55

Keterangan: Angka dicetak tebal merupakan isolat terpilih dengan IAE tinggi yang diuji lebih lanjut.

Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Isolat J2 sebagai Bakteri Selulolitik Terpilih

Karakteristik Morfologi Isolat J2

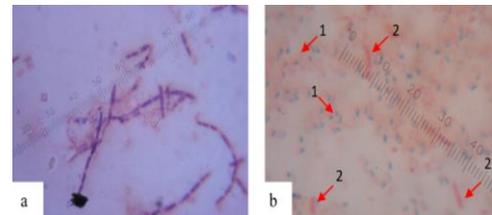
Hasil karakterisasi morfologi secara makroskopis pada isolat J2 dilakukan dengan mengamati *single colony* pada *steak* kuadran yang ditunjukkan pada Gambar 4. Isolat J2 memiliki warna koloni putih, bentuk koloni yaitu tidak beraturan, elevasi koloni mengalami pertumbuhan tipis dan merata, tepi koloni seperti berfilamen dan struktur dalam memiliki dapat meneruskan cahaya meskipun benda dibawahnya tidak tampak jelas.



Gambar 4. Karakterisasi morfologi isolat J2 secara makroskopis di media CMC plate setelah inkubasi 48 jam: a) *steak* kuadran, dan b) *single colony*

Hasil karakterisasi morfologi mikroskopis isolat J2 dengan pengecatan Gram yang ditunjukkan pada Gambar 5a. Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan isolat J2 memiliki warna sel ungu, sel berbentuk

batang dengan ujung sel membulat. Isolat J2 mempunyai spora dengan bentuk batang pendek yang terlihat berwarna hijau sedangkan sel vegetatifnya berwarna merah (Gambar 5b).



Gambar 5. a) pengecatan Gram; b) pengecatan endospora, 1) spora berwarna hijau 2) sel vegetatif berwarna merah. Pembesaran 1000x menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX21

Berdasarkan karakterisasi makroskopis dan mikroskopisnya pada isolat J2 (Gambar 4 dan Gambar 5) yang dirujuk berdasarkan identifikasi *Bergey's Manual of systematic bacteriology* oleh Vos *et al.* (2009), isolat J2 memiliki kemiripan dengan Genus *Bacillus*. Genus *Bacillus* memiliki karakterisasi antara lain koloni dengan diameter 2-7 mm, warna koloni meliputi krem, putih, namun ada yang memproduksi pigmen berwarna hitam, coklat, orange, merah muda dan kuning. Sedangkan warna koloni isolat J2 juga berwarna putih. Bentuk koloni *Bacillus* umumnya tak beraturan

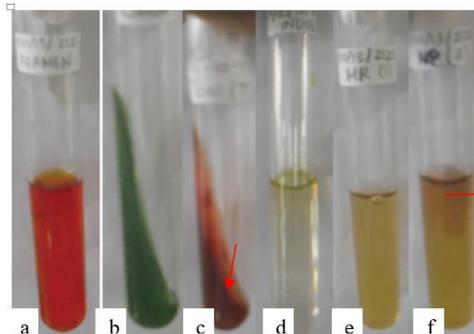
(*irreguler*) namun ada yang bulat (*circular*). Hal ini juga terdapat pada isolat J2 yaitu memiliki bentuk koloni tak beraturan (*irreguler*). Bentuk tepi koloni *Bacillus* antara lain bergelombang (*undulate*), bergerigi (*crenate*) dan berfilamen (*fimbriate*). Isolat J2 juga memiliki bentuk tepi koloni berfilamen (*fimbriate*). Struktur dalam *Bacillus* adalah kesat, granular, halus biasanya licin (*smooth*), dan tanpak lembab. Namun pada Isolat J2 dapat meneruskan cahaya meskipun benda dibawahnya tidak tanpak jelas (*translucent*). Elevasi atau permukaan koloni pada *Bacillus* umumnya memiliki pertumbuhan tipis biasanya merata (*effuse*), tebal namun merata (*raised*), dan membukit (*convex*) sedangkan pada isolat J2 pertumbuhannya tipis dan merata (*effuse*).

Karakterisasi mikroskopis pada isolat J2 menggunakan pengecatan Gram karena teknik ini merupakan langkah awal identifikasi sel bakteri yang memisahkan bakteri menjadi Gram Positif dan Gram negatif berdasarkan komposisi dan struktur kimiawi dinding selnya. Isolat J2 merupakan Gram positif karena sel berwarna ungu. Hal ini terkait dengan struktur dinding sel bakteri Gram positif yang mengandung hampir 90% peptidoglikan dan mengikat pewarna utama yaitu *Crystal violet*. Penambahan *iodine* meningkatkan afinitas pewarna pada sel dengan membentuk kompleks *Crystal violet-iodine* dalam sel sehingga sel tetap berwarna ungu. Selanjutnya dinding sel bakteri Gram positif mengalami dehidrasi setelah penambahan alkohol, pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan membran menurun, kompleks *Crystal violet-iodine* tidak dapat keluar dari sel sehingga sel tetap ungu. Sehingga walaupun sel ditambah pewarna terakhir yaitu safranin, sel tidak terpengaruh yang menyebabkan sel tetap berwarna ungu (Pelczar dan Chan 2008; White 2007).

Isolat J2 bakteri memiliki kemampuan mengubah sel vegetatif menjadi spora yang menjadi ciri dari morfologi sel bakteri. Semua endospora pada sel isolat J2 terlihat sudah lisis dari sel vegetatifnya sehingga disebut spora bebas yang terwarnai menjadi hijau oleh pewarna *Malacit green* (Gambar 5b). Pada saat pewarnaan endospora, *Malacit green* akan mewarnai sel vegetatif bakteri. Sedangkan endospora memiliki sifat sukar menyerap zat warna namun sekali diberi zat warna, pewarna tersebut sukar dilunturkan. Sehingga selama pewarnaan dengan *Malacit green* perlu pemanasan agar mempermudah penetrasi *Malacit green* kedalam dinding endospora. Sel vegetatif akan terdekolorasi dengan air saat pembilasan sehingga saat diwarnai dengan safranin, sel vegetatif menjadi merah sedangkan endospora tetap berwarna hijau. Endospora merupakan bentuk dorman dari sel vegetatif, sehingga

Karakteristik Fisiologi Isolat J2

Hasil karakterisasi secara fisiologis menunjukkan bahwa isolat J2 bersifat positif dalam uji produksi H_2S pada media TSIA dan produksi 2,3 butanadiol pada media VP sedangkan uji lainnya menunjukkan hasil yang negatif (Gambar 6 dan Tabel 2).



Gambar 6. Hasil uji fisiologis isolat J2 pada berbagai media: a) Uji fermentasi glukosa (-), b) Uji sitrat (-), c) Uji TSIA (+), d) Uji indol (-), e) Uji MR (-) dan f) Uji VP (+)

Pengujian karakterisasi secara fisiologi pada bakteri akan menampakkan keragaman yang sangat besar dalam hal tipe nutrisi yang dijumpai di antara bakteri. Sehingga uji fisiologis sangat penting dilakukan untuk mengidentifikasi suatu bakteri (Madigan *et al.* 2009). Bakteri metabolismenya bersifat inaktif dan mampu bertahan dalam tekanan fisik dan dikarenakan endospora memiliki struktur lebih kompleks dengan berbagai lapisan yang tidak dijumpai di sel vegetatif. Jika memperoleh media atau lingkungan yang cocok spora bebas akan berubah menjadi sel vegetatif sehingga sel vegetatif dapat tumbuh dan bahkan membentuk endospora lagi (Madigan *et al.* 2009) selulolitik isolat J2 secara fisiologis diuji melalui fermentasi glukosa, sitrat negatif, TSIA, indol dan MR-VP.

Fermentasi glukosa negatif pada isolat J2 artinya isolat tersebut tidak mampu memproduksi asam organik dan gas melalui fermentasi glukosa (Gambar 6a). Menurut Cappuccino dan Sherman (1983) fermentasi glukosa bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis glukosa menghasilkan asam organik (asam asetat, asam laktat, asam format dan asam suksinat) dan gas (karbondioksida dan hidrogen). Adanya produksi asam organik menyebabkan pH media fermentasi menurun sehingga indikator *Phenol red* yang terdapat pada media berubah warna dari merah menjadi kuning. Adanya gas CO₂ ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung pada tabung Durham.

Uji sitrat negatif menunjukkan bahwa Isolat J2 tidak dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi karena tidak memiliki enzim sitrat permease. Hal ini ditunjukkan pada media uji tidak mengalami perubahan warna biru (Gambar 6b). Sitrat permease berperan dalam membawa sitrat dari luar ke dalam sel. Sitrat yang berada di dalam sel akan masuk ke dalam siklus Krebs. Pada siklus Krebs, sitrat akan diubah dengan bantuan enzim sitrase menjadi asam oksaloasetat dan asam asetat. Selanjutnya asam oksaloasetat dan asam asetat diubah menjadi asam piruvat dan karbondioksida. Karbondioksida bereaksi dengan air dan natrium yang terdapat pada media *Simmon's citrat* agar sehingga membentuk natrium bikarbonat. Keberadaan natrium bikarbonat mengakibatkan media bersifat basa sehingga merubah warna indikator *bromthymoll blue* dari hijau menjadi biru (Cappuccino dan Sherman 1983).

Uji TSIA menunjukkan hasil positif artinya isolat J2 memiliki kemampuan untuk memecahkan dextrose, laktosa dan sukrosa yang terdapat pada media uji. Selain itu isolat J2 juga mampu menghasilkan H₂S yang ditunjukkan dengan perubahan media menjadi gelap (Gambar 6c). Reaksi ini dibantu oleh enzim sistein desulfurase yang dihasilkan oleh isolat J2 untuk mereduksi sulfur organik pada asam amino sistein dalam media uji menjadi H₂S (Cappuccino & Sherman 1983).

Tabel 2. Karakter Fisiologi Isolat J2

No.	Uji	Hasil	Keterangan
1.	Pewarnaan Gram	Gram positif	sel batang (<i>bacillus</i>) dengan ujung sel membulat (<i>rounded end</i>) dan berupa sel tunggal
2.	Pewarnaan endospora	Ada endospora	Endospora terlepas dari sel vegetatifnya
3.	H ₂ S	Positif	Terjadi perubahan warna medium menjadi gelap yaitu coklat hitam kemerahan
4.	VP	Positif	Terbentuk lapisan merah dipermukaan, namun warnanya lemah
5.	MF	Negatif	Tidak terbentuk cincin merah
6.	Sitrat	Negatif	Tidak mengalami perubahan warna biru pada medium
7.	Fermentasi glukosa	Negatif	Tidak mengalami perubahan warna orange pada medium

Uji indol negatif menunjukkan bahwa Isolat J2 tidak dapat mengoksidasi asam amino esensial yaitu triptopan sebagai sumber karbonnya untuk membentuk indol. Hal ini dikarenakan isolat J2 tidak mempunyai enzim triptopanase yang mengubah triptopan menjadi indol, asam piruvat, dan amonia. Sehingga saat pengujian isolat J2 tidak membentuk cincin merah dipermukaan media. Jika bakteri mampu menghasilkan indol maka akan membentuk lapisan merah dipermukaan media cair setelah ditambah reagen *Kovac's*. Warna merah terjadi karena terbentuknya kompleks antara indol dan p-dimetilaminobenzaldehyd dari *Kovac's* triptofan (Lay 1994).

Uji MR negatif menunjukkan bahwa isolat J2 tidak dapat menghasilkan asam campuran dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam media MR. Hal ini ditunjukkan karena pada media uji tetap berwarna kuning atau tidak mengalami perubahan warna menjadi merah setelah penambahan reagen merah metil.

Uji VP menunjukkan hasil positif artinya isolat ini mampu melakukan fermentasi butandiol yaitu 2,3-butanediol. Hal ini ditunjukkan dengan adanya lapisan berwarna merah muda pada permukaan

media setelah diberi reagen α naphthol 5% dan KOH 40%. KOH 40% akan mengubah acetylmethylcarbinol menjadi diacetyl. Sedangkan α naphthol akan membuat diacetyl menjadi warna merah (Goldman dan Green 2009).

Isolat J2 berdasarkan karakteristik fisiologis bersifat aerob karena tidak dapat menghasilkan oksigen dan tidak dapat melakukan fermentasi gula dan asam. Namun isolat J2 masih hanya mampu melakukan fermentasi dengan menghasilkan 2,3 butanidol, namun hasil uji ini pun sangat lemah karena cincin yang terbentuk tidak begitu berwarna merah. Karakter ini juga memiliki kemiripan dengan genus *Bacillus*. Menurut Madigan *et al.* (2009) ada dua genus bakteri Gram positif yang membentuk endospora yaitu *Bacillus* dan *Clostridium*. *Bacillus* bersifat aerob atau fakultatif aerob serta sedikit yang melakukan fermentasi. Sedangkan genus *Clostridium* yang bersifat fermentatif.

PENUTUP

Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat bakteri selulolitik pada jerami asal persawahan Bogor Barat. Indikator selulolitik ditunjukkan dengan adanya zona

bening disekitar koloni pada media CMC agar. Berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri terpilih yaitu isolat J2 memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian kadar glukosa hasil hidrolisis jerami menggunakan isolat J2.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, Vennison, Sankar, Prabhu, Vasam, Raghuraman, Geoffrey, dan Vendan. 2009. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut Of *Bombyx Mori* that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *J of Insect Science*. 10(107): 1-20.
- Apun K, Jong BC dan Salleh MA. 2000. Screening and Isolation of A Cellulolytic and Amylolitic *Bacillus* from Sago Pith Waste. *J of Gen. Appl. Microbiol*. 46: 263 -267.
- Cappuccino JG. dan Sherman N. 1983. *Microbiology: A Laboratory Manual*. California: Cummings Publishing Company, Inc.
- Goldman E dan Green LH. 2009. *Practical handbook of microbiology, second edition*. New York: CRC Press.
- Lay BW. 1994. Analisis mikroba di laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lehninger AL. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Terjemahan oleh Thenewidjaj, M. *Principles of Biochemistry*. Jakarta: Erlangga.
- Litbang Deptan. 2008. Tinggalkan budaya membakar jerami. (om line) <http://www.litbang.deptan.go.id/berita/online/603>. [15 Oktober 2013].
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV dan Clark DP. 2009. *Biology of microorganisms. Twelfth edition*. New York: Pearson as Benjamin Cummings.
- Moat AG, Foster JW dan Spector MP. 2002. *Microbial Physiology Fourth edition*. New York: Wiley-liss, Inc.
- Pelezar M J dan Chan ECS. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan Hadioemoto, R.S., Imas, T., Jitromo, S.S., dan Angka, S.L. *Elements of Microbiology*. Jakarta: UI Press.
- Rao SNS. 1994. *Mikroba Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Edisi Kedua*. Jakarta: UI-PRESS.
- Saraswati R, Santosa E dan Yuniarti E. 2010. Organisme Perombak Bahan Organik. (online). <http://balittanahlitbang.deptan.go.id/pupuk10.pdf>. [2 Maret 2012].
- Sastrohamidjojo H. 2005. *Kimia Organik*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Sudiana, Rahayu, Imaduddin, dan Rahmansyah. 2001. Cellulolytic Bacteria of Soil of Gunung Halimun Nasional Park. *Berita Biologi*. 5(6): 703-710.
- Wati LS, Kumari BS, Kundu S. 2007. Paddy straw as substrat for ethanol production. *Indian J Microbiol*. 47: 26-29.
- White D. 2007. *The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes*. New York: Oxford University Press.
- Vos PD, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH dan Whitman WB. 2009. *Bergey's Manual of systematic bacteriology: second edition Volume Tree the Firmicutes*. New York: Springer Dordrecht Heidelberg London.

“Halaman Sengaja dikosongkan”