

IDENTIFIKASI BAKTERI POTENSIAL PADA FASE PEMATANGAN KOMPOS MANUR

Fenti Fatmawati^{1,2}, Made Puspasari Widhiastuty¹, Fida Madayanti¹

¹Kelompok Keahlian Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Bandung

²Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Bandung

email: fenti.fatmawati@stfb.ac.id

Received: 29 January 2018; Revised: March 2018; Accepted: March 2018; Available online: April 2018

ABSTRAK

Pengomposan merupakan salah satu sumber dalam mencari mikroorganisme potensial penghasil enzim. Selama proses pengomposan, terjadi perubahan komunitas mikroorganisme yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti perubahan suhu. Proses pengomposan pada penelitian ini terbagi menjadi 5 tahap pengomposan yaitu fase inisiasi/ awal pengomposan (suhu pengomposan 28°C), mesofilik pertama (suhu 50 °C), termofilik (suhu 55 °C), mesofilik kedua (suhu 50 °C) dan fase pematangan (suhu 37 °C). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi bakteri potensial yang dapat menghasilkan enzim amilase, selulase, xilanase dan lipase pada fase pematangan/ fase akhir pada proses pengomposan manur sapi. Dari hasil penelitian didapatkan bakteri F5A yaitu bakteri potensial dari hasil fase pematangan/fase akhir kompos manur sapi. Bakteri ini sangat potensial karena memiliki aktivitas amilase, selulase, xilanase dan lipase. Dari hasil analisis filogenetik diketahui bahwa bakteri F3A memiliki homologi terdekat dengan *Viridibacillus arenosi* dengan kemiripan 98%.

Kata Kunci: Amilase, Lipase, Selulase, Xilanase, *Viridibacillus arenosi*

PENDAHULUAN

Menurut Setyorini dkk (2006), kompos adalah bahan organik yang telah mengalami proses dekomposisi oleh mikroorganisme pengurai, sehingga dapat dimanfaatkan untuk memperbaiki sifat-sifat tanah. Bahan organik tersebut dapat berupa daun-daunan, jerami, alang-alang, rumput-rumputan, dedak padi, batang jagung, sulur, carang-carang serta kotoran hewan. Sisa tanaman, hewan, atau kotoran hewan, juga sisa jutaan makhluk kecil yang berupa bakteri, jamur, ganggang, hewan satu sel, maupun banyak sel merupakan sumber bahan organik yang sangat potensial bagi tanah, karena perannya yang sangat penting terhadap perbaikan sifat fisik, kimia dan biologi tanah. Selama proses pengomposan, terjadi perubahan komunitas mikroorganisme yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti perubahan suhu. Pengomposan limbah organik ini merupakan salah satu sumber dalam mencari mikroorganisme-mikroorganisme penghasil enzim (Glavica, 2002). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Glavica dkk (2002) menunjukkan adanya aktivitas enzim protease, amilase, esterase, selulase, ligninase dan xilanase pada kompos dengan bahan dasar serpihan kayu dan limbah industri farmasi.

Amilase, selulase, xilanase dan lipase merupakan enzim yang memiliki nilai ekonomi tinggi dalam bidang industri. Amilase merupakan enzim yang dapat dimanfaatkan dalam industri pangan, alkohol, tekstil, farmasi, pembuatan kertas dan proses fermentasi lainnya (Afifi dkk, 2008). Selulase banyak diaplikasikan pada industri tekstil (*biopolishing* kain), pada deterjen untuk meningkatkan kecerahan dan kelembutan kain, untuk meningkatkan kualitas gizi dan pencernaan pakan ternak, pembuatan bioetanol, pengolahan jus buah dan kue pada teknologi pangan (ElSersy dkk, 2007). Xilanase adalah enzim yang banyak digunakan dalam industri makanan untuk produksi xilosa dimana gula xilosa ini dapat dikonsumsi oleh penderita diabetes (Thoyib dkk, 2006).

Lipase telah banyak diaplikasikan di industri makanan, kertas, tekstil, kulit, pengolahan limbah, produksi bahan kimia, obat-obatan, kosmetik, sintesis surfaktan (Kumar dkk, 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi bakteri potensial yang dapat menghasilkan enzim amilase, selulase, xilanase dan lipase pada fase pematangan/ fase akhir pada proses pengomposan manur sapi.

METODE PENELITIAN

Isolasi Bakteri

Pada penelitian ini dibuat kompos dari manur sapi. Proses pengomposan pada penelitian ini terbagi menjadi 5 kondisi yaitu fasa inisiasi/ awal pengomposan (suhu pengomposan 28°C), mesofilik pertama (suhu 50 °C), termofilik (suhu 55 °C), mesofilik kedua (suhu 50 °C) dan fasa pematangan (suhu 37 °C) yang dicampur dengan jerami padi pada perbandingan 3:1. Namun sampel kompos yang diambil untuk diuji lebih lanjut hanya kompos pada fase akhir pengomposan. Suhu akhir pengomposan yaitu suhu 37°C. Sampel dilarutkan dengan aquades dengan perbandingan 1:10. Sebanyak 0.1 mL larutan stok dari larutan sampel diinokulasikan ke dalam 10 mL media LB cair. Isolat diinkubasi pada suhu yang sesuai dengan suhu 37°C selama 16 jam dengan menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm. Setelah itu kultur ditumbuhkan dalam media LB dengan cara *spread*. Kultur selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam.

Skrining Enzim

Koloni tunggal dari koleksi mikroba yang telah diperoleh, ditanam pada media selektif dan diinkubasi selama 16 jam pada suhu 37°C. Adapun metode skrining untuk enzim amylase, selulase, xilanase dan lipase sesuai dengan metode yang digunakan oleh Fatmawati (2016).

Isolasi DNA Kromosom

Isolasi DNA kromosom dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA kromosom atau DNA genom dari komponen-komponen sel lain. Metode yang digunakan sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Fatmawati (2016). Setelah dilakukan isolasi DNA kromosom lalu dilakukan amplifikasi menggunakan PCR. Hasil PCR kemudian dilihat melalui elektroforesis gel agarosa dan diamati di bawah sinar UV (360 nm).

Sekuensing 16S rRNA

Penentuan urutan nukleotida dilakukan di MACROGEN Korea Selatan dengan metode dye-end terminator.

Analisis Homologi

Urutan nukleotida gen 16S rRNA yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan program BLAST (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi) untuk mengidentifikasi pengelompokan bakteri. Program BLAST membandingkan urutan nukleotida yang dihasilkan dan mencari kecocokan dengan urutan nukleotida yang ada pada GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/).

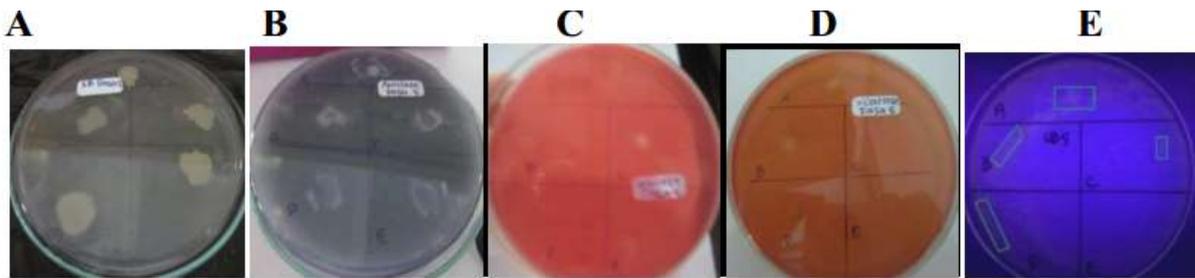
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

Dari hasil isolasi didapatkan koloni tunggal. Koloni yang tumbuh diamati morfologinya. Koloni dengan morfologi berbeda ditumbuhkan kembali di media LB padat yang baru kemudian dibuat koleksinya. Adapun perbedaan morfologinya tersebut yaitu terletak perbedaan bentuk koloni dan juga ukuran. Koloni dengan morfologi yang berbeda diperoleh sebanyak 5 koloni. Dari ke 5 koloni ini masing-masing dinamakan F5A, F5B, F5C, F5D dan F5E.

Skrining Enzim

Lima koloni bakteri dari hasil isolasi yang tumbuh pada fase akhir/ fase pematangan lalu ditumbuhkan kembali di dalam media selektif enzim. Koloni bakteri yang memiliki aktivitas amilase, selulase dan xilanase akan menghasilkan zona yang jelas di sekitar koloni. Sedangkan koloni bakteri yang memiliki aktivitas lipase akan menghasilkan fluorescent bila dilihat di bawah sinar UV.



Gambar 1. Skrining enzim dari fase pematangan kompos

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa A adalah kontrol positif. B adalah amilase. C adalah selulase. D adalah xilanase. E adalah lipase. Ada 5 koloni terpilih yang diskriminasi oleh media selektif.

Tabel 1. Aktivitas Enzim pada fasa pematangan kompos

	Koloni				
	F5A	F5B	F5C	F5D	F5E
A	+++	+++	+++	+++	+++
S	++	-	++	-	-
X	++	++	-	-	-
L	++	++	+	++	-

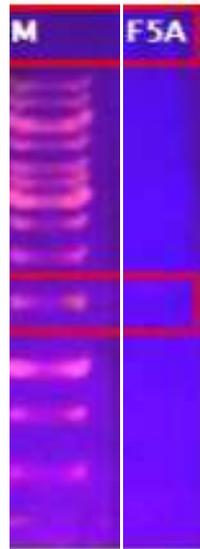
Dari tabel diatas dapat digambarkan bahwa tanda (+) mewakili tingkat aktivitas . Berdasarkan hasil skrining pada fasa pematangan dipilih koloni F5A untuk diidentifikasi lebih lanjut. Adapun alasan pemilihan bakteri tersebut adalah berdasarkan aktivitasnya yang tinggi dilihat dari hasil skrining. Selain itu pemilihan bakteri ini didasarkan juga oleh jumlah aktivitas enzim yang dihasilkan oleh koloni bakteri tersebut.

Isolasi DNA Kromosom

Bakteri potensial F5A kemudian diisolasi DNA kromosomnya untuk dilakukan identifikasi lebih lanjut. DNA hasil isolasi lalu dielektroforesis menggunakan gel agarosa. Amplifikasi DNA kromosom dilakukan menggunakan teknik PCR lalu hasilnya dielektroforesis dengan gel agarosa. DNA kromosom hasil isolasi digunakan sebagai template dalam proses PCR.

Sekuensing 16S rRNA

Primer dan metode yang digunakan dalam proses PCR ini sama dengan primer pada Fatmawati (2016). Keberhasilan amplifikasi gen 16S rRNA dapat dilihat dari besarnya ukuran DNA yang didapatkan yaitu ±1500 pb (Gambar 2) yang merupakan ukuran gen 16S. Ini menunjukkan bahwa proses amplifikasi telah berhasil dilakukan .



Gambar 2. Hasil amplifikasi PCR koloni F5A

Analisis Homologi

Dari hasil analisis homologi menggunakan BLAST didapatkan bahwa bakteri F5A memiliki homologi dengan bakteri lain. Analisis filogenetik dilakukan dengan menggunakan program Mega 5. Berdasarkan hasil analisis pohon filogenetik diketahui bahwa bakteri F3A memiliki homologi terdekat dengan *Viridibacillus arenosi* dengan kemiripan 98%.

KESIMPULAN

Bakteri F5A adalah bakteri potensial dari hasil fase pematangan pengomposan manur sapi. Bakteri ini sangat potensial karena memiliki aktivitas amylase, selulase, xilanase dan lipase. Dari hasil analisis filogenetik diketahui bahwa bakteri F3A memiliki homologi terdekat dengan *Viridibacillus arenosi* dengan kemiripan 98%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kelompok keahlian Biokimia, FMIPA Institut Teknologi Bandung yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, A.F., Kamel, E.M., Khalil,A.A. (2008) : Purification and Characterization of α -amylase from *Penicillium olsonii* under the Effect of some Antioxidant Vitamins, *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry* 3(1) : 14-21.
- El-Sersy, N.A .,Abd-Elnaby,H., Abou-Ela,G,M.,Ibrahim,H.A.H.,El-Toukhy. (2010) : Optimization, Economization and Characterization of Cellulase Produced by Marine *Streptomyces ruber*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(38), pp. 6355-6364
- Fatmawati, F.,Widhiastuty,M.P.,Madayanti,F. (2016). Identifikasi Bakteri Potensial Penghasil Enzim Amilase, Selulase, Xilanase dan Lipase Pada Fase Termofilik Kompos Manur Sapi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Vol 16 Nomor 1 Agustus 2016.
- Glavica, J., Friedrich, J., Pavko, A. (2002) : Enzyme Activities During Composting of Waste Microbial Biomass from Pharmaceutical Industry, *Acta Chim. Slov.*, 49, 885-892
- Setyorini,D.,Saraswati,R.,Kosman.E.A. (2006). Pupuk Organik dan Pupuk Hayati. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian
- Thoyib, H., Setyaningsih, R., Suranto. (2006) : Seleksi dan Identifikasi Bakteri Alkalifilik Penghasil Xilanase dari Tanah Bukit Krakitan, Bayat, Klaten. *Bioteknologi* 4 (1): 6-12