

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik pada Tanah Gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya, Kecamatan Pelangiran, Kabupaten Inhil, Riau

Isolation and Characterization of Cellulolytic Bacteria in Peatlands in Tagagiri Tama Jaya Village, Pelangiran District, Inhil Regency, Riau

Siti Isnaini Fauziah*, Muslimin Ibrahim

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

* e-mail: sitiisnainif@gmail.com

Abstrak. Bakteri pendegradasi selulosa berperan dalam mendegradasi selulosa menjadi glukosa menggunakan enzim selulase. Tujuan penelitian ini untuk mendeskripsikan karakteristik setiap isolat dan mendeskripsikan potensi bakteri dalam mendegradasi selulosa menggunakan media CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) dari tanah gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya, Kecamatan Pelangiran, Kabupaten Inhil, Riau. Jenis penelitian yang digunakan merupakan observasional. Bakteri selulolitik diisolasi dari tanah gambut menggunakan media CMC dengan metode *pour plate method*. Karakterisasi dilakukan secara morfologi dan fisiologi biokimia. Uji potensi berdasarkan indeks selulolitik (IS) yang dilihat dari zona bening hasil pewarnaan *congo red* 0,1%. Hasil isolasi diperoleh 24 bakteri pendegradasi selulosa. Sebanyak 10 isolat dengan IS tertinggi dikarakterisasi yaitu isolat SL5; SL7; dan SL15 dengan kategori rendah, SL17 kategori sedang, dan SL9; SL11; SL12; SL13; SL14; dan SL22 dengan kategori tinggi. Sebanyak 6 anggota genus bakteri selulolitik yang ditemukan dari hasil karakterisasi yaitu *Neisseria* (SL5; SL9; dan SL12), *Micrococcus* (SL7), *Bacillus* (SL11) *Pseudomonas* (SL13; SL14 dan SL17), *Flavobacterium* (SL15), serta *Actinobacillus* (SL22)

Kata kunci: Bakteri selulolitik; tanah gambut; *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC)

Abstract. Cellulose degrading bacteria play a role in degrading cellulose to glucose using a cellulase enzyme. The purpose of this study is to describe the characteristics of each isolate and the potential of bacteria to degrade cellulose using CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) media from peat soils in the Tagagiri Tama Jaya Village, Pelangiran District, Inhil Regency, Riau. The type of research used is observational. Cellulolytic bacteria was characterized from peat soils using the CMC media with the pour plate method. The characterization is done morphologically and biochemically physiology. Potential test based on cellulolytic index (IS) that is seen from the clear zone of the 0,1% congo red staining results. The results of isolation obtained 24 cellulose degrading bacteria. The 10 isolates with the highest IS were characterized isolate SL5; SL7; and SL15 with low category, isolate SL17 with medium category, and isolate SL9; SL11, SL12; SL13; SL14; and SL22 with high category. Six members of the genus cellulolytic bacteria were found from the result of characterization, namely *Neisseria* (SL5; SL9; and SL12), *Micrococcus* (SL7), *Bacillus* (SL11), *Pseudomonas* (SL13; SL14; and SL17), *Flavobacterium* (SL15), and *Actinobacillus* (SL22).

Key words: Cellulolytic bacteria; peat soil; *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC)

PENDAHULUAN

Bakteri selulolitik berperan penting untuk mendegradasi kompleks selulosa menjadi lebih sederhana berupa glukosa menggunakan enzim selulase. Bakteri selulolitik ini di alam berfungsi untuk mendegradasi selulosa supaya dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan (Khairiah dkk., 2013). Rahayu dkk. (2014) menambahkan, bakteri pendegradasi selulosa (selulolitik) mampu menghidrolisis selulosa kompleks menjadi oligosakarida sederhana dan akhirnya menjadi glukosa karena memiliki enzim selulase. Menurut Khairiah dkk. (2013), Bakteri pendegradasi selulosa yang terdapat pada tanah gambut dapat menjadi degradator bahan organik dan membantu ketersediaan hara tanah sehingga dapat meningkatkan kesuburan tanah gambut tersebut. Selain itu, juga dapat bermanfaat dibidang industri misalnya industri tekstil dan kertas, dibidang pangan digunakan untuk meningkatkan nutrisi pakan ternak (Rahayu dkk., 2014). Serta dibidang lingkungan untuk mengurangi pencemaran oleh limbah organik (Murtyaningih dan Hazmi, 2017).

Bakteri selulolitik banyak dijumpai pada habitat yang kaya kandungan selulosa, salah satunya adalah tanah gambut. Tanah gambut di Indonesia tersebar sangat luas terutama di Sumatera, Kalimantan dan Papua. Luas lahan gambut di provinsi Riau sangat luas yaitu mencapai 4,1 juta Ha (Suwondo dkk., 2012).

Tanah gambut banyak mengandung bahan-bahan organik yang berasal dari pelapukan tumbuhan yang mati dan mengalami penguraian oleh bakteri dan mikroorganisme lain (dekomposer). Lapisan tanah organik ini mengandung bahan organik sisa dedaunan, akar-akar, ranting, serta batang yang telah terakumulasi ribuan tahun (Utomo, 2008). Menurut Khairiah dkk. (2013), gambut mengandung bahan organik yang tidak bisa langsung dimanfaatkan karena masih dalam bentuk senyawa kompleks, salah satunya selulosa. Selulosa adalah sebuah polimer linier yang lebih besar dari 1000 subunit glukosa panjang dengan ikatan 1,4- β (Waluyo, 2008). Oleh karena tanah gambut mengandung banyak selulosa maka banyak pula bakteri selulolitik yang hidup di dalamnya.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Khairiah dkk. (2013), isolasi yang dilakukan untuk mengetahui bakteri pendegradasi selulosa pada tanah gambut di Desa Parit Banjar kabupaten Pontianak diperoleh 6 genus bakteri yaitu *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Acidomonas*, *Cellvibrio*, dan *Pseudomonas*. Perbedaan tanah gambut dipengaruhi oleh perbedaan kondisi lingkungan tanah gambut pada lokasi penelitian. Menurut Khairiah dkk. (2013), faktor fisik dan kimia perlu diperhatikan karena berpengaruh terhadap aktivitas bakteri selulolitik.

Bakteri pendegradasi selulosa dapat diperoleh melalui teknik isolasi dan karakterisasi, serta potensinya dalam mendegradasi selulosa dengan melihat zona bening yang terbentuk. Sementara itu, di Desa Tagagiri Tama Jaya terdapat lingkungan tanah gambut sehingga diduga banyak dan beragam pula jenis bakteri pendegradasi selulosa yang terkandung didalamnya. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai bakteri pendegradasi selulosa pada tanah gambut di daerah tersebut. Isolasi dilakukan menggunakan media selektif *carboxy methyl cellulose* (CMC), karena CMC memiliki struktur rantai yang lebih pendek dibandingkan dengan selulosa alami sehingga bakteri selulolitik lebih mudah dan cepat dalam mendegradasinya (Nofu dkk., 2014). Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan pemanfaatan bakteri pendegradasi selulosa baik secara teoritis maupun praktis.

BAHAN DAN METODE

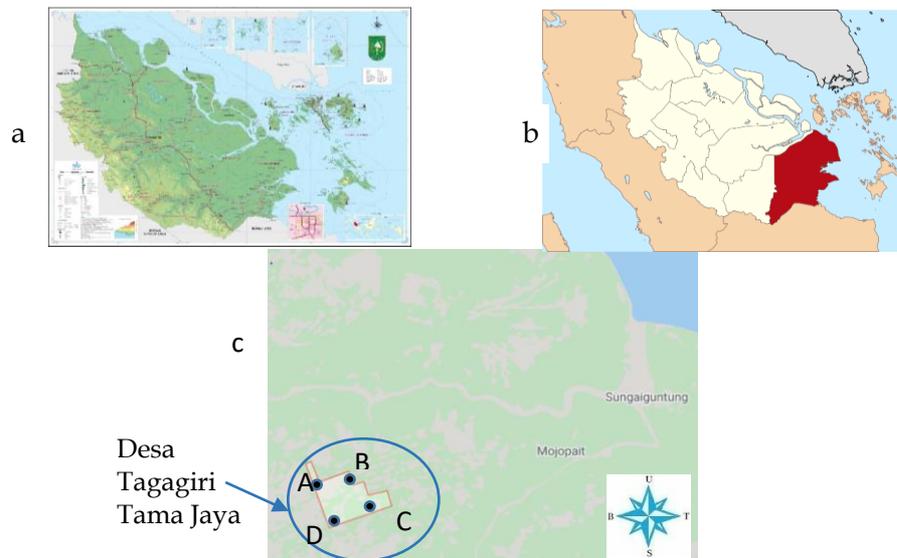
Penelitian yang dilakukan adalah observasional untuk mengetahui kemampuan bakteri pada tanah gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya, Kecamatan Pelangiran, Kabupaten Inhil, Riau. Penelitian ini dilakukan pada Juli 2019-Februari 2020. Isolasi, karakterisasi, dan uji potensi bakteri selulosa dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Gedung C9, FMIPA Unesa dan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya II (BKIPM).

Pengambilan sampel dilakukan di Desa Tagagiri Tama Jaya, Kec. Pelangiran, Kab. Inhil, Riau (Gambar 1) pada 4 lokasi yaitu A, B, C, dan D dengan jarak antar lokasi sejauh 500 meter. Masing-masing lokasi diambil sebanyak 5 titik sampling. Sehingga total 20 titik sampling. Tanah diambil menggunakan paralon pada kedalaman 20 cm (Rudiansyah dkk., 2017).

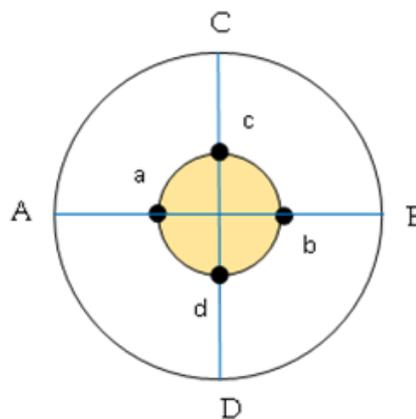
Tanah gambut dibungkus plastik kemudian dimasukkan ke dalam *cooler box* dan diberi es selama perjalanan (Triani dkk., 2005). Parameter lingkungan diukur menggunakan *thermo hygro*, termometer, dan *soil tester*. Alat-alat yang akan digunakan di sterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf. Setelah itu, dilakukan isolasi dan karakterisasi, serta uji potensi.

Menurut Rudiansyah dkk. (2017), sampel tanah (komposit) dari lokasi A, B, C, dan D masing-masing ditimbang sebanyak 10 g dan disuspensikan dengan cara dilarutkan dalam 90 ml akuades steril, sehingga total 40 g dalam 360 ml akuades kemudian divortex. Selanjutnya dilakukan pengenceran mulai dari faktor pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} dan dibiakkan ke dalam media *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) dengan teknik *duplo*. Pengisolasian dilakukan dengan teknik *pour plate method* secara aseptis menggunakan *laminar air flow* (LAF) dan dihomogenkan memutar searah angka 8 (Waluyo, 2008). Bakteri diinokulasikan selama 48 jam dengan suhu 30°C di dalam inkubator untuk menumbuhkan bakteri pendegradasi selulosa. Bakteri yang telah tumbuh dipindahkan ke *refrigerator*.

Kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa dapat dilihat dari indeks selulolitik (IS) pada media CMC. Hal tersebut dapat dilihat dari diameter zona bening yang terbentuk dari hasil pewarnaan menggunakan *congo red* 0,1% dan NaCl 1M (Rudiansyah dkk., 2017) dengan cara satu loop ose bakteri digoreskan pada media CMC membentuk lingkaran. Biakan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kemudian larutan pewarna *congo red* 0,1% diteteskan hingga menutupi keseluruhan permukaan media, lalu didiamkan selama satu menit. Setelah itu larutan *congo red* dibilas menggunakan NaCl 1M (Ulfa dkk., 2014).



Gambar 1. Peta pengambilan sampel di Desa Tagagiri Tama Jaya. a: Profinsi Riau. b: Kabupaten Inhil. c: Desa Tagagiri Tama jaya (Google maps)



Gambar 2. Pengukuran IS pada bakteri (Choi dkk., 2005). Keterangan: AB, CD : Diameter zona bening; ab, cd : Diameter koloni bakteri

Kategori nilai indeks selulolitik tergolong rendah jika ≤ 1 , sedang antara 1-2, dan tinggi jika ≥ 2 (Choi dkk., 2005). Menurut Choi dkk., 2005 rumus dalam menghitung IS adalah sebagai berikut.

$$IS = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

Sebanyak sepuluh isolat terpilih berdasarkan kemampuan dalam mendegradasi selulosa dikarakterisasi dan diidentifikasi. Karakteristik bakteri selulolitik berdasarkan karakteristik morfologi koloni (bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni). Morfologi sel (bentuk dan warna sel dengan pewarnaan gram menggunakan *methylene blue*, *crystal violet*, lugol, alkohol 96%, dan safranin. Sifat fisiologi biokimia (uji oksidatif fermentatif, *dekarboksilase ornithine*, katalase menggunakan H_2O_2 3%, oksidase menggunakan kertas oksidase, sitrat, indol menggunakan reagen kovac's, *triple sugar iron agar* menggunakan media TSIA, gelatin, fermentasi karbohidrat yaitu glukosa; maltosa; dan manitol, serta motilitas, indol, dan ornithin menggunakan media *Motility Indole Ornithine* (MIO) (Nofu dkk., 2014). Identifikasi sampai tingkat genus dengan cara mencocokkan hasil karakterisasi dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt dkk., 1994), *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria* tahun 1993, dan jurnal ilmiah.

Data kualitatif berupa IS pada media CMC. Hal tersebut dapat dilihat dari diameter zona bening yang terbentuk dari hasil pewarnaan *congo red* (Rudiansyah dkk., 2017). Zona bening menandakan kemampuan isolat dalam mendegradasi selulosa pada medium CMC. Nilai IS dihitung dengan cara membandingkan nilai diameter zona bening dan nilai diameter koloni bakteri (Kasana

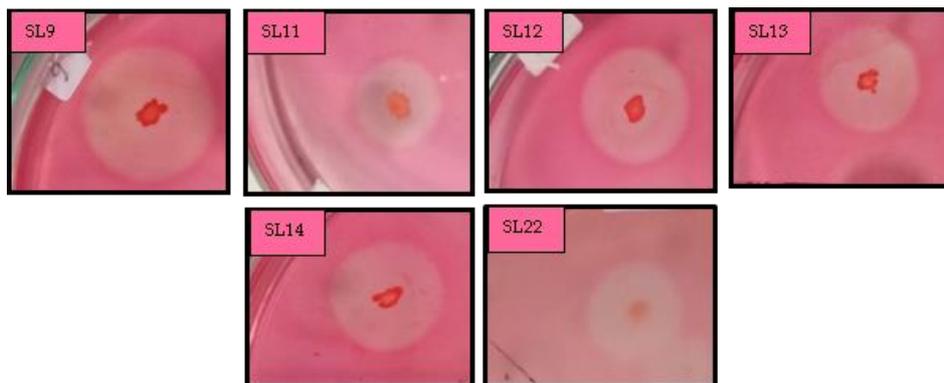
dkk., 2008). Penelitian ini merupakan deskriptif observatif, data yang berupa Indeks Selulolitik (IS) dan karakteristik setiap isolat serta suhu, kelembaban, dan pH tanah dianalisis dengan statistik deskriptif.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh isolat bakteri pendegradasi selulosa yang berhasil diisolasi dari tanah gambut di Ds. Tagagiri Tama Jaya, Kec. Pelangiran, Kab. Inhil, Riau. Sampel diambil di 4 lokasi pengambilan, pada masing-masing lokasi diambil 5 titik sampling yang kemudian dikompositkan. Dilakukan pengukuran fisika berupa suhu udara, kelembaban udara, suhu tanah, kelembaban tanah, serta pengukuran kimia berupa pH tanah. Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan diperoleh 24 isolat bakteri selulolitik yang berhasil diisolasi pada media CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) dengan teknik duplo isolat tersebut yaitu SL1, SL2, SL3, SL4 dan seterusnya hingga SL24. Pemberian nama isolat didasarkan oleh sifat bakteri, yakni bersifat selulolitik.

Tabel 1. Faktor lingkungan di Ds. Tagagiri Tama Jaya, Kec. Pelangiran, Kab. Inhil, Riau

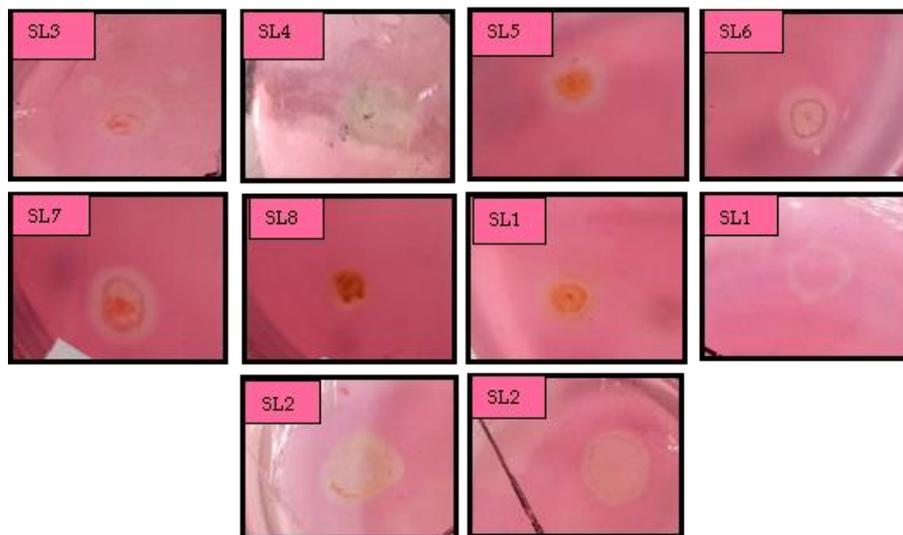
| Lokasi | Rata-rata kelembaban udara (%) | Rata-rata suhu udara (°C) | Rata-rata kelembaban tanah | Rata-rata suhu tanah (°C) | Rata-rata pH tanah |
|-----------|--------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------|
| A | 62 | 34 | 7,6 (sangat basah) | 30 | 7,5 |
| B | 63 | 33,6 | 10 (sangat basah) | 30 | 7,0 |
| C | 58 | 35 | 8,3 (sangat basah) | 30 | 7,34 |
| D | 67 | 32,4 | 7,6 (sangat basah) | 30 | 7,18 |
| Rata-rata | 62,5 | 33,75 | 8,4 (sangat basah) | 30 | 7,25 |



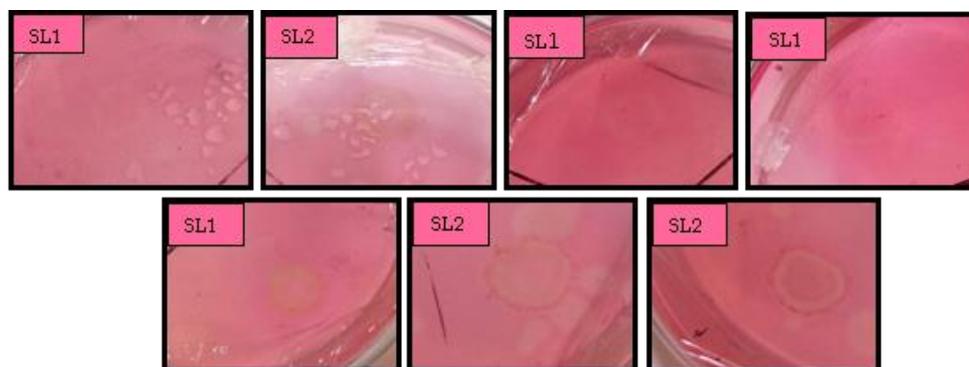
Gambar 3. Zona bening yang menginterpretasikan indeks selulolitik tinggi



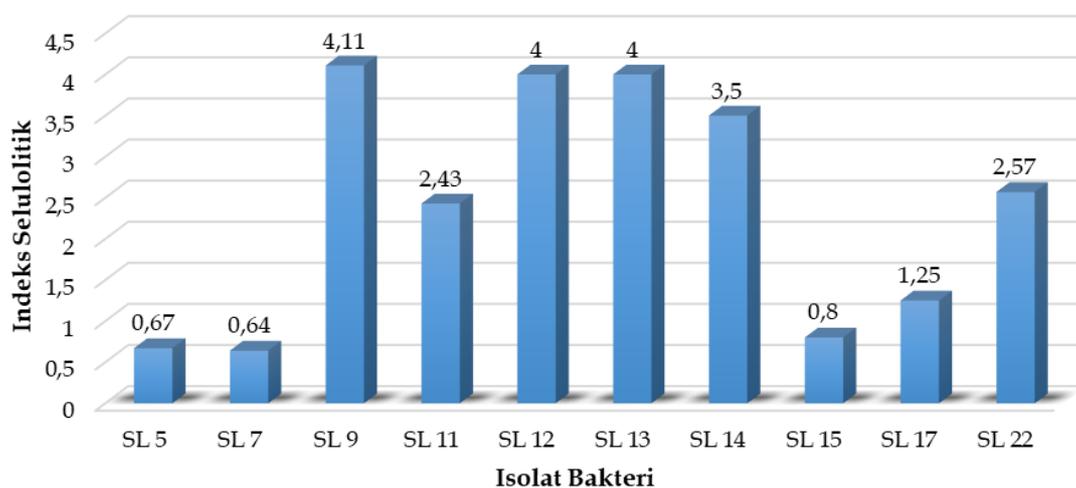
Gambar 4. Zona bening yang menginterpretasikan indeks selulolitik sedang



Gambar 5. Zona bening yang menginterpretasikan indeks selulolitik rendah



Gambar 6. Zona bening yang menginterpretasikan indeks selulolitik nol



Gambar 7. Indeks selulolitik sepuluh bakteri terpilih

Sebanyak 24 isolat bakteri selulolitik diuji kemampuannya dalam mendegradasi selulosa membentuk zona bening yang berbeda-beda. Indeks selulolitik bakteri pendegradasi selulosa dapat dilihat pada gambar berikut ini. Berdasarkan hasil uji indeks selulolitik, dipilih sepuluh isolat bakteri selulolitik yang dapat mendegradasi selulosa tertinggi yaitu isolat SL5; SL7; dan SL15 dengan kategori rendah karena nilai indeks selulolitik kurang dari 1, isolat SL17 dengan kategori sedang karena nilai indeks selulolitik antara 1 dan 2, serta isolat SL9; SL11; SL12; SL13; SL14; dan SL22 dengan kategori tinggi karena nilai indeks selulolitik lebih dari 2 (Choi dkk., 2005) (**Gambar 7.**). Setelah ditentukan sepuluh isolat bakteri pendegradasi selulosa terpilih yang memiliki IS tertinggi. Setiap isolat tersebut

kemudian dikarakterisasi secara morfologi dan fisiologi biokimia sehingga diketahui genus dari setiap isolat dengan tingkat kebenaran 100% karena telah divalidasi oleh BKIPM Kelas 1 Surabaya II.

Karakterisasi morfologi meliputi bentuk koloni, warna koloni, elevasi, tepian, karakteristik optik, karakteristik permukaan dan bentuk sel. Kemudian secara fisiologi dan biokimia berdasarkan gram, katalase, oksidase, motilitas, indol, ornithin, TSIA, H₂S, citrat, OF, gelatin, MIO, glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, dan maltosa.

Tabel 2. Karakteristik morfologi dan fisiologi biokimia bakteri pendegradasi selulosa pada tanah gambut

| Karakteristik | Isolat | | | | | | | | | | |
|----------------------|-------------------------|--------------------|------------------|-----------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|-----------------|
| | SL5 | SL7 | SL9 | SL11 | SL12 | SL13 | SL14 | SL15 | SL17 | SL22 | |
| Morfologi | Bentuk | Circular | Filamentous | Circular | Circular | Circular | Iregular | Circular | Circular | Circular | Circular |
| | Warna | Putih susu | Putih susu | Putih susu | Putih susu | Putih susu | Putih susu | Putih susu | Kuning | Putih susu | Putih susu |
| | Elevasi | Convex | Umbonate | Raised | Convex | convex | Flat | Convex | Convex | Convex | Raised |
| | Tepi | Entire | Filamentous | Entire | Entire | Entire | Undulate | Entire | Entire | Entire | Entire |
| | Karakteristik optik | Opaque | Translucent | Opaque | Opaque | Opaque | Transparent | Opaque | Opaque | Opaque | Opaque |
| | Karakteristik permukaan | Halus mengkilap | Kasar | Halu mengkilap | Halus mengkilap | Halus mengkilap | Halus mengkilap | Halus mengkilap | Halus mengkilap | Halus mengkilap | Halus mengkilap |
| Bentuk sel | Coccus | Coccus | Coccus | Bacil | Coccus | Coccus | Coccus | Coccus | Coccus | Bacil | Coccus |
| Fisiologi & Biokimia | Katalase | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Oksidase | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Gram | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - |
| | Motilitas | + | - | - | + | - | - | - | + | + | - |
| | Indol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Ornithin | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | O/F | O | NR | O | NR | NR | NR | NR | O | NR | F |
| | Sitrat | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Gelatin | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | TSIA | K/K | K/A | K/A | K/A | K/A | K/A | K/A | A/A | K/A | K/A |
| | H ₂ S | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| | Glukosa | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |
| | Laktosa | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Sukrosa | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Manitol | - | - | - | + | - | - | - | + | - | - | |
| Maltosa | - | + | - | + | - | - | - | + | - | - | |
| Genus | <i>Neisseria</i> | <i>Micrococcus</i> | <i>Neisseria</i> | <i>Bacillus</i> | <i>Neisseria</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Flavobacterium</i> | <i>Pseudomonas</i> | <i>Actinobacillus</i> | |

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi bakteri pendegradasi selulosa dari tanah gambut di Ds. Tagagiri Tama jaya, Kec. Pelangiran, Kab. Inhil, Riau diperoleh 24 isolat. Banyaknya jumlah tersebut dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Menurut Wahyuni dkk. (2015), faktor lingkungan berpengaruh terhadap keberadaan bakteri selulolitik yang hidup di tanah gambut. Faktor lingkungan tersebut antara lain suhu tanah, suhu udara, kelembaban tanah, dan pH tanah

Suhu udara rata-rata sebesar 33,75°C. Suhu udara tersebut berpengaruh terhadap suhu tanah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Karyati dkk. (2018), bahwa suhu udara relatif pada suatu wilayah berpengaruh terhadap fluktuasi unsur-unsur mikro berupa suhu tanah pada kedalaman tanah berbeda. Rata-rata suhu tanah yaitu 30°C. Menurut Marina dkk. (2018), suhu merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap aktivitas selulase, karena berkaitan dengan aktivitas enzim. Alam dkk. (2013) menambahkan, semakin tinggi temperatur maka aktivitas selulasenya meningkat, yang disebabkan karena semakin tinggi energi kinetik.

Nilai pH pada lokasi penelitian yaitu rata-rata 7,25. Nilai tersebut tergolong netral. Menurut Khairiah dkk. (2013) pH mempengaruhi aktivitas bakteri pendegradasi selulosa, dimana keasaman tanah dapat menghambat aktivitas enzim pada bakteri. Irfan (2014) melanjutkan, semakin rendah pH maka populasi bakteri juga berkurang. Menurut Wahyuni dkk. (2015), pH optimum bakteri selulolitik berkisar antara 5-7. Sedangkan menurut Alam dkk. (2013), pH optimum untuk bakteri selulolitik yaitu 8.

Hasil pengukuran menunjukkan kelembaban udara 62,5%. Kelembaban udara berpengaruh terhadap kelembaban tanah. Sesuai dengan pernyataan Karyati dkk. (2018), bahwa kelembaban udara relatif di suatu daerah berpengaruh pada fluktuasi unsur-unsur mikro berupa kelembaban tanah

daerah tersebut. Kelembaban tanah berkisar antara 7,6-10, pada skala ini merupakan kategori basah. Nilai kelembaban antara 45-79% (lembab-basah) dapat dikatakan baik bagi aktivitas bakteri pendegradasi selulosa (Wahyuni dkk., 2015).

Banyaknya isolat bakteri yang ditemukan juga terkait dengan lapisan tanah yang diambil, yakni lapisan tanah saprik dengan kedalaman 1 - 20 cm. Tanah saprik (kedalaman 0-25 cm) biasanya memiliki jumlah bakteri yang lebih banyak dari tanah hemik dan fibrik (Rudiansyah dkk., 2017). Hal ini sesuai dengan pendapat Irfan (2014), semakin dalam lapisan tanah maka populasi bakteri semakin berkurang. Selain itu, menurut Wahyuni dkk. (2015), bakteri selulolitik yang berada pada lapisan saprik memperoleh substrat lebih banyak sehingga bakteri yang hidup juga lebih banyak.

Uji kemampuan bakteri selulolitik dilakukan secara kualitatif untuk mengetahui besarnya daya degradasi setiap isolat. Indeks selulolitik diketahui berdasarkan zona bening yang terbentuk. Diperoleh sepuluh bakteri dengan IS tertinggi. Zona bening yang terbentuk setelah pemberian *congo red* dan dibilas dengan NaCl terjadi karena *congo red* mewarnai selulosa yang terdapat pada media CMC. Sedangkan selulosa yang telah terdegradasi oleh bakteri selulolitik tidak terwarnai oleh pewarna *congo red* sehingga terbentuk zona bening setelah dibilas NaCl. Sesuai dengan pernyataan Murtiyaningsih dan Hazmi (2017), bahwa media CMC mengandung polisakarida, warna merah setelah pemberian *congo red* merupakan selulosa yang tidak terhidrolisis. Zona bening yang timbul setelah pencucian menggunakan NaCl 1M dikarenakan *congo red* yang berupa garam natrium dari benzidinediazo-bis(1 naphthylamine)-4 asam fenolat larut dalam garam natrium lain salah satunya NaCl sehingga zona bening terlihat jelas.

Nilai IS yang diperoleh pada penelitian ini termasuk kategori rendah sampai tinggi karena IS bernilai <1 hingga >2. Berdasarkan penelitian Rudiansyah (2017) tentang eksplorasi bakteri selulolitik dari tanah hutan mangrove didapatkan nilai 1,12. Begitu pula penelitian Ulfa dkk. (2014), yang mengisolasi dari tanah gambut di kawasan Bansir Darat Kec. Pontianak Tenggara didapatkan IS tertinggi sebesar 3,2. Indeks selulolitik tertinggi yang didapatkan dari penelitian ini mencapai 4,11 pada isolat SL9. Hal ini menunjukkan bahwa nilai IS bakteri selulolitik di tempat penelitian tergolong tinggi. IS dikatakan tinggi apabila bernilai ≥ 2 (Choi dkk., 2005). Menurut Ulfa dkk. (2014), nilai IS yang berbeda dikarenakan perbedaan kemampuan masing-masing bakteri tersebut dalam mensintesis enzim selulase.

Karakterisasi dilakukan pada sepuluh isolat dengan IS tertinggi yaitu SL5, SL7, SL9, SL11, SL12, SL13, SL14 SL15 SL17, dan SL22 meliputi pengamatan morfologi dan fisiologi biokimia. Pengamatan morfologi digunakan untuk mengetahui karakteristik morfologi sebelum pengamatan lebih lanjut. Menurut Fitri dan Yasmin (2011), pengamatan morfologi koloni merupakan tahapan penting untuk mempermudah proses identifikasi.

Berdasarkan pengamatan gram menunjukkan bahwa isolat SL7 dan SL11 merupakan gram positif yang ditandai warna biru, dan isolat SL5; SL9; SL12; SL13; SL14; SL15; SL17; dan SL22 merupakan gram negatif yang ditandai dengan warna merah. Hal ini karena bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal. Menurut Ismail dkk. (2017), bakteri gram positif berwarna biru karena mampu membentuk ikatan kompleks dengan pewarna kristal violet karena peptidoglikan tebal. Ismail dkk. (2017) menambahkan, peptidoglikan pada bakteri gram positif sebesar 90% dan selebihnya asam teikoat, sedangkan peptidoglikan bakteri gram negatif sebesar 5-20% dan selebihnya polisakarida.

Hasil uji katalase menunjukkan positif pada semua isolat terpilih. Hal itu karena isolat bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim katalase yang memecah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang ditandai dengan adanya gelembung. Menurut Antriana (2014), katalase positif apabila terbentuk gelembung setelah penambahan H_2O_2 . Arifin dkk. (2019) menambahkan, gelembung tersebut timbul karena hidrogen peroksida diuraikan oleh enzim katalase.

Hasil uji oksidase pada semua isolat terpilih menunjukkan hasil positif, yang ditandai setelah dioleskan bakteri kemudian kertas oksidase berubah menjadi biru. Antriana (2014) dan Milanda dkk. (2014) menjelaskan bahwa, jika terjadi perubahan kertas *oxidase strip* menjadi biru setelah bakteri diinokulasikan pada kertas menandakan hasil positif. Oksidase merupakan enzim yang berperan dalam transport elektron.

Berdasarkan hasil uji menggunakan media MIO (motil, indol, ornithin). Hasil uji motilitas positif pada isolat SL5, SL11, SL15, dan SL17 yang ditandai adanya penyebaran bakteri diluar bekas tusukan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Anggraini dkk. (2016), hasil positif jika terdapat penyebaran berwarna putih disekitar inokulasi yang menandakan adanya pergerakan serta mengindikasikan adanya flagel. Hasil uji indol menunjukkan negatif pada semua isolat, karena

setelah ditetesi larutan indol tidak terbentuk cincin merah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Antriana (2014), bahwa hasil negatif jika terbentuk cincin kuning pada permukaan media. Uji indol ini untuk mengetahui produksi indol dari degradasi asam amino triptofan oleh enzim triptofanase (Arwin dkk., 2016). Hasil uji ornithin menunjukkan positif hanya pada isolat SL7 yang ditandai dengan terjadi perubahan warna media yang semula ungu menjadi kuning. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat SL7 tidak mampu menguraikan gugus karboksil dari ornithin (Anggraini dkk., 2016).

Hasil uji sitrat menunjukkan reaksi positif pada semua isolat terpilih. Hal ini ditandai dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Sesuai dengan pernyataan Yulvizar (2013), bahwa reaksi positif ditandai dengan warna media miring menjadi biru. Anggraini dkk. (2016), reaksi positif menunjukkan bahwa isolat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Hasil uji gelatin menunjukkan reaksi positif pada semua isolat. Hal ini ditandai dengan media gelatin tetap cair setelah bakteri diinokulasikan selama 24 jam dan diletakkan dalam kulkas 15 menit. Sesuai dengan pernyataan Arwin dkk. (2016), hasil positif apabila medium tetap cair. Uji ini digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis gelatin menjadi asam amino dengan menghasilkan enzim gelatinase.

Hasil uji O/F isolat SL5, SL9, dan SL15 menunjukkan reaksi oksidatif yang ditandai perubahan medium tidak ditutup parafin menjadi kuning Hal ini karena isolat tidak dapat melakukan fermentasi glukosa secara anaerob (Anggraini dkk., 2016). Isolat SL22 menunjukkan reaksi fermentatif yang ditandai kedua media berubah menjadi kuning. Hal ini karena isolat dapat memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi (Anggraini dkk., 2016). Sedangkan SL7, SL11, SL12, SL13, SL14 dan SL17 tidak menunjukkan reaksi (NR) karena tidak ada perubahan warna.

Hasil uji TSIA pada isolat SL5 menunjukkan hasil merah pada keseluruhan media. Menurut Yulvizar (2013), hal tersebut menunjukkan basa dan tidak terjadi fermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa. Sedangkan isolat SL7, SL9, SL11, SL12 SL13, SL14, SL17, dan SL22 merah pada media *slant* dan kuning pada media *butt* yang menunjukkan terjadinya reaksi alkali pada media *slant* dan reaksi asam pada media *butt*. Hal ini menunjukkan hanya terjadi fermentasi glukosa saja. Begitu pula pada isolat SL15 yang berwarna kuning pada keseluruhan media menunjukkan reaksi asam dan terjadi fermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa (Yulvizar, 2013).

Hasil uji Manitol menunjukkan reaksi positif hanya pada isolat SL11 dan SL15. Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning. Sesuai dengan pernyataan Antriana (2014), bahwa reaksi positif jika terjadi perubahan media dari orange menjadi kuning.

Sebanyak enam genus bakteri yang bersifat selulolitik ditemukan pada sampel tanah gambut di Ds. Tagagiri Tama Jaya, Kec. Pelangiran, Kab. Inhil, Riau. Keenam genus tersebut yaitu *Neisseria* (SL5; SL9; dan SL12), *Micrococcus* (SL7), *Bacillus* (SL11), *Pseudomonas* (SL13; SL14; dan SL17), *Flavobacterium* (SL15), serta *Actinobacillus* (SL22).

Isolat SL7 memiliki karakter gram positif, katalase positif, oksidase positif, *non motil*, bentuk sel *coccus*, indol negatif. Isolat ini memiliki kemiripan dengan genus *Micrococcus*. *Micrococcus* memiliki karakteristik gram positif, bentuk sel *coccus*, katalase positif, oksidase positif, *non motil*, sebagian besar bersifat fermentatif (Barrow dan Feltham, 1993). Begitu pula Yulvizar (2013), bakteri yang mendekati genus ini merupakan gram positif, bentuk sel bulat, *non motil*, koloni bundar, katalase positif, dan indol negatif.

Isolat SL13, SL14, dan SL17, ketiganya memiliki karakteristik yang hampir sama yaitu gram negatif, katalase positif, oksidase positif, berbentuk *bacil* pada isolat SL17 dan *coccus* pada isolat SL13 serta SL14., *motil* pada isolat SL17 dan *non motil* pada isolat SL13 dan SL14. Ketiga isolat tersebut memiliki kemiripan dengan genus *Pseudomonas*. Karakteristik *Pseudomonas* yaitu bersifat anaerob fakultatif, banyak tumbuh di daerah rhizosfer, berbentuk *bacil*, gram negatif, dan heterotrof (Ulfa dkk., 2014). Sebagian besar menghasilkan asam dari glukosa dalam tabung terbuka media oksidasi fermentasi dan dari beberapa karbohidrat dalam medium garam ammonium (Barrow dan Feltham, 1993). *Pseudomonas* tumbuh optimum pada suhu 23-30°C.

Isolat SL11 memiliki karakteristik gram positif, oksidase positif, katalase positif, *bacil*, *motil*. Isolat ini memiliki kesamaan dengan genus *Bacillus*. *Bacillus* merupakan gram positif, berbentuk *bacil*, sebagian besar *motil* dan beberapa *non motil*, katalase positif, menghasilkan spora tahan panas dalam kondisi aerob, bersifat aerob namun beberapa anaerob fakultatif (Barrow dan Feltham, 1993). *Bacillus* merupakan genus bakteri yang dominan di daerah rhizosfer sebesar 45% (Khairani dkk., 2019). *Bacillus* dapat tumbuh optimal pada suhu 28-35°C (Puspita dkk., 2017). Bakteri ini dapat mensintesis enzim endo- β -glucanase untuk mengurangi rantai panjang selulosa (Ulfa dkk., 2014).

Isolat SL5, SL9, dan SL12, ketiganya memiliki kemiripan karakteristik yaitu merupakan bakteri gram negatif, katalase positif, oksidase positif, *coccus*, indol negatif, *motil* pada SL5 dan *non motil* pada SL9 serta SL12. Bakteri tersebut memiliki kesamaan karakter dengan genus *Neisseria*. *Neisseria* dapat tumbuh pada lingkungan yang hanya ada sitrat satu-satunya sumber karbon (Wahyuni dkk., 2015). Bakteri ini merupakan gram negatif, *coccus*, aerobik, katalase positif, oksidase positif, merombak gula dengan oksidasi (Barrow dan Feltham, 1993). Holt dkk (1994) menambahkan, bahwa *Neisseria* berbentuk bulat dengan diameter 0,6-1,0 μ m, *non motil*, suhu optimum hemolitik adalah 35-37°C.

Isolat SL15 memiliki karakteristik koloni berwarna kuning, gram negatif, oksidasi positif, katalase positif, *coccus*, aerobik, dan *motil*. Isolat ini mirip dengan genus *Flavobacterium*. *Flavobacterium* bersifat gram negatif, aerobik, katalase positif, oksidase positif, koloni kuning berpigmen, *non motil*, dan berbentuk *bacil* (Barrow dan Feltham, 1993). Holt dkk. (1994) menambahkan bahwa, *Flavobacterium* tumbuh pada lingkungan 37°C, tumbuh pada media padat, biasanya berpigmen kuning sampai orange, koloni beberapa *translucent* dan beberapa *opaque, circular* dengan diameter 1-2 mm. dan halus mengkilap.

Isolat SL22 memiliki karakteristik gram negatif, oksidasi positif, katalase positif, fermentatif, *coccus*, *non motil*, indol negatif, dan *ornithine* negatif. Karakteristik isolat ini mirip dengan genus *Actinobacillus*. *Actinobacillus* memiliki karakter *non motil, bacil*, gram negatif, aerob dan anaerob fakultatif, katalase positif, oksidase positif, tidak memproduksi gas, dan dapat mereduksi nitrat (Barrow dan Feltham, 1993). Genus ini berukuran 0,3-0,5 x 0,6-1,4 μ m, *ornithine* negatif, indol negatif, dan suhu optimum pertumbuhan 37°C (MacInnes dan Lally, 2006).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat SL5, SL9, dan SL12 memiliki karakteristik hampir sama. Ketiganya gram negatif, katalase positif, oksidase positif, *coccus*, indol negatif, ketiganya bergenus *Neisseria*. Karakteristik isolat SL7 gram positif, katalase positif, oksidase positif, *coccus*, indol negatif dan *non motil*, dengan genus *Micrococcus*. Karakteristik isolat SL11 yaitu gram positif, oksidase positif, katalase positif, *bacil*, dan *motil*, dengan genus *Bacillus*. Isolat SL13, SL14, dan SL17 memiliki karakteristik hampir sama. Ketiganya gram negatif, katalase positif, oksidase positif, ketiganya bergenus *Pseudomonas*. Karakteristik isolat SL15 koloni berwarna kuning, gram negatif, oksidasi positif, katalase positif, *coccus*, aerobik, dan *motil*, dengan genus *Flavobacterium*. Karakteristik isolat SL22 gram negatif, oksidase positif, katalase positif, fermentatif, *coccus*, *non motil*, indol negatif, dan *ornithine* negatif, dengan genus *Actinobacillus*.

Didapatkan sepuluh isolat terpilih dengan kemampuan mendegradasi tertinggi, yang dilihat berdasarkan indeks selulolitik (IS) yaitu isolat SL5; SL7; dan SL15 dengan kategori rendah, isolat SL17 dengan kategori sedang, dan isolat SL9; SL11; SL12; SL13; SL14; dan SL22 dengan kategori tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam MS, Sarjono PR, dan Aminin ALN, 2013. Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika Vol. 21 (2): 48-53*.
- Anggraini R, Alissa D, dan Mellisa S, 2016. Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan Uji Mikrobiologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah mahasiswa kelautan dan perikanan Unsiyah Vol. 1 (2): 270-286*.
- Antriana N, 2014. Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes spp.*). *Jurnal Saintifika (1): 18-28*. P ISSN: 1411-5433. E ISSN: 2502-2768.
- Arifin Z, Gunam IBW, Antara NS, dan Setiyo Y, 2019. Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa dari Kompos. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri Vol. 7 (1): 30-37*.
- Arwin M, Ijong FG, and Tumbol R, 2016. Characteristic of *Aeromonas hydrophyla* Isolated from Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal Aquatic Science & Management Vol. 4 (2): 52-55*.
- Barrow GI and Feltham RKA, 1993. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Choi YW, Hodgkiss IJ, and Hyde KD, 2005. Enzyme Production by Endophytes of *Brucea javanica*. *Journal Agric Tech Vol. 1: 55-66*.
- Fitri L dan Yasmin Y, 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi Vol. 3 (2): 20-25*.

- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Sateley JT, and Williams ST, 1994. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*. 9 th ed. America: Lippincott Williams dan Winkins.
- Irfan M, 2014. Isolasi dan Enumerasi Bakteri Tanah Gambut di Perkebunan Kelapa Sawit PT. Tambang Hijau Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. *Jurnal Agroteknologi Vol. 5 (1): 1-8*.
- Ismail YS, Yulvizar, dan Putriani, 2017. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) *Jurnal Bioleuser Vol. 1 (2): 45-53*.
- Karyati, Putri RO, dan Syarifudin M, 2018. Suhu dan Kelembaban Tanah pada Lahan Revegetasi Pasca Tambang di PT Adimitra Baratama Nusantara, Provinsi Kalimantan Timur. *Jurnal Agrifor Vol. 17 (1). P ISSN: 1412-6885*.
- Kasana SC, Richa S, Hena D, Som D, dan Arvind G, 2008. A Rapid and Esay Method for The Detectiun of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodin. *Jurnal Curr Microbio Vol. 57 (5): 503-507*.
- Khairani AF dan Riany H, 2019. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Rhizosfer Tanaman Sawit Jambi. *Jurnal Biologi 12 (2): 198.206*.
- Khairiah E, Khotimah S, dan Mulyadi A, 2013. Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak. *Jurnal Protobiont Vol. 2 (2): 87-95*.
- Maccines JI dan Lally ET, 2006. The Genus *Actinobacillus*. *Jurnal Prokaryotes (6): 1094-1118. Chapter 3.3.43*.
- Marina, Lambui O, and Suwastika IN, 2018. Karakterisasi Selulase Asal Bakteri Tanah Danau Klimpa'a Sulawesi Tengah. *Journal of Science and Technology Vol. 7 (2): 138-147*.
- Milanda T, Dewi LK, dan Kusuma SAF, 2014. Deteksi Gen Resistensi Kloramfenikol (cat) pada *Pseudomonas aeruginosa* isolat Klinik dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia Vol. 3 (4)*.
- Murtiyaningsih H dan Hazmi M, 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Jurnal Agritop Vol. 15 (2). ISSN: 1693-2877. E ISSN: 2502-0455*.
- Nofu K, Khotimah S, dan Lovadi I, 2014. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Ampas Tebu Kuning. *Jurnal Protobiont Vol. 3 (1): 25-33*.
- Puspita F, Ali M, dan Pratama R, 2017. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Agrotek Trop Vol. 6 (2): 44-49*.
- Rahayu AG, Haryani H, dan Puspita F, 2014. Uji Aktivitas Selulolitik dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *Jurnal JOM FMIPA Vol. 1 (2)*.
- Rudiansyah D, Rahmawati, dan Rafdinal, 2017. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Peniti, Kecamatan Segodong, Kabupaten Mempawah. *Jurnal Protobiont Vol. 6 (3). ISSN: 255-262*.
- Suwondo S, Sabihan, Sumardjo, dan Pramudya, 2012. Efek Pembukaan Lahan terhadap Karakteristik Biofisik Gambut pada Perkebunan Kelapa Sawit di Kabupaten Bengkalis. *Jurnal Natural Indonesia Vol. 14 (2): 143-149*.
- Triani W, Pangastutu A, dan Astirin OP, 2005. Populasi Bakteri Pengoksidasi Sulfur Anorganik dan Kadar H₂S di Tambak Udang Putih. *Jurnal Biosmart Vol. 7 (1). ISSN: 1411-321X*.
- Ulfa A, Khotimah S, dan Linda R, 2014. Kemampuan Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Jurnal Protobiont Vol. 3 (2): 259-267*.
- Utomo B, 2008. Eksplorasi Fungi pada Tanah Gambut yang Berada pada Lapis Fibrik, Hemik, dan Saprik. *Jurnal Media Unika Vol. 7 (4)*.
- Wahyuni D, Khotimah S, dan Linda R, 2015. Eksplorasi Bakteri Selulolitik pada Tingkat Kematangan Gambut yang Berbeda di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Protobiont Vol. 4 (1): 69-76*.
- Waluyo L, 2008. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Yulvizar C, 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Jurnal Biospecies Vol. 6 (2): 1-7*.

Authors:

Siti Isnaini Fauziah, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang, Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: sitiisnainif@gmail.com

Muslimin Ibrahim Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang, Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: musliminibrahim@unesa.ac.id

How to cite this article:

Fauziah SI, Ibrahim M, 2021. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik pada Tanah Gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya, Kecamatan Pelangiran, Kabupaten Inhil, Riau. *LenteraBio; 9(3): 194-203*