

UJI POTENSI BAKTERI SELULOTIK DARI LAHAN PERTANIAN YANG TERCEMAR PESTISIDA

Putu Setia Budi¹, Ida Bagus Wayan Gunam², Anak Agung Made Dewi Anggreni²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unud

Email: setiabudiputu@ymail.com¹

Email koresponden: ibwgunam@unud.ac.id²

ABSTRACT

The aim of this study was to isolate bacteria that could potentially degrade the cellulose from of agricultural land in the village Candikuning Bedugul and to determine the ability of isolates in degrade cellulose. These bacteria are capable of utilizing cellulose as carbon source 11 only isolates that produce a clear zone with diameters above 12.07 mm up to 45.59 mm on Gram's Iodine test. Eleven isolates bacteria cellulolytic pure who afford occurrence bacterial growth on media selective and isolates produce clear zone that most highest is CK 18.

Keywords: cellulose degrading bacteria, isolation, Gram's Iodine test.

PENDAHULUAN

Selulosa merupakan salah satu senyawa organik paling melimpah di alam tetapi proses dekomposisinya lama (Stryer, 2000). Selulosa adalah senyawa seperti serabut, tidak larut dalam air dan merupakan struktur dasar sel tumbuhan yang ditemukan di dalam dinding sel tumbuhan, terutama pada tangkai, batang dan semua bagian berkayu dari jaringan tumbuhan (Lehninger, 1982).

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang mampu mendegradasi dan memanfaatkan selulosa sebagai sumber karbon dan energinya (Baharuddin *et al.*, 2010). Bakteri selulolitik dipilih sebagai salah satu mikroba pendegradasi selulosa karena memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibanding kelompok mikroba lainnya sehingga waktu yang dibutuhkan untuk produksi enzim lebih cepat (Baharuddin *et al.*, 2010). Selain itu, tingkat variasi genetik kelompok bakteri sangat beragam yang memungkinkan dilakukan rekayasa genetika untuk optimasi produksi maupun aktivitas enzim selulasenya (Alam *et al.*, 2004). Bakteri selulolitik memiliki ketahanan yang tinggi terhadap kelembaban yang dibutuhkan untuk dekomposisi selulosa. Penggunaan pestisida pada produksi hortikultura dapat menjadi penyebab terhambatnya degradasi selulosa untuk menyuburkan tanah, akan tetapi bakteri selulolitik lama-kelamaan akan beradaptasi dengan residu pestisida yang ada pada lahan pertanian.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri yang berpotensi mendegradasi selulosa dari lahan pertanian di Desa Candikuning Bedugul dan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam mendegradasi selulosa.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dari Februari 2015 hingga Agustus 2015.

Bahan dan Alat

Peralatan dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini harus selalu dalam keadaan steril. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah. Bahan yang digunakan dalam isolasi bakteri yang berpotensi mendegradasi selulosa diantaranya medium selulolitik. Komposisi medium selulolitik terdiri dari KH_2PO_4 , K_2SO_4 , NaCl , FeSO_4 , NH_4NO_3 , MnSO_4 , CMC, KI, I_2 , *Bacto Agar Bacto Agar* yang seluruhnya adalah pro analysis (pa) (Azizah *et al.*, 2014). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet mikro, laminar flow cabinet, pH meter, spektrofotometer, vortex, sentrifius, *shaker*, *autoclave*, incubator.

Prosedur Percobaan

Pembuatan Media Selektif

Medium selulolitik padat yang berpotensi mendegradasi selulosa dibuat dengan cara melarutkan 1 g KH_2PO_4 , 0,5 g K_2SO_4 , 0,5 g NaCl , 0,5 g FeSO_4 , 1 g NH_4NO_3 , 0,01 g MnSO_4 , 10 g CMC, 20 g *Bacto Agar* dalam 1000 ml aquades (Azizah *et al.*, 2014) dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

Isolasi Bakteri

Sebanyak 1 gram sampel tanah dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 9 ml NaCl 0,85% sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Suspensi dari pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya dilakukan pengenceran berseri hingga didapatkan pengenceran 10^{-5} . Dari pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-5} diambil sebanyak 100 μl dan diinokulasikan dengan metode sebar pada media selektif (medium selulolitik) padat dalam cawan petri yang berbeda. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 hari (Wang *et al.*, 2005).

Uji dengan Gram's Iodine

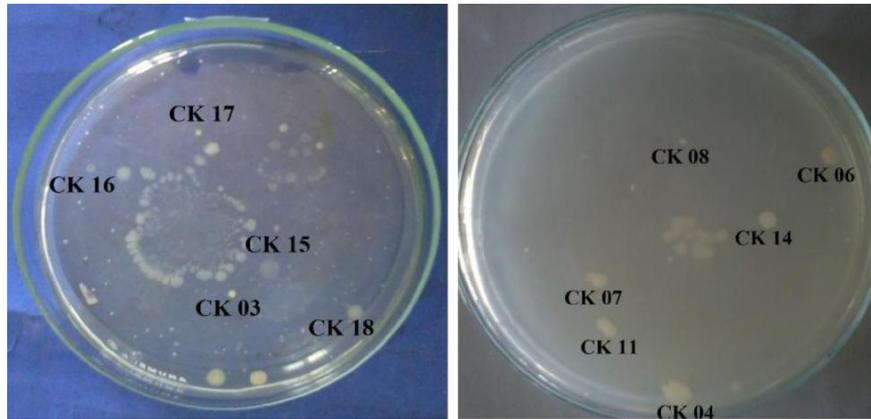
Isolat yang sudah diremajakan pada kultur cair diambil menggunakan pipet sebanyak 100 μl dan isolat tersebut ditetaskan di dalam cawan petri yang sudah berisi media selektif padat. Pada uji dengan Gram's Iodine ini dilakukan penggulungan pada media selektif dan diinkubasi menggunakan incubator selama 4 hari pada suhu 37°C (Wang *et al.*, 2005).

Kemudian larutan dari Gram's Iodine steril (2,0 g KI dan 1,0 g I_2 dalam 300 ml aquades) tersebut dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah ditumbuhi isolat, sampai seluruh permukaan cawan tersebut tergenang larutan Gram's Iodine, lalu didiamkan selama 3 menit di dalam laminar flow dan larutan Gram's Iodine dibuang kedalam elemeyer. Bakteri selulolitik dapat diketahui dengan mengukur diameter zona bening pada diameter koloni (Sari *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri

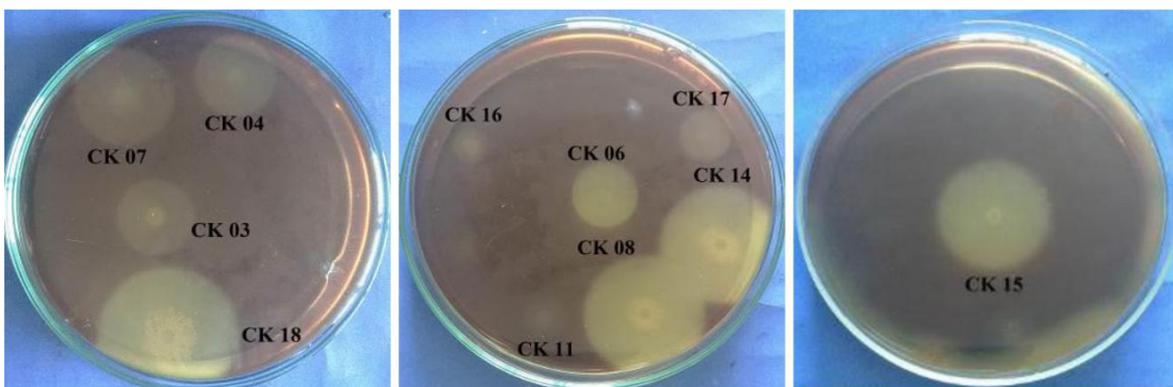
Pada penelitian ini berhasil diisolasi 11 isolat bakteri yang berpotensi sebagai bakteri pendegradasi selulosa yang berasal dari sampel tanah. Sebelas isolat yang menggunakan sampel tanah diberi kode CK (Candi Kuning) dengan nama CK 03, CK 04, CK 06, CK 07, CK 08, CK 11, CK14, CK 15, CK 16, CK 17, CK 18 (Nonomura dan Ohara, 1971). Bakteri koloni yang tumbuh pada media selektif dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni yang tumbuh pada media selektif.

Uji dengan Gram's Iodine

Sebelas isolat yang merupakan bakteri selulolitik yang mampu tumbuh pada medium selulolitik, diinokulasikan menggunakan pipet mikro sebanyak 100 μ l pada medium selulolitik padat, untuk mengetahui tingkat degradasi selulosa (Alam *et al.*, 2013). Sedangkan diameter zona bening bakteri selulolitik umumnya berukuran lebih besar dibandingkan dengan diameter koloni, karena enzim selulase disekresikan ke lingkungan sekitarnya oleh bakteri pendegradasi selulosa (Zverlova *et al.*, 2003). Isolat CK 18 mempunyai ukuran zona bening tinggi sebesar 45,59 mm, dari 11 isolat yang menghasilkan zona bening berkisar antara 12,07 mm sampai 45,59 mm. Isolat bakteri selulolitik yang mampu menghasilkan zona bening disajikan pada Gambar 2. Data zona bening masing-masing isolat pada medium selulolitik padat dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Isolat bakteri selulolitik yang dapat tumbuh pada media selektif dan mampu menghasilkan zona bening dengan ukuran yang berbeda.

Tabel 1. Bakteri selulolitik yang memiliki zona bening dan dapat tumbuh pada media selektif.

No	Kode Isolat	Zona Bening (mm)
1	CK 03	27,53
2	CK 04	24,32
3	CK 06	23,06
4	CK 07	32,03
5	CK 08	41,55
6	CK 11	12,07
7	CK 14	39,32
8	CK 15	40,13
9	CK 16	13,08
10	CK 17	19,09
11	CK 18	45,59

Keterangan : Percobaan dilakukan dengan menginokulasi isolat pada media selektif padat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 hari di *shaker* dengan kecepatan 100 rpm.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Bakteri yang mampu memanfaatkan selulosa sebagai sumber karbon pada media selektif hanya 11 isolat, yang menghasilkan zone bening dengan diameter berkisar 12,07 mm sampai 45,59 mm pada uji Gram-Iodine. Sebelas isolat bakteri selulolitik murni yang mampu terjadinya pertumbuhan bakteri pada media selektif dan isolat menghasilkan zona bening yang paling tertinggi adalah CK 18.

Saran

Pada penelitian selanjutnya, perlu ditentukan kondisi optimum dan pola pertumbuhan serta uji aktivitas enzim selulase isolat CK 18 tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam M. Z., Machhur, M. A., dan Anwar M. N. 2004. Isolation, Purification, Characterization of Cellulolytic Enzymes Produced by *Streptomyces amiaensis*. *Journal Biology Science*. 7(10): 1647-1653.
- Alam, M.S, Sarjono P.R. dan Aminin, A.L.N. 2013. Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas. 1(1) : 190 - 195.
- Azizah, S.N., K. Muzakhar dan S. Arimurti. 2014. Skrining Bakteri Selulolitik Asal Vermicomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember (UNEJ). II (1): 26-30.
- Baharuddin, Razak, Hock, Ahmad, Aziz, Rahman, Shah, Hassan, Sakai dan Shirai. 2010. Isolasi and Characterization of Thermophilic Cellulase-Producing Bacteria from

- Empty Bunches-Palm Oil Mill Effluent Compost. *Journal of Applied Science*. 7(1): 56-62.
- Lehninger, A.L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Terjemahan oleh Thenewidjaj, M. Principles of Biochemistry. Jakarta: Erlangga.
- Lu, W.J., H. Wang, S. Yang, Z. Wang, & Y. Nie. 2005. Isolation And Characterization Of Mesophilic Cellulose-Degading Bacteria From Flower Stalks- Vegetable Waste Co-Composting System. *J.Gen.Appl.Microbiol.* 51: 353- 360.
- Nonomura, H and Y. Ohara. 1971. Distribution of soil actinomycetes. VIII. Geen spore Goup of Microtetraspora, Its Preferential Isolation and Taxonomic Characteristics. 49: 1-7.
- Sari, U.M., A. Agustien dan Nurmiati. 2012. Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik Sumber Air Panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi. *Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang.*
- Stryer, L. 2000. *Biokimia Edisi 4 Volume 2*. Terjemahan Sidikin, M. Biochemistry. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Zverlova, V. V., W. Holl, & H. Schwarz. 2003. Enzymes For Digestion Of Cellulose And Other Polysaccharides In The Gut Of Longhorn Beetle Larvae, *Rhagium Inquisitor* L. (Col., Cerambycidae). *International Biodeterioration & Biodegation.* 51:175–179.