

Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Sampah Organik Kota Denpasar

NI MADE INDRA PUSPAWATI^{*)}

I WAYAN DANA ATMAJA

NI WAYAN SRI SUTARI

Jurusan/Prodi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana

Jl.PB Sudiman Denpasar 80232 Bali

^{*)}Email: indrapuspawati@gmail.com

ABSTRACT

Exploration of Cellulolytic Bacteria from Organic Waste in Denpasar

Municipal waste is one of the problem that must be overcome in Denpasar City. Municipal waste volume of Denpasar City 2014 was 1,247,769 m³, Year 2015 was 1,294,696 m³, and 2016 was increased to 1,296,438 m³. Total of waste that produced by Denpasar City is 70% organic waste. This type of organic waste has a major component of lignocellulose consisting of three polymers namely, cellulose, hemicellulose, and lignin. Cellulose is a component of plant cell walls. Cellulose has a low digestibility so it takes a long time to be degraded. One of the microorganisms that can produce the enzyme is the cellulolytic bacteria. The purpose of this research was to find and identify isolate of cellulolytic bacteria isolated from organic waste of Denpasar City. This research was conducted from September 2017 until March 2018. Organic municipal waste samples were taken from each District in Denpasar City each one sample. Bacteria from the organic waste was isolated and identified by molecular identification in order to know the cellulolytic bacteria species. Based on the result of the research, two isolates of bacteria with the highest cellulolytic index were B⁻⁶ and U⁻⁶ isolates that were 7.3 and 3.0. The formation of clear zones around the colony showed that the isolates had qualitatively measured cellulolytic activity. The identification of both isolates was found where the B⁻⁶ isolate had the same percentage as *Lactobacillus acidophilus* (95%) and U⁻⁶ isolate had similarity percentage with *Enterobacter cloacae* (94%).

Keywords: *Organic Waste, Cellulose, and Cellulolytic Bacteria*

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Sampah merupakan salah satu permasalahan yang harus diatasi di Kota Denpasar. Volume sampah Kota Denpasar mengalami peningkatan, volume sampah Tahun 2014 adalah 1.247.796 m³, Tahun 2015 adalah 1.294.696 m³, dan Tahun 2016 adalah 1.296.438 m³. Total dari sampah yang dihasilkan oleh Kota Denpasar 70% merupakan sampah organik (Data Statistik Dinas Lingkungan Hidup dan Kebersihan Kota Denpasar, 2017). Jenis sampah organik memiliki komponen utama

lignoselulosa yang terdiri atas tiga polimer yaitu, selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa merupakan komponen penyusun dinding sel tanaman. Selulosa memiliki pencernaan yang rendah sehingga memerlukan waktu yang cukup lama untuk dapat didegradasi.

Degradasi selulosa dipengaruhi oleh jenis mikroorganismenya. Menurut Schwarz (2001), tidak semua mikroorganismenya dapat mendegradasi selulosa, yang dapat melakukannya adalah mikroorganismenya yang menghasilkan enzim selulase yaitu mikroorganismenya selulolitik. Enzim selulase adalah enzim yang dapat mengkatalisis dan menghidrolisis ikatan β 1-4 glukosidik pada selulosa (ikatan yang paling banyak di selulosa) (Sabaya, 2012).

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang mampu menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa. Glukosa tersebut dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan sumber nutrisi bagi kehidupan bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik mensintesis enzim selulase selama tumbuh dalam media selulosa. Enzim selulase dihasilkan sebagai respon dari sel bakteri dengan permukaan selulosa.

Bakteri selulolitik memiliki tingkat pertumbuhan yang cepat sehingga waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim menjadi lebih cepat. Pemberian bakteri selulolitik ini diharapkan mampu mempercepat dekomposisi sampah tersebut sehingga tidak memerlukan waktu yang lama dalam proses dekomposisinya.

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalahnya sebagai berikut.

1. Apakah terdapat bakteri selulolitik dari eksplorasi sampah organik Kota Denpasar?
2. Bagaimana identifikasi bakteri selulolitik yang berasal dari sampah organik Kota Denpasar?

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan dan melakukan identifikasi bakteri selulolitik yang diisolasi dari sampah organik Kota Denpasar. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang bakteri selulolitik yang diisolasi dari sampah organik Kota Denpasar.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada September 2017 – Maret 2018. Pengambilan sampel sampah dilakukan di Depo Pengolahan sampah di setiap Kecamatan di Kota Denpasar. Isolasi bakteri selulolitik dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanah dan Lingkungan Fakultas Pertanian Universitas Udayana serta Identifikasi molekuler isolat bakteri selulolitik dilakukan di Laboratorium Seameo Biotrop (*Southeast Asian Regional Centre for Tropical Biology*) Bogor.

2.2 *Bahan dan Alat*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini : sampah organik, media *Carboxy methyl Cellulose* (CMC) 1%, K_2HPO_4 , $MgSO_4$, *Reagen Congo Red* 0,1%, larutan NaCl, larutan fisiologis, Aquades, Alkohol 70%, Natrium Klorida (NaCl) 1 M , nystatin.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: *Genjet Genomic DNA Purification Kit* ®Thermo, autoklaf, jarum ose, inkubator, blender, penggerus, *vortex mixer*, timbangan, pipet tetes, pipet mikro, erlenmeyer, *petridish*, *rotary shaker*, tabung reaksi, *Laminar Air Flow Cabinet*, pemanas, rak tabung reaksi, kertas label, kapas penutup tabung reaksi, *aluminium foil*, *hand spray*, nyala api lampu spiritus, sarung tangan, tas plastik, masker, PCR.

2.3 *Pelaksanaan Penelitian*

2.3.1 *Pengambilan sampel*

Pengambilan sampel sampah organik dilakukan di masing-masing Depo pada 4 Kecamatan yang ada di Kota Denpasar (Utara, Timur, Barat, dan Selatan), yaitu di Depo Sari Sedana Desa Pemecutan Kaja, TPST-3R Desa Kesiman Kertalangu, TPST-3R Perumnas Imam Bonjol di Jalan Merpati, dan Depo Pulau Kawe.

2.3.2 *Isolasi bakteri selulolitik*

Sampel sampah organik terlebih dahulu dipotong-potong dan dihaluskan. 10 gram sampel sampah dimasukkan kedalam *beaker glass* dan ditambahkan larutan fisiologis sebanyak 90 ml kemudian dihomogenkan dan didiamkan sesaat agar terjadi endapan (Ekawati, dkk., 2012). Pengenceran tersebut adalah pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilakukan secara bertingkat hingga diperoleh pengenceran 10^{-8} .

Isolasi bakteri menggunakan metode cawan tuang (*pour plate method*). Pengenceran 10^{-6} sampai 10^{-8} ditanam pada media CCRA (*Cellulose Congo Red Agar*) yang telah ditambahkan dengan nystatin, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 25°C (Ulfa, dkk., 2014). Koloni bakteri yang tumbuh akan menghasilkan zona bening disekitaran koloni. Koloni bakteri yang menghasilkan zona bening terbesar pada setiap pengenceran kemudian dimurnikan dengan metode penggoresan kuadran sampai didapatkan koloni bakteri yang tunggal dan seragam (Mulyasari, dkk., 2015).

2.3.3 *Seleksi bakteri selulolitik secara kualitatif*

Koloni bakteri selulolitik akan menghasilkan zona bening yang disebabkan oleh enzim yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi selulosa yang ada disekitarnya. Seleksi bakteri selulolitik dilakukan berdasarkan indeks selulolitik. Indeks selulolitik merupakan nisbah antara diameter zona bening dikurangi diameter koloni dengan diameter koloni.

Secara kualitatif, semakin besar nilai indeks selulolitik maka semakin besar enzim yang dihasilkan oleh bakteri. Daya degradasi selulosa diklasifikasikan berdasarkan nilai indeks selulolitik dengan kategori rendah apabila nilai $IS \leq 1$,

sedang apabila nilai IS antara 1 sampai 2 dan tinggi apabila nilai $IS \geq 2$ (Choi *et al.*, 2005). Menurut Kasana *et al.* (2008), indeks selulolitik (IS) diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\text{Indeks Selulolitik} = \frac{DB-DK}{DK} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

DB = Diameter zona bening (mm)

DK = Diameter koloni (mm)

2.3.4 Identifikasi molekuler isolat bakteri

Isolat dengan nilai indeks selulolitik tertinggi kemudian diidentifikasi. Teknik identifikasi yang digunakan adalah metode biologi molekuler. Teknik ini mengidentifikasi isolat bakteri menggunakan analisis sekuen gen 16S rRNA. Tahapan identifikasi bakteri dengan sekuensing menurut Suwanto *et al.* (2000) adalah isolasi DNA bakteri, amplifikasi DNA, dan peruntutan Basa. Hasil peruntutan basa nukleotida kemudian diidentifikasi menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov) kemudian akan didapatkan isolat-isolat bakteri pada *GenBank* yang mempunyai kemiripan susunan nukleotida dengan bakteri uji.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolasi Bakteri Selulolitik dari Sampah Organik Kota Denpasar

Bakteri selulolitik diisolasi dari sampah organik Kota Denpasar yang merupakan salah satu sumber bakteri selulolitik. Menurut Howard (2003), kandungan terbesar pada buangan sampah adalah selulosa yang mencapai 60%. Berdasarkan hasil isolasi bakteri selulolitik ditemukan bahwa terdapat bakteri selulolitik pada sampah organik Kota Denpasar.

Pengujian selulolitik menggunakan media agar spesifik CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) mendapatkan bakteri yang dapat menghasilkan zona bening (Gambar 1). Dipilih koloni bakteri yang menghasilkan zona bening terbesar pada setiap pengenceran sehingga akan terdapat 12 isolat bakteri yang akan dihitung indeks selulolitiknya. Tabel 1 menunjukkan indeks selulolitik yang dihasilkan oleh isolat bakteri.

Tabel 1. Indeks Selulolitik (IS) dari Isolat Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Sampah Organik Kota Denpasar

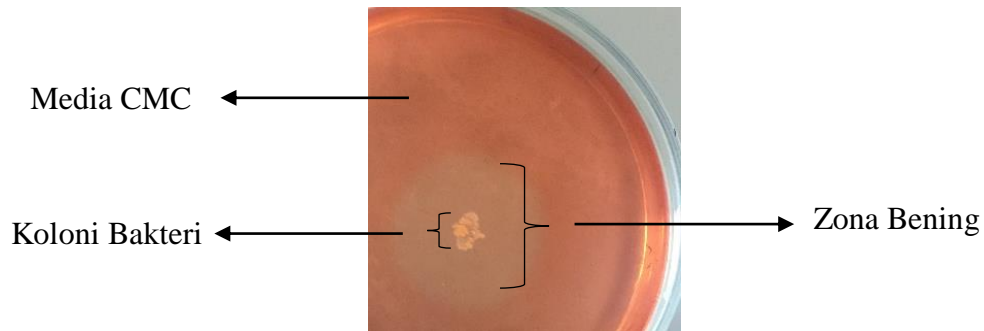
No	Lks.	Kode Isolat	Diameter (mm)		IS	Ket.
			Koloni	Zona Bening		
1		U ⁻⁶	2	8	3,0	T
2	Utara	U ⁻⁷	4,0	10	1,5	S
3		U ⁻⁸	3,0	8	1,7	S
4		T ⁻⁶	2,0	6	2,0	S
5	Timur	T ⁻⁷	3	7	1,3	S
6		T ⁻⁸	-	-	-	-
7		S ⁻⁶	2,0	4	1,0	S
8	Selatan	S ⁻⁷	2,0	5	1,5	S
9		S ⁻⁸	3,0	7	1,3	S
10		B ⁻⁶	2,0	16,5	7,3	T
11	Barat	B ⁻⁷	4	12	2,0	S
12		B ⁻⁸	3	10	1,7	S

Keterangan:

T = Tinggi S = Sedang

Berdasarkan hasil perhitungan indeks selulolitik, isolat yang memiliki indeks selulolitik tinggi adalah isolat B⁻⁶ dan U⁻⁶ yaitu sebesar 7,3 dan 3,0. Isolat bakteri yang memiliki indeks selulolitik sedang adalah T⁻⁶, B⁻⁷, U⁻⁸, B⁻⁸, U⁻⁷, S⁻⁷, T⁻⁷, S⁻⁸, S⁻⁶ dengan nilai indeks selulolitik secara berurut-turut 2,0 , 2,0 , 1,7 , 1,5 , 1,5 1,3 , 1,3 , 1,0. Serta terdapat satu petri yang tidak ditumbuhi oleh bakteri, yaitu T⁻⁸.

Menurut Meryandini (2009), setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Setiap bakteri memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi selulosa, tergantung dari jenis bakteri tersebut. Perbedaan indeks selulolitik yang didapatkan dapat disebabkan oleh perbedaan isolat bakteri selulolitik yang ditemukan serta perbedaan dalam aktivitas enzimnya.

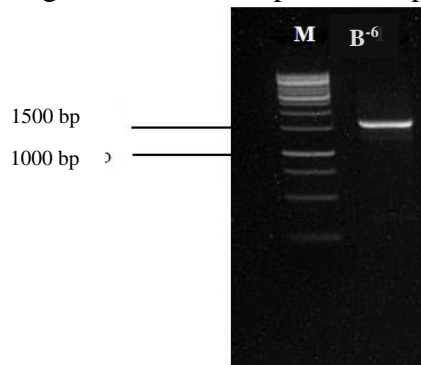


Gambar 1. Zona Bening yang Terbentuk di Sekitar Koloni Bakteri

Berdasarkan hasil perhitungan indeks selulolitik didapatkan bahwa terdapat 2 isolat yang memiliki nilai IS tinggi. Kedua isolat tersebut berindikasi potensial menghasilkan enzim selulase. Pemilihan kedua isolat tersebut didasarkan atas zona bening pada media CMC dengan *congo red* yang memiliki indeks paling besar, hal ini berhubungan dengan kemampuan mikroba untuk memanfaatkan selulosa (Hatami, 2008).

3.1.1 Identifikasi isolat bakteri B⁻⁶

Isolat bakteri B⁻⁶ diidentifikasi secara molekuler (sekuensing) untuk mengetahui spesies bakteri tersebut. Proses amplifikasi gen 16S-rRNA menggunakan dua primer universal spesifik untuk bakteri, yaitu 63f (5'-CAG GCC TAA ATG CAA GTC-3') dan 1387R (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *et al.*, 1998). Hasil amplifikasi gen 16S-rRNA dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Amplifikasi Gen 16S-rRNA Isolat Bakteri B⁻⁶

Berdasarkan hasil amplifikasi tampak bahwa pita ampikon berada pada ukuran 1.500 bp. Tahapan selanjutnya adalah dilakukan sekuensing untuk penentuan urutan nukleotidanya. Gambar 3 menunjukkan susunan nukleotida isolat bakteri B⁻⁶.

```

CCTTTTATTGTTATGTTATTATTAGCAAGTCGAGCGAGCAGAACCAGCAGATTTACTTCGGTAATGACGCTGGGGACGCGAGCG
GCGGATGGGTGAGTAACACGCTGGGGAACCTGCCCCATAGTCTGGGATACCACCTGGAAACAGGTGCTAATACCGGATAAGAAAG
CAGATCGCATGATCAGCTTATAAAGGCGGGTAAGCTGTCGCTATGGGATGGCCCCGGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTA
ACGGCTTACCAAGGCAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCTACG
GGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCGCGTGAAGAAAGGTTTTCCGGATCGTA
AAGCTCTGTTGTTGGTGAAGAAGGATAGAGGTAGTAACCTGGCCCTTATTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACG
TGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCGGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGAAGAATAAGTC
TGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAACCTGCATCGGAAACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATCCATGT
GATATGGAAGAACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGAT
TAGATACCCCTGGTAGCGGTGGAATGCGTAGATTAGTCCATGCCGTAACGATGAGTGTGCTAAGTGTGGGAGGTTTTCCGCTCTCA
GTGCTGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGCATGTGGT
TTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGCTTGACATCTAGTGCCTCCTAAGAGATTAGGAGTCCCTTCGGGACGTT
AAGACAGGTGGTGCATGGCTGTGCTGACGCTCGTGTGAGATGTTGGTAAGTCCCGCAACCGCCGCACAAGCGGTGGAGGAGC
GCAACCCCTGTTATTAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTTAATGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACG
TCAAGTCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGTACAACGAGAAGCGAGCCTCGAAAGGCAAGC
GAATCTCTGAAAGCTGTTCTCAGTTCGGACTGCAGTCTGCAACTGACTGCACGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGA
ACGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGACACACCGCCGTCACACCATGGAAGTCTGCAATGCCAAAGCCGGTGGCCATA
ACCTTCGGGAAGGAGCCGCTATGGCACGGCCAGAGTTAAG

```

Gambar 3. Susunan Nukleotida Isolat B⁶

Hasil sekuensing menunjukkan susunan nukleotida yang kemudian diidentifikasi menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada *National Center for Biotechnology Information*, National Institute for Health, USA (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov) dan didapatkan isolat-isolat yang mempunyai kemiripan susunan nukleotida dengan isolat uji. Tabel 2 menunjukkan persentase kemiripan gen 16S rRNA bakteri selulolitik dengan beberapa sekuen DNA di *GenBank*.

Tabel 2. Perbandingan Persentase Kemiripan Gen 16S rRNA Bakteri Selulolitik isolat B⁶ dengan Beberapa Sekuen DNA di *GenBank* menggunakan Program BLAST

	Persentase Kemiripan (%)	<i>Accession Number</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> strain NX2-6	95	EU878007.1
<i>Lactobacillus helveticus</i> strain MGC14-3	94	HM058422.1
<i>Lactobacillus</i> sp. X1	94	GU338024.1

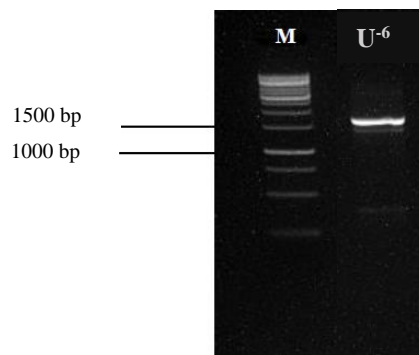
Berdasarkan hasil identifikasi, isolat B⁶ memiliki tingkat kemiripan paling tinggi dengan *Lactobacillus acidophilus*. Persentase kemiripannya sebesar 95%, lebih besar dibandingkan dengan isolat lainnya di *GenBank*. Isolat B⁶ memiliki persentase kemiripan antara 93%-97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies.

Bakteri *L. acidophilus* dikatakan sebagai bakteri selulolitik karena kemampuannya menghasilkan zona bening pada media CMC. Zona bening yang terbentuk sebagai akibat dari degradasi selulosa yang dilakukan oleh bakteri tersebut karena enzim yang dihasilkan, yaitu selulase. Selulase merupakan kelompok enzim yang dapat memutuskan ikatan β -1,4-glukosidik di dalam selobiosa, selodektrim selobiosa, dan turunan selulosa lainnya (Mulyasari, dkk., 2015).

Bakteri *L. acidophilus* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan fermentasi pada susu. Bakteri ini digolongkan sebagai bakteri asam laktat dan dikelompokkan kedalam probiotik yaitu golongan mikroba yang hidup di dalam saluran pencernaan. Sumber energi utama dari *L. acidophilus* adalah fermentasi karbohidrat. Bakteri ini menghidrolisis sumber karbon untuk pertumbuhan, reproduksi sel maupun aktivitas bakteri. Fermentasi yang dilakukan oleh bakteri ini tidak hanya menghasilkan energi untuk metabolisme dan pembelahan sel namun juga menghasilkan produk sampingan berupa asam laktat (Setiarto, dkk., 2015).

3.1.2 Identifikasi isolat bakteri U⁶

Isolat bakteri U⁶ selanjutnya diidentifikasi secara molekuler (sekuensing) untuk mengetahui spesies bakteri tersebut. Proses amplifikasi gen 16S-rRNA menggunakan dua primer universal spesifik untuk bakteri, yaitu 63f (5'-CAG GCC TAA ATG CAA GTC-3') dan 1387R (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *et al.*, 1998). Hasil amplifikasi gen 16S-rRNA dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Amplifikasi Gen 16S-rRNA Isolat Bakteri B⁶

Berdasarkan hasil amplifikasi tampak bahwa pita ampikon berada pada ukuran 1.500 bp. Tahapan selanjutnya adalah dilakukan sekuensing untuk penentuan urutan nukleotidanya. Berdasarkan hasil sekuensing dari DNA isolat U⁶ didapatkan bahwa susunan nukleotidanya (sekuen) adalah seperti pada Gambar 5.

```

TAAGCGAAAGGCTCGGAGGAGGAGGTTTGTAGGAGTCATCGATGCCGCCACAGAGCTGTCTGCAGACTCCAATCCGGACTA
CGAGCCTTTATGAGGTCGGCTTGTCTCTCGGAGGTCGCTTCTTTGTATGCCCATTTAGCAGCGTGTAGCCCTACTCGTA
AGGGCCATGATGACTTGACGTCATCCCACTTCTCCAGTTTATCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGGCCGGACCGCTGGCA
ACAAAGGATAAGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATTTCACAACACAGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCT
CAGAGTTCGCCAAGGCACCAATCCATCTCTGGAAAGTTCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGTTCTTCGGCTTGCATCGAATTA
AACCATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCGAATTCATTTGAGTTTAACTTGGCGCCGTACTCCCAAGGCGGTCGACTTA
ACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACCTCCAAGTCGACATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATC
CTGTTTGTCTCCCAAGCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCTTCGCCACCGGATTCCTCCCGATCTCTAC
ACATTCACCGCTACACCTGGAATTTACCCCTCTACGAGACTTACCTGCCACTTTCGAATGCAGTCCCAAGTTGAGCCCG
GGGATTCACATCCGACTTGACAGACCGCTGCGTGCTTTACGCCCACTAAGTCCGATTAGCGCTTGCACCTCCGATTACCG
CGGCTGCTGGCGCGAGTTAGCCGGTCTTCTGTTGTTATCATCAATCGTGAAATATTAATCATCATCATCTCCTCCAG
CTGATAGTACGATGATAATGTGGACCGCTCGTATACACACAACATGGCTGCATGAGCTGTGCCAGTGTGCAGTATAACACT
ACTGCTGACTCGCTACGAGCAGACCTATCTTATTTTCAATTGTTGGTGGCTGCGCGTCCACAAATAAAGATCGTGTACTAATGTG
AAGATATGGAGCAGCACATATCCATGTGCTTACTGAAGGAAGAAGCAAGATACGGCCCTACGCCCTAAGAACGGTAT
CGTATGCGTGAGCTCAAGTTCGTTCTGCGGACTGAATGCCGATAAGCTAC

```

Gambar 5. Susunan Nukleotida Isolat U⁶

Hasil sekuensing menunjukkan susunan nukleotida yang kemudian diidentifikasi menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada *National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA* (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov) dan didapatkan isolat-isolat yang mempunyai kemiripan susunan nukleotida dengan isolat uji. Tabel 3 menunjukkan persentase kemiripan gen 16S rRNA bakteri selulolitik dengan beberapa sekuen DNA di *GenBank*.

Tabel 3. Perbandingan Persentase Kemiripan Gen 16S rRNA Bakteri Selulolitik Isolat U⁶ dengan Beberapa Sekuen DNA di *GenBank* menggunakan Program BLAST

	Persentase Kemiripan (%)	Accession Number
<i>Enterobacter cloacae</i> strain NC1111	94	AB244469.1
<i>Enterobacter cloacae</i> strain CGAPGPBBBS-079	94	KY495207.1
<i>Enterobacter cloacae</i> strain lo8	94	MG238576.1
<i>Enterobacter cloacae</i> strain DD266	94	KR822277.1
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. <i>dissolvens</i> strain M277	94	HQ407265.1

Berdasarkan hasil uji molekuler isolat U-6 memiliki kemiripan dengan bakteri *Enterobacter cloacae*. Data sekuen diperoleh dari *Genbank* NCBI. Isolat U⁶ memiliki kemiripan hingga 94 % dengan bakteri *Enterobacter cloacae*. Isolat U⁶ memiliki persentase kemiripan antara 93%-97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Bakteri *E. cloacae* termasuk kedalam genus *Enterobacter*.

Kemampuan bakteri *Enterobacter cloacae* mendegradasi selulosa dapat terlihat dari zona bening yang terbentuk disekitaran koloni bakteri. Terbentuknya zona bening pada media CMC menunjukkan bahwa isolat bakteri *Enterobacter cloacae* dapat memanfaatkan selulosa sebagai sumber energi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Lokapirnasari *et al.* (2015), isolat *Enterobacter cloacae* WPL 214 menunjukkan kemampuan untuk menghasilkan enzim selulase yang mempunyai aktivitas endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase, dan 1,4- β -glukosidase.

Selain memiliki kemampuan untuk menghasilkan aktivitas enzim endo- β -1,4-glukanase yang berfungsi untuk mendegradasi selulosa (Sami *et al.*, 2008) bakteri ini juga memiliki kemampuan untuk memanfaatkan gula yang berbeda sebagai sumber energi yaitu glukosa dan sukrosa. Selanjutnya Kumar dan Das (2000) melaporkan bahwa bakteri *E. cloacae* dapat memproduksi hidrogen dalam proses fermentasi dari berbagai substrat termasuk glukosa, sukrosa, dan selobiosa.

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ditemukan bakteri selulolitik yang diisolasi dari sampah organik Kota Denpasar. Berdasarkan hasil perhitungan indeks selulolitik, isolat bakteri yang menghasilkan indeks selulolitik tertinggi adalah isolat yang berasal dari Denpasar Barat pengenceran 10^{-6} yaitu sebesar 7,3. Indeks selulolitik tertinggi kedua yaitu isolat yang ditemukan di Denpasar Utara pengenceran 10^{-6} yaitu sebesar 3. Berdasarkan hasil pengujian secara molekuler menggunakan gen penyandi 16S rRNA isolat bakteri U⁻⁶ dan B⁻⁶ mendapatkan hasil sekuens yang memiliki homologi berturut-turut dengan *Lactobacillus acidophilus* dan *Enterobacter cloacae*. Tingkat kesamaan masing-masing isolat uji dengan isolat pada *GeneBank* secara berturut-turut adalah 95% dan 94%.

4.2 Saran

Perlu dilakukan karakterisasi bakteri selulolitik yang dihasilkan oleh isolat U⁻⁶ dan B⁻⁶. Karakterisasi yang dilakukan meliputi karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia.

Isolat yang ditemukan perlu diuji lebih lanjut terkait dengan kemampuannya dalam menghasilkan enzim selulase serta aplikasinya sehingga dapat dimanfaatkan sebagai biodekomposer untuk mengatasi permasalahan sampah organik.

Daftar Pustaka

- Choi, Y. W., I. J. Hodgkiss, and K. D. Hyde. 2005. Enzyme Production by Endophytes of *Brucea Javanica*. *J Agric Tech*, 1: 55-66.
- Data Statistik Dinas Lingkungan Hidup dan Kebersihan Kota Denpasar. 2017. Lampiran Rekapitulasi Volume Sampah Kota Denpasar Tahun 2015, 2016, dan 2017.
- Ekawati, E. R., Ni'matuzahroh, T. Surtiningsih., dan A. Supriyanto. 2012. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Limbah Daduk Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Berk. Penel. Hayati*: 18(31-34).
- Howard, A., Rensburg, and Howard. 2003. Lignocellulose Biotechnology, Issues of Bioconversion and Enzyme Production. *Review Journal of Biotechnology*, 2(12): 602-619.
- Kasana, S. C., S. Richa, D. Hena, D. Som, and G. Arvind. 2008. A Rapid And Easy Method for The Detection of Microbial Cellulase On Agar Plates Using Gram's Iodine. *Curr Microbio*, 57(5): 503-507.
- Kumar, N., and D. Das. 2000. Enhancement of Hydrogen Production by *Enterobacter cloacae* IIT-BT 08. *Process Biochem*, 35:589-593.
- Lokapirnasari, W. P., M. S. Adriana, N. Tri, S. Koesnoto, and B. A. Adreas. 2015. Production and assay of cellulolytic enzyme activity of *Enterobacter cloacae* WPL 214 isolated from bovine fluid waste of Surabaya Abattoir, Indonesia. *Veterinary World*, 8(3): 267-371.

- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T. C. Sunarti, N. Rachmania, dan H. Satria. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara, Sains*, 13(1): 33-38.
- Mulyasari, I. Melati, dan T. D. Sunarno. 2015. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Rumput Laut *Turbinaria* sp. dan *Sargassum* sp. sebagai Kandidat Pendegradasi Serat Kasar Pakan Ikan. *Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar*, 10(1): 51-60.
- Sabaya, D. 2012. Potensi Isolat Bakteri Selulolitik untuk Produksi Dekomposer. Skripsi Universitas Pakuan.
- Sami, A. J., M. Awais, and A. R. Shakoori. 2008. Preliminary Studies on the Production of the Endo-1,4- α -D-glucanase activity produced by *Enterobacter zloacae*. *Afr J Biotechnol*, 7: 1318-1322.
- Schwarz, W. 2001. The Cellulosome and Cellulose Degradation by Anaerobic Bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 56: 634-649.
- Setiarto, R.H.B., N. Widhyastuti, I. Saskiawan, dan R. M. Safitri. 2016. Pengaruh Variasi Konsentrasi Inulin pada Proses Fermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Biotropal Industrial*, 8(1): 1-17.
- Suwanto, A., Yogiana, D. Suryanto, I. Tan, and E. Puspitasari. 2002. *Selected Protocols Training Course on Advances in Molecular Biology Techniques to Asses Microbial Diversity*. Bogor: SEAMEO-BIOTROP.
- Ulfa, A., Siti, K., dan Riza, L. 2014. Kemampuan Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Jurnal Protobiont*, 3(2): 259-267.