

ISOLASI DAN SKRINING BAKTERI SELULOLITIK DARI BEBERAPA TANAH HUTAN DI BALI

Isolation and screening cellulolytic bacteria from some soil forest in Bali

Ella Dewi Yusnia, Ida Bagus Wayan Gunam*, Nyoman Semadi Antara

PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit
Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801.

Diterima 08 Oktober 2018 / Disetujui 12 November 2018

ABSTRACT

Soil is one habitats of the cellulolytic bacteria. Soil containing manure and decayed wood is habitation for cellulolytic bacteria. This research is aimed to isolate and screen cellulolytic bacteria from the soil in Bali that has the potentials to degrade cellulose. The soil samples ware taken from forest in Gunaksa-Klungkung, Telaga-Karangasem, Sukahat-Karangasem, Gilimanuk-Jembrana, and Mangrove forests in Suwung-Denpasar. Each single cellulolytic bacteria colonies which grown on solid media containing *carboxymethyl cellulose* (CMC) were isolated. Screening of cellulolytic bacteria using *congo red* 0,1 %, staining bacterial isolates which were created clear zones in around the colony were selected. The isolation result are 67 isolated cellulolytic bacteria covered in five soils sample. Twenty-one bacterial isolates were producing cellulase enzymes with an indication of a clear zone in around the colony. Nine superior isolates have high cellulolytic index (CI), namely: G2-8 (5.41), G1-4 (4.86), G2-10 (4.5), G2-2 (3.64), M1-5 (3.10), G2-5 (3.03), M2-12 (2.72), G1-1 (2.38), and M1-1 (2.21). The obtained highest percentage of filter paper (Whatman No.1) degradation was 8.32% and the lowest was 2.48%.

Keywords: forest soil, isolation, cellulolytic bacteria, *congo red*

ABSTRAK

Tanah adalah salah satu habitat bakteri selulolitik. Tanah yang mengandung serasah dan lapukan kayu merupakan habitat bakteri selulolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan skrining bakteri selulolitik dari tanah hutan di Bali yang berpotensi mendegradasi selulosa. Sampel tanah yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari 5 lokasi hutan di Bali yaitu: tanah hutan di Gunaksa-Klungkung, Telaga-Karangasem, Sukahat-Karangasem, Mangrove Suwung-Denpasar, dan Gilimanuk-Jembrana. Isolasi koloni tunggal bakteri selilolitik dilakukan dengan media agar spesifik yang mengandung *carboxymethyl cellulose* (CMC) sebagai substrat. Skrining bakteri selulolitik menggunakan *congo red* 0,1% dengan indikasi terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Hasil dari isolasi yang telah dilakukan dari sampel tanah hutan yang diambil dari 5 hutan di Bali didapatkan 67 isolat bakteri selulolitik. Dua puluh satu isolat bakteri bernilai positif sebagai penghasil enzim selulase dengan indikasi adanya zona bening di sekitar koloni. Sembilan isolat diantaranya memiliki indeks selulolitik (IS) lebih tinggi, yaitu: G2-8(5,41), G1-4 (4,86), G2-10 (4,5), G2-2 (3,64), M1-5 (3,10), G2-5 (3,03), M2-12 (2,72), G1-1 (2,38), dan M1-1 (2,21) Hasil persentase degradasi kertas *filter* (Whatman No.1) didapatkan nilai tertinggi sebesar 8,32% dan terendah sebesar 2,48%.

Kata kunci: tanah hutan, isolasi, bakteri selulolitik, *congo red*

*Korespondensi Penulis:
Email: ibwgunam@unud.ac.id

PENDAHULUAN

Bakteri selulolitik merupakan salah satu mikroba pendegradasi selulosa potensial karena memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibanding kelompok mikroba lainnya, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk produksi enzim selulase lebih singkat (Baharuddin, 2010).

Hutan kaya akan biodiversitas mikroba yang mampu mendegradasi biomassa berlignoselulosa (Agustini *et al.*, 2011). Partikel-partikel organik atau serasah menjadi tempat hidup bagi bakteri (Mahmudi, 2008). Hutan menghasilkan serasah dan lapukan kayu yang dapat mendukung keberadaan bakteri selulolitik (Ningsih *et al.*, 2014).

Salah satu habitat bakteri selulolitik adalah tanah. Karakteristik tanah yang banyak terdapat bakteri selulolitik adalah tanah yang terdapat dari serasah (daun, ranting bunga, dan buah yang gugur) (Fikrinda, 2000). Daun yang gugur di atas tanah memungkinkan kandungan selulosa di tanah tersebut tinggi, maka besar kemungkinan untuk dapat menemukan bakteri pendegradasi selulosa (Reanida, 2012).

Bakteri selulolitik memiliki laju pertumbuhan yang cepat, kompleksitas enzim dan variabilitas habitat yang mendukung (Maki *et al.*, 2009). Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi dan skrining bakteri selulolitik dari tanah hutan di Bali sebagai penghasil enzim selulase untuk biokonversi selulosa menjadi glukosa yang selanjutnya dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan bioetanol.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan, dan Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan penelitian Maret-Juni 2018.

Bahan

Sampel yang digunakan adalah tanah hutan yang diambil dari 5 lokasi hutan di Bali: yaitu dari tanah hutan di Gunaksa-Klungkung, Telaga-Karangasem, Sukahat-Karangasem, Mangrove Suwung-Denpasar, dan Gilimanuk-Jembrana. Media yang digunakan adalah medium selulolitik, yang terdiri dari: K_2HPO_4 , $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, NaCl, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, CMC, yeast extract, bacto agar (Shajahan *et al.*, 2017). Uji skrining menggunakan *congo red* (Shajahan *et al.*, 2017) dan uji degradasi *filter paper* menggunakan kertas *filter* (Whatman no. 1) sebagai substrat (Gupta *et al.*, 2012).

Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi untuk mendapatkan bakteri selulolitik dari tanah hutan di Bali yang berpotensi mendegradasi selulosa. Isolasi bakteri selulolitik menggunakan media agar spesifik yang mengandung *carboxymethyl cellulose* (CMC). Skrining bakteri selulolitik menggunakan *congo red* dengan indikasi terbentuknya zona bening. Uji degradasi *filter paper* untuk menentukan aktivitas eksoglukonase. Hasil selisih antara kertas *filter* sebelum diinkubasi dengan setelah inkubasi menunjukkan tingkat degradasi selulosa dari isolat yang diuji. Uji karakter morfologis koloni bakteri yang berbeda dengan mengamati bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni serta motilitas dan uji dan pewarnaan Gram (Krairitthichai dan Thongwai, 2005). Uji biokimia meliputi uji katalase, uji urease, uji produksi H_2S , uji voges proskauer, uji indol, uji merah metil, uji sitrat (Duza dan Mastan, 2013; Bahera *et al.*, 2014). Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan dibahas secara deskriptif.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Media

Pembuatan medium selulolitik padat untuk isolasi dan skrining bakteri selulolitik

yaitu dengan melarutkan K_2HPO_4 1,36 g; $(NH_4)_2SO_4$ 1,0 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,2 g; NaCl 2,0 g; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0,01 g; yeast extract 1,0 g; CMC 0.5%; dan bacto agar 15 g dalam 1000 mL aquades (Shajahan *et al.*, 2017) pH media diatur menjadi 7,0 dan disterilisasi dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Medium selulolitik cair dibuat dengan cara yang sama seperti pembuatan medium selulolitik padat akan tetapi tidak ditambahkan bacto agar.

Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan 5 sampel tanah yang diambil dari lima lokasi hutan di Bali: yaitu dari tanah hutan di Gunaksa-Klungkung, Telaga-Karangasem, Sukahat-Karangasem, Mangrove Suwung-Denpasar, dan Gilimanuk-Jembrana. Penentuan tempat pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan metode *purposive sampling* berdasarkan lingkungan hutan. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada kedalaman 2–5 cm secara acak (Reanida, 2012).

Isolasi Bakteri Selulolitik

Isolasi dimulai dari suspensi sampel pengenceran 10^{-2} sampai dengan 10^{-7} ke dalam tabung reaksi yang terpisah. Suspensi sampel diambil sebanyak 0,1 mL disebar pada media selulolitik padat. Cawan petri diinkubasi secara terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam (Shajahan *et al.*, 2017). Isolat yang menunjukkan morfologi berbeda baik dari bentuk, warna, maupun morfologinya selanjutnya dilakukan gores kuadran dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Isolat yang menunjukkan morfologi yang berbeda selanjutnya dilakukan pemurnian isolat dengan penggoresan yang kedua pada medium padat dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam (Shajahan *et al.*, 2017).

Skrining Bakteri Selulolitik

Skrining bakteri selulolitik dengan menuangkan *congo red* 0,1% kedalam cawan petri isolat terpilih (yang telah diinkubasi 48

jam) kemudian didiamkan selama 15 menit dan dibilas dengan NaCl 1 M. Isolat bernilai positif mampu mendegradasi selulosa ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekeliling koloni bakteri. Menurut Anand *et al.* (2009) *congo red* akan berikatan secara nonkovalen dengan polisakarida yang memiliki ikatan β -1,4 glikosida, dalam hal ini polisakarida yang terkandung dalam media adalah CMC. Produk degradasi tersebut berupa gula sederhana monosakarida dan tidak terjadi ikatan kompleks dengan *congo red*. Sedangkan warna merah menunjukkan sisa selulosa yang tidak terdegradasi sehingga terjadi pembentukan selulosa *congo red*. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat dengan pencucian menggunakan NaCl 1 M. *Congo red* merupakan garam natrium dari benzenediazo-bis-1-naphthylamine-4 asam sulfonat ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) sehingga pewarna ini akan larut dan tercuci oleh NaCl. Dengan demikian, zona bening yang terbentuk akan tampak jelas (Teather dan Wood, 1981 dalam Hartanti, 2010; Ram *et al.*, 2014). Zona bening yang terbentuk kemudian diukur, selanjutnya dilakukan perhitungan nilai indeks selulolitik (IS) dengan membandingkan nilai diameter zona bening dan nilai diameter koloni bakteri (Shajahan *et al.*, 2017).

Uji Degradasi Filter Paper

Uji degradasi *filter paper* dilakukan sesuai dengan penelitian Gupta *et al.*, 2012. Kertas *filter* (Whatman no.1) yang sudah selesai diinkubasi pada *shaker* dicuci menggunakan aquades, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 103°C selama 3 jam hingga didapat berat konstan. Hasil dari selisih berat antara kertas *filter* (Whatman no.1) sebelum diinkubasi dengan setelah inkubasi menunjukkan tingkat degradasi selulosa dari isolat yang diuji.

Uji Morfologi dan Biokimia

Pemeriksaan uji karakter morfologis koloni bakteri yang berbeda dengan

mengamati bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni (Krairitthichai dan Thongwai, 2005) motilitas dan pewarnaan Gram. Uji biokimia meliputi uji katalase, uji urease, uji produksi H₂S, uji voges proskauer, uji indol, uji merah metil, uji sitrat (Duza dan Mastan, 2013;

Bahera *et al.*, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel Tanah

Tabel 1. Lokasi dan kondisi yang diamati saat pengambilan sampel tanah serta jumlah isolat dari isolasi dan skrining bakteri selulolitik beberapa tanah hutan di Bali

No	Lokasi	Titik kootdinat lokasi	Suhu tanah	Kondisi tanah yang teramati	Isolat selulolitik	Isolat yang menghasilkan zona bening
1	Gunaksa-Klungkung	8°32'55.6"LS 115°26'07.4"BT	30 °C	Kering, berwarna hitam, berbau lapukan kayu	9	2
2	Telaga-Karangasem	8°26'50.1"LS 115°32'13.2"BT	30 °C	Basah, berwarna coklat pekat kehitaman	8	2
3	Sukahat-Karangasem	8°30'47.5"LS 115°25'34.3"BT	30 °C	Kering, berwarna hitam	7	1
4	Mangrove-Denpasar	8°43'34.3"LS 115°11'31.2"BT	29 °C	Basah, berwarna hitam	28	10
5	Gilimanuk-Jembrana	8°13'35.7"LS 114°27'17.8"BT	30 °C	Kering, berwarna hitam	15	6

Isolat Bakteri Selulolitik

Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan maka didapatkan 67 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada medium selulolitik padat yang mengandung CMC. Isolat-isolat tersebut terdiri dari 9 isolat berasal dari sampel Gunaksa-Klungkung, 8 isolat berasal dari sampel Telaga-Karangasem, 7 isolat berasal dari sampel Sukahat-Karangasem, 28 isolat berasal dari sampel Mangrove Suwung-Denpasar, dan 15 isolat berasal dari sampel Gilimanuk-Jembrana.

Skrining Bakteri Selulolitik

Skrining 67 isolat menggunakan *congo*

red 0,1%, 21 isolat diantaranya bernilai positif mampu mendegradasi selulosa ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekeliling koloni bakteri. Diameter zona bening dari masing-masing isolat bakteri diukur menggunakan jangka sorong didapatkan 9 isolat memiliki indeks selulolitik (IS) lebih tinggi (Gambar 1), yaitu G2-8, G1-4, G2-10, G2-2, M1-5, G2-5, M2-12, G1-1, dan M1-1. Nilai indeks selulolitik 9 isolat bakteri selulolitik dapat dilihat pada Tabel 2.

Menurut Ochoa-Solano dan Olmos-Soto (2006), isolat yang menghasilkan diameter zona bening dua kali diameter koloni merupakan produser enzim yang potensial.

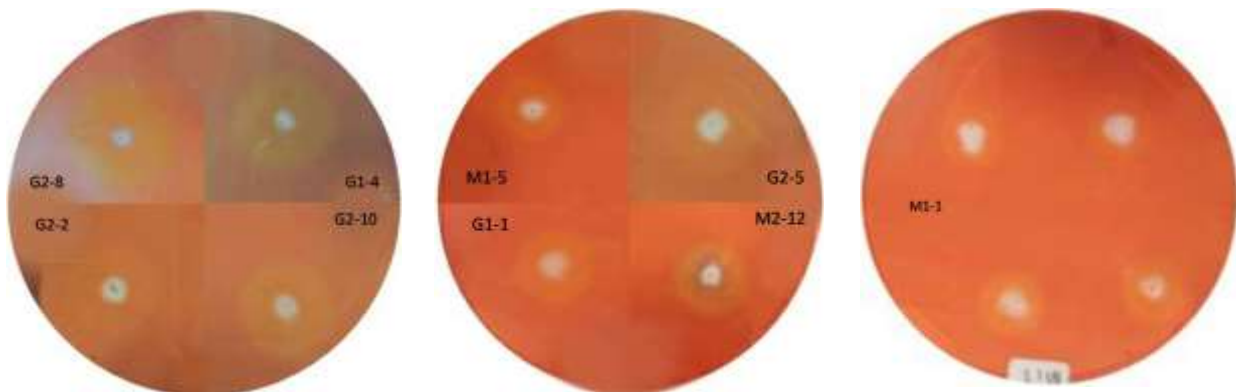
Pada penelitian Hatami (2008) tentang investigasi bakteri selulolitik di tanah hutan dengan nilai indeks selulolitik tertinggi sebesar 2,2 hingga 2,8. Behera (2014) tentang isolasi dan identifikasi bakteri pengurai selulosa dari tanah mangrove delta sungai Mahanadi didapat nilai indeks selulolitik tertinggi sebesar 1,18

hingga 2,5. Adanya perbedaan indeks selulolitik, hal ini disebabkan oleh jenis isolat yang berbeda yang memiliki kemampuan menghasilkan selulase yang berbeda pula dalam menghidrolisis substrat CMC (Sudiana *et al.*, 2001).

Tabel 2. Indeks Selulolitik (IS) 9 isolat bakteri selulolitik dari beberapa tanah hutan di Bali

No	Kode Isolat	Diameter (cm)		Indeks Selulolitik (IS)
		Zona Bening	Koloni	
1	G2-8	1,46	0,28	5,41
2	G1-4	1,48	0,31	4,86
3	G2-10	1,49	0,33	4,55
4	G2-2	1,32	0,36	3,64
5	M1-5	0,90	0,29	3,10
6	G2-5	1,35	0,45	3,03
7	M2-12	0,99	0,37	2,72
8	G1-1	1,11	0,47	2,38
9	M1-1	0,87	0,39	2,21

Keterangan: Skrining bakteri selulolitik menggunakan *congo red* dengan metode titik. Isolat terpilih diinkubasi 48 jam kemudian dituang larutan *congo red* 0,1% sebanyak 10 mL, kemudian didiamkan selama 15 menit dan dibilas dengan NaCl 1 M. Kode G (Gilimanuk-Jembrana), M (Mangrove-Denpasar), SS (Sukahat-Krangasem), CS (Telage-Karangasem), GK (Gunaksa-Klungkung).



Gambar 1. Hasil skrining 9 isolat yang menghasilkan zona bening terbesar menggunakan *congo red*

Aktivitas Selulolitik

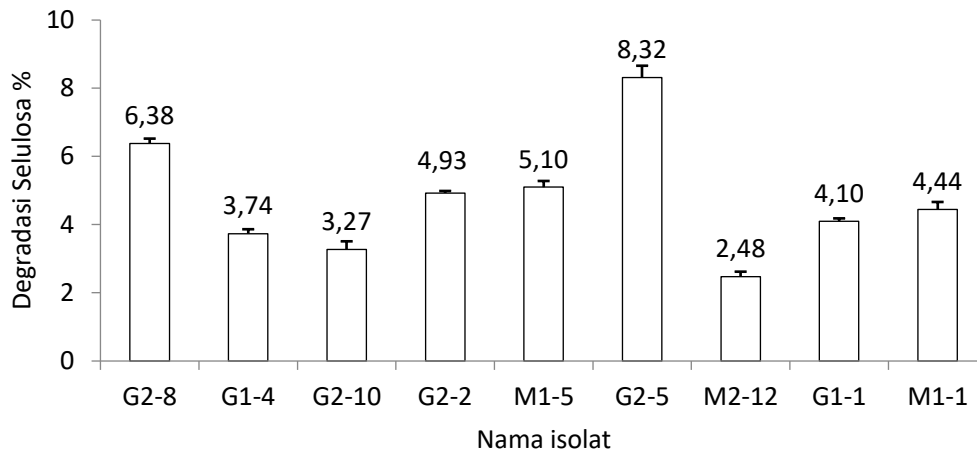
Untuk mengetahui aktivitas selulolitik dari 9 isolat terbaik yang telah diisolasi dalam mengurai selulosa, maka dilakukan uji degradasi *filter paper* pada medium selulolitik cair dengan penambahan kertas *filter* (Whatman no. 1) sebagai substrat selulosa. Hasil tingkat degradasi selulosa pada kertas *filter* (Whatman no.1) setelah diinkubasi

ditunjukkan pada Gambar 2.

Isolat bakteri selulolitik yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi selulosa ditunjukkan dengan berkurangnya berat akhir pada kertas (Whatman No.1) atau dari kerusakan kertas *filter* setelah diinkubasi, semakin tinggi selisih kertas *filter* sebelum dan sesudah inkubasi maka semakin tinggi degradasi yang dihasilkan (Lu *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil persentase degradasi tertinggi

sebesar 8,32% dan terendah sebesar 2,48%.



Gambar 2. Aktivitas degradasi *filter paper* 9 isolat pada media selulolitik cair dengan penambahan *filter paper* Whatman no. 1 ($1 \times 6 \text{ cm}^2 \times 2$, per 20 mL) inkubasi pada suhu ruang selama 10 hari digojog pada *shaker* dengan kecepatan 100 rpm.

Hasil persentase degradasi yang didapat pada penelitian ini termasuk kategori rendah. Hal ini dapat dibandingkan dengan hasil penelitian lain. Berdasarkan penelitian Gupta *et al* (2012), hasil uji degradasi kertas filter (Whatman no. 1) tertinggi 65,7% dan terendah 55%. Serta Wen-Jing *et al* (2004), hasil uji degradasi kertas filter berkisar 31-60%.

Besarnya zona bening di sekitar koloni pada medium padat dengan kemampuan organisme tersebut dalam mendegradasi selulosa kristalin pada media cair berbeda disebabkan karena perbedaan kecepatan pertumbuhan setiap isolat pada medium padat dan cair (Ward, 1985). Selain itu, setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan (Meryandini, 2009).

Morfologi dan Sifat Biokimia Isolat

Seluruh isolat selanjutnya dilakukan pemeriksaan uji karakter morfologis koloni bakteri yang berbeda dengan mengamati bentuk, tepian, elevasi (kenaikan permukaan), dan warna koloni, serta motilitas dan uji

pewarnaan Gram (Krairitthichai dan Thongwai, 2005). Karakteristik koloni sel dan sifat biokimia 9 isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari tanah hutan di Bali ditunjukkan Tabel 3.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh isolat yang diuji merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal violet. Pada bakteri golongan Gram positif dinding selnya lebih sedikit mengandung lemak, sehingga mengalami dehidrasi karena perlakuan dengan alkohol, ukuran pori-pori dan permeabilitas dinding sel menjadi berkurang dan kristal violet tidak tercuci, inilah yang menyebabkan bakteri golongan positif tetap berwarna ungu (Rahman, 2010).

Hasil uji motilitas menunjukkan hasil positif, kecuali isolat G1-1 menunjukkan hasil negatif. Uji motilitas untuk mengetahui gerak bakteri. Hasil positif jika terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, bahwa bakteri ini memiliki flagel. Hasil

negatif, jika terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar hanya pada bekas

tusukan inokulasi. (Cappuccino dan Sherman, 2017).

Tabel 3. Karakteristik koloni sel dan sifat biokimia 9 isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari tanah hutan di Bali

Karakteristik	Isolat bakteri								
	G2-8	G1-4	G2-10	G2-2	M1-5	G2-5	M2-12	G1-1	M1-1
Karakteristik koloni									
• Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
• Ukuran koloni	Sedan	Besar	Sedan	Sedan	Sedang	Besar	Besar	Besar	Sedan
• Warna koloni	Putih	Putih	Putih	Kunin	Putih	Kunin	Putih	Kunin	Putih
• Tepian koloni	Rata	Rata	Rata	Rata	Berleku	Rata	Berleku	Rata	Rata
• Elevasi koloni	Datar	Datar	Datar	Timbul	Datar	Timbul	Datar	Timbul	Datar
Karakteristik sel									
• Motilitas	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Tidak Motil	Motil
• Gram	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
• Morfologi	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Sifat biokimia									
• Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
• Urease	+	+	+	+	+	+	+	+	+
• H₂S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
• VP	+	+	-	+	-	+	+	+	-
• Indol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
• Metil Red	+	+	+	+	+	+	-	-	+
• Sitrat	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Hasil uji biokimia setiap isolat berbeda disebabkan karena setiap isolat mempunyai aktivitas enzimatis yang berbeda. Hasil uji katalase positif pada semua isolat yang diuji ditandai adanya gelembung udara di atas permukaan koloni ketika ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%, menunjukkan bakteri hidup dalam kondisi aerobik (Cappuccino dan Sherman, 2017). Bakteri selulolitik aerob dapat menggunakan sumber karbon lain di

samping glukosa. Sedangkan bakteri selulolitik anaerob hanya dapat tumbuh pada sumber selulosa dan produk selulolitiknya (Lynd *et al*, 2002). Hasil uji urease positif pada semua isolat yang diuji menunjukkan bakteri menghasilkan urease ditandai dengan perubahan medium menjadi merah muda (Cappuccino dan Sherman, 2017). Hasil uji H₂S positif pada beberapa isolat yang diuji menunjukkan bakteri dapat memecah asam

amino yang mengandung sulfur yang ditandai dengan perubahan warna medium menjadi hitam. Hasil uji voges proskauer positif pada beberapa isolat yang diuji menunjukkan bakteri menghasilkan substansi non asam atau produk akhir netral seperti asetil metil karbinol dari asam organik sebagai hasil metabolisme glukosa (Cappuccino dan Sherman, 2017). Hasil uji indol negatif pada semua isolat yang diuji, menunjukkan bakteri tidak dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat (Cappuccino dan Sherman, 2017). Hasil uji merah metil semua isolat positif, kecuali dua isolat M2-12 dan G1-1. Merah metil positif menunjukkan bakteri dapat mengubah glukosa menjadi produk asam (Cappuccino dan Sherman, 2017). Hasil uji sitrat (*simmone citrate*) semua isolat negatif kecuali 2 isolat, yaitu isolat G1-1, dan M1-1. Sitrat negatif menunjukkan bakteri tidak menghasilkan sitrat (Cappuccino dan Sherman, 2017).

Berdasarkan karakteristik sel dan sifat biokimia 9 isolat yang diuji maka isolat tersebut dapat dikelompokkan menjadi 5 jenis bakteri selulolitik. Semua isolat bakteri berbentuk batang, katalase positif, tidak menghasilkan H₂S, indol negatif, dan termasuk bakteri gram positif. Bakteri jenis 1 (G2-8, G1-4, G2-2 dan G2-5) memperlihatkan voges proskauer positif, merah metil positif, dan sitrat negatif. Bakteri jenis 2 (G2-10 dan M1-5) memperlihatkan voges proskauer positif, merah metil positif, dan sitrat negatif voges proskauer negatif, merah metil positif, dan sitrat negatif. Bakteri jenis 3 (M2-12) memperlihatkan voges proskauer positif, merah metil negatif, dan sitrat negatif. Bakteri jenis 4 (G1-1) memperlihatkan voges proskauer positif, merah metil merah metil negatif, dan sitrat positif. Bakteri jenis 5 (M1-1) memperlihatkan voges proskauer negatif, merah metil positif, dan sitrat positif. Jenis bakteri 4 memperlihatkan bakteri tidak motil, berbeda dengan empat jenis bakteri lainnya.

Pada hasil uji biokimia dapat di lihat bahwa bakteri yang menghasilkan indeks selulolitik tertinggi (G2-8) serta bakteri yang menghasilkan degradasi *filter paper* tertinggi (G2-5) dari jenis bakteri 1 dengan memperlihatkan Gram positif, berbentuk batang, motil, positif urease, voges proskauer, katalase dan uji metil red serta hasil negatif untuk H₂S, indole, dan sitrat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Bakteri yang diisolasi dari tanah hutan di Bali berpotensi mendegradasi selulosa. Pengujian selulolitik dilakukan menggunakan media agar spesifik *carboxymethyl cellulose* (CMC) menghasilkan 21 isolat bakteri bernilai positif sebagai penghasil enzim selulase.
2. Isolat bakteri yang dihasilkan dari tanah hutan di Bali mempunyai kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi selulosa. Isolat G2-8 menghasilkan indeks selulolitik terbesar yaitu 5,41 dan isolat G2-5 mempunyai tingkat degradasi selulosa tertinggi yaitu sebesar 8,32%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan beberapa hal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan uji lanjutan mengenai uji aktivitas endoglukonase.
2. Perlu dilakukan pengembangan penelitian uji aktivitas selulase murni dengan variasi kondisi pH dan suhu untuk menentukan kondisi optimum selulase yang berasal dari beberapa tanah hutan di Bali.

DAFTAR PUSTAKA

Agustini, L., R.S.B. Irianto, M. Turjaman, dan E. Santoso. 2011. Isolasi dan

- karakterisasi enzimatis mikroba lignoselulolitik di tiga tipe ekosistem Taman Nasional. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 8 (2): 197-210
- Anand, Vennison, Sankar, Prabhu, Vasanth, 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. *Journal of Insect Science*. 10 (107): 1-20.
- Behera, B.C., S. Parida, K. Dutta, dan H.N. Thatoi. 2014. Isolation and identification of cellulose degrading bacteria from mangrove soil of Mahanadi river delta and their cellulase production ability. *American Journal of Microbiological Research*. 2 (1): 41-46
- Bui, H.B. 2014. Isolation of cellulolytic bacteria, including actinomycetes, from coffee exocarps in coffee-producing areas in Vietnam. *Recycl Org Waste Agricult*. 3:48
- Cappoccino, J.G. dan N. Sherman. 2017. *Microbiology: A Laboratory Manual*, New York: The Benjamin Cummings.
- Dar, A.M., K.D. Pawar, J.P. Jadhav, dan R.S. Pandit. 2015. Isolation of cellulolytic bacteria from the gastro-intestinal tract of *Achatina* spp. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*. 98: 73-80
- Duza, M.B, dan S.A. Mastan. 2013. Isolation, characterization and screening of enzyme producing bacteria from different soil samples. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4 (2): 813-824
- Gupta, P., K. Samant, dan A. Sahu. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*. 2:1-5
- Irfan, Muhammad, A. Safdar, Q. Syed, dan M. Nadeem. 2012. Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production and activity. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk Journal Biochem*. 37 (3): 287-293.
- Kapludin, Y. 2012. Karakteristik dan Keragaman Biota pada Vegetasi Mangrove Dusun Wael Kabupaten Seram Bagian Barat. Universitas Darussalam Ambon.
- Krairitthichai, S., dan N. Thongwai. 2005. Isolation and Screening for Cellulase Producing Bacteria. *Science and Technology of Thailand, Thailand*.
- Liang, Y.L. Z., Z. Zheng, W. Min, W. Yuan, dan X.F. Jia. 2014. Isolation, screening, and identification of cellulolytic bacteria from natural reserves in the subtropical region of China and optimization of cellulase production by *paenibacillus terrae* ME27-1. *International Journal Hindawi Publishing Corporation BioMed*. 4: 1-13
- Lu, W.J., H. T. Wang, dan Y.F. Nie. 2004. Effect of inoculating flower stalks and vegetable waste with lignocellulolytic microorganisms on the composting process. *Journal of Environmental Science and Health*. 39 (5):871-887
- Lynd LR, P.J. Weimer, WH van Zyl, IS Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Journal of Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 66(3): 506-577.

- Ochoa-Solano, J.L, dan J. Olmos-Soto. 2006. The Functional property of Bacillus for Shrimp Feeds. *Food Microbiol.* 23: 519-525.
- Shajahan S., I.G. Moorthy, N. Sivakumar, dan G. Selvakumar. 2017. Statistical modeling and optimization of cellulose production by Bacillus licheniformis NCIM 5556 isolated from the hot spring, Maharashtra, India. *Journal of King Saud University.* 29: 302–310
- Sinegani, A. dan Mahohi. 2010. Soil water potential effects on the cellulase activities of soil treated with sewage sludge. *International Journal Plant Soil Environ.* 56: 333-339
- Sudiana I.M., R.D. Rahayu, H. Imamuddin, dan M. Rachmansyah. 2001. Cellulolytic Bacteria of Soil of Gunung Halimun National Park. *Jurnal Biologi.* 5 (6): 703-710.
- Hatami,S. 2008. Investigation on Aerobic Cellulolytic Bacteria in Some of North Forest and Farming Soils. *American-Eurasian Journal Agriculture and Environ.* 3(5): 713-716
- Teather R.M., dan P.J. Wood. 1981. Use of congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Journal Environ Microbiol.* 4:777-780.