



## KEMAMPUAN DEGRADASI ISOLAT BAKTERI LIGNOSELULOLITIK ASAL CACING TANAH (*Lumbricus rubellus*) TERHADAP BERBAGAI SUBSTRAT LIGNOSELULOSA

Slamet, I K., I G. L. O. Cakra, dan I M. Mudita

Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Denpasar

No Hp: +628563764576 E-mail: [dek\\_amet@yahoo.com](mailto:dek_amet@yahoo.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan degradasi dari isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah terhadap substrat murni (asam tanat, CMC, xylan) dan substrat alami (eceng gondok, dan daun apu). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana selama 2 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, pada substrat asam tanat isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC menghasilkan nilai yang lebih tinggi dan secara statistik menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap EB<sub>2</sub>LC, namun berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap EB<sub>1</sub>LC dan EB<sub>4</sub>LC. Pada substrat CMC isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC menghasilkan nilai yang lebih tinggi dan secara statistik menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap EB<sub>1</sub>LC dan EB<sub>4</sub>LC, namun berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap EB<sub>2</sub>LC. Pada substrat xylan dan eceng gondok, isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC menunjukkan nilai yang lebih tinggi secara kuantitatif, namun secara statistik menunjukkan berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap EB<sub>1</sub>LC, EB<sub>2</sub>LC, dan EB<sub>4</sub>LC. Pada substrat Daun Apu isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC menghasilkan nilai yang lebih tinggi dan secara statistik berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap EB<sub>1</sub>LC, EB<sub>2</sub>LC, dan EB<sub>4</sub>LC (1,532 cm, 1,536 cm, dan 1,529 cm). Hasil uji kemampuan degradasi menunjukkan bahwa isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC menunjukkan hasil tertinggi pada semua substrat uji.

*Kata kunci : Isolat Bakteri, Lignoselulosa, Degradasi*

## DEGRADATION ABILITY BACTERIA ISOLATE LIGNOSELULOLITIK FROM EARTHWORM (*Lumbricus rubellus*) ON VARIOUS OF SUBSTRATE LIGNOCELLULOSE

### ABSTRACT

A research aimed to determine the ability of bacterial isolates lignoselulolitik degradation from earthworm than pure substrates (tannic acid, CMC, xylan) and the natural substrate (hyacinth, and apu leaves). This research was conducted at the Laboratory of Animal Nutrition and Feed Faculty of Animal Husbandry Udayana University for 2 months. The results showed that, on the substrate Tannic acid bacteria isolates EB<sub>3</sub>LC produce higher value and showed statistically significantly different ( $P < 0,05$ ) than EB<sub>2</sub>LC, but had no significant ( $P > 0.05$ ) of EB<sub>1</sub>LC and EB<sub>4</sub>LC. At CMC substrates EB<sub>3</sub>LC bacteria produce higher value and addressing different statistically significant ( $P < 0.05$ ) than EB<sub>1</sub>LC and EB<sub>4</sub>LC, but had no significant ( $P > 0.05$ ) than EB<sub>2</sub>LC. In xylan substrate and hyacinth, EB<sub>3</sub>LC bacterial isolates showed higher values quantitative, but statistics show no significant ( $P > 0.05$ ) than EB<sub>1</sub>LC, EB<sub>2</sub>LC, and EB<sub>4</sub>LC. On apu leaves substrate EB<sub>3</sub>LC bacteria produce higher grades and were statistically significantly different ( $P < 0.05$ ) than EB<sub>1</sub>LC, EB<sub>2</sub>LC, and EB<sub>4</sub>LC (1.532 cm, 1.536 cm and 1.529 cm). The test results show that the degradation of the ability of bacteria isolate EB<sub>3</sub>LC showed the highest results in all test substrate.

*Keywords: Bacterial Isolates, Lignocellulose, Degradation*

## PENDAHULUAN

Pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi biaya produksi dalam suatu usaha peternakan, sehingga diperlukan pakan alternatif untuk menekan biaya pakan. Upaya pemanfaatan pakan non konvensional merupakan salah satu solusi alternatif yang sangat mungkin untuk dilakukan dalam mengatasi masalah biaya pakan. Pakan non konvensional mempunyai potensi untuk dapat dimanfaatkan sebagai bahan penyusun pakan ternak ditinjau dari kandungan nutrisi yang cukup memadai, harga yang relatif murah, mudah didapat, serta tidak bersaing dengan kebutuhan manusia. Pakan non konvensional yang dapat digunakan sebagai pakan alternatif diantaranya eceng gondok dan daun apu. Eceng gondok dan daun apu merupakan bahan pakan non konvensional yang memiliki kelebihan yaitu populasi yang berlimpah, kandungan nutrisi yang cukup tinggi, mudah didapatkan dan tidak perlu biaya yang tinggi untuk memperolehnya.

Dilihat dari nutrienya, eceng gondok dan daun apu mempunyai kandungan nutrisi yang cukup tinggi bagi kebutuhan ternak. Hasil analisis kandungan nutrisi daun apu yang bersumber dari sawah, menunjukkan bahwa daun apu mengandung protein kasar sebesar 14,00%; serat kasar 19,71%; lemak kasar 1,54%; abu 19,70% dan kandungan energi termetabolis 1444,47 kkal/kg bahan (Sumaryono, 2003). Radjiman *et al.* (1999) menyatakan bahwa kandungan nutrisi eceng gondok yaitu protein kasar sebesar 13%, lemak kasar 1%, serat kasar 21,30% dan energi termetabolis 2.096,92 kkal/kg. Nutrien yang terkandung pada eceng gondok dan daun apu menjadi indikasi bahwa pakan non konvensional sangat berpotensi digunakan sebagai pakan alternatif.

Walaupun pakan non konvensional memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi sebagai pakan alternatif, namun pemanfaatan pakan non konvensional sebagai pakan alternatif mempunyai berbagai keterbatasan salah satunya adalah tingkat pencernaan yang rendah akibat tingginya kandungan lignoselulosa yang mengakibatkan kandungan nutrisi tidak dapat dimanfaatkan secara optimal (Krause *et al.*, 2003). Lignoselulosa merupakan komponen utama dinding sel tanaman yang sulit untuk didegradasi (Howard *et al.*, 2003). Lignoselulosa pada tanaman terdiri dari senyawa lignin, selulosa dan hemiselulosa yang saling berikatan (Howard *et al.*, 2003; Perez *et al.*, 2002).

Pakan non konvensional dan konvensional umumnya kaya lignoselulosa akibat waktu panen yang melewati fase kedewasaan sehingga telah mengalami kristalisasi dan pengerasan fibril selulosa oleh lignin. Howard *et al.* (2003) mengungkapkan jerami padi

mengandung 18% lignin, 32,1% selulosa dan 24% hemiselulosa, tongkol jagung mengandung 15% lignin, 45% selulosa dan 35% hemiselulosa, sedangkan Ahmed *et al.* (2012) melaporkan bahwa eceng gondok mempunyai kandungan serat kasar yang tinggi dengan komposisi 60% selulosa, 8% hemiselulosa dan 17% lignin. Semakin tinggi komponen lignoselulosa, pada umumnya degradasi pakan akan semakin sulit sehingga ketersediaan nutrisi akan semakin rendah (Perez *et al.*, 2002). Senyawa penyusun lignoselulosa sangat sulit ditemukan secara murni di alam, melainkan saling berikatan (Perez *et al.*, 2002), sehingga perlu senyawa murni yang bisa mencerminkan senyawa lignoselulosa tersebut. Senyawa murni yang mencerminkan komponen penyusun lignoselulosa yaitu Carboxy Methyl Cellulose (CMC) (mencerminkan selulosa), asam tanat (mencerminkan lignin), dan xilan (mencerminkan hemiselulosa) karena diduga mempunyai struktur kimia yang hampir sama. Senyawa lignoselulosa dapat didegradasi secara sempurna oleh aktivitas sinergis kompleks enzim *lignoselulase* yang dihasilkan mikroba tertentu, antara lain bakteri lignoselulolitik (Sarkar *et al.*, 2011).

Bakteri lignoselulolitik merupakan bakteri yang mampu mendegradasi lignoselulosa (bakteri pendegradasi lignin, selulosa dan/atau hemiselulosa). Bakteri ini mampu menghasilkan kompleks enzim *lignoselulase* yang terdiri dari enzim *lignase*, enzim *selulase*, dan atau enzim *hemiselulase*. Di alam, bakteri lignoselulolitik banyak terdapat pada lahan pertanian, tanah gambut, saluran pencernaan ruminansia, sel tubuh maupun saluran pencernaan rayap, saluran pencernaan hewan invertebrata dan berbagai sumber bakteri lainnya (Mudita *et al.*, 2009; Purwadaria *et al.*, 2003<sup>ab</sup>; Sarkar *et al.*, 2011; Watanabe *et al.*, 1998).

Cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) merupakan salah satu hewan invertebrata yang mampu mendegradasi berbagai bahan organik dan mempunyai peranan penting dalam proses dekomposisi bahan organik tanah. Hasil penelitian Juliartawan (“*Unpublished*”) telah menunjukkan bahwa dari cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) berhasil diisolasi bakteri lignoselulolitik, bakteri lignolitik, bakteri selulolitik dan bakteri xylanolitik. Palungkun (2010) melaporkan bahwa dari berbagai hasil penelitian diperoleh data bahwa cacing tanah mengandung *peroksidase*, *katalase*, *ligase*, dan *selulase*. Keberadaan enzim yang dihasilkan oleh bakteri pada saluran pencernaan cacing tanah diharapkan mampu mendegradasi bahan pakan yang mengandung senyawa lignoselulosa. Hal ini sejalan dengan Pathma dan Sakthivel (2012) menyatakan bahwa cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) mampu mendegradasi senyawa antinutrisi dan lignoselulosa. Berbagai hasil

penelitian telah melaporkan bahwa tingkat degradasi senyawa lignoselulosa dari bahan pakan akan menentukan ketersediaan jumlah nutrisi bagi ternak (Mudita *et al.*, 2009; Wibawa *et al.*, 2009-2011; Dewi *et al.*, 2014). Berdasarkan hal tersebut evaluasi kemampuan degradasi isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dilakukan untuk menggali potensinya sebagai sumber isolat dalam formulasi konsorsium bakteri lignoselulolitik dalam optimalisasi pemanfaatan pakan non konvensional yang mengandung lignoselulosa sebagai pakan alternatif. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan degradasi dari keempat isolat bakteri lignoselolitik asal cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap berbagai substrat lignoselulosa.

## MATERI DAN METODE

### Materi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu (1) Isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah (*lumbricus rubellus*) yang diperoleh dari 4 kode stok isolat murni bakteri lignoselulolitik yang merupakan hasil penelitian Mudita (“*Unpublished*”) (didasarkan pada uji morfologis pengecatan gram). (2) Medium yang digunakan untuk menumbuhkan stok isolat bakteri lignoselulolitik, yaitu medium cair yang dibuat menggunakan 2,98 gram *Thioglicollate* + 0,5 gram substrat lignoselulosa yang terdiri dari substrat CMC (0,17 gram), substrat xylan (0,17 gram), substrat asam tanat (0,17 gram), dan ditambahkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 ml. (3) Medium yang digunakan untuk uji kemampuan degradasi isolat lignoselulolitik yaitu medium padat terdiri atas 2 jenis substrat yaitu substart lignoselulolsa murni (CMC, xylan, asam tanat) dan substrat Gulma tanaman (eceng gondok, dan daun apu) yang menggunakan 2,98 gram Thioglicollat + 1 gram substrat uji (CMC, xylan, asam tanat, eceng gondok, dan daun apu), 2 gram agar, dan ditambahkan aquades hingga volume 100 ml. (4) Peralatan penunjang yang digunakan pada penelitian ini meliputi : paper disc 60 mm, inkubator 39°C, mikropipet, pengaduk magnetik, *autoclaf*, pipet otomatis, api bunsen, fortex, sentrifuse, kamera, jangka sorong, lemari pendingin, timbangan elektrik, tabung reaksi, gelas ukur, kapas, gelas beaker, Erlenmeyer, cawan petri, dan alat tulis

### Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Denpasar dari 25 Mei hingga 28 Juni 2015 dengan

menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat (4) perlakuan dan tiga (3) ulangan. Perlakuan pada penelitian ini didasarkan pada jenis isolat bakteri lignoselulolitik yang digunakan dengan kode isolat EB<sub>1</sub>LC, EB<sub>2</sub>LC, EB<sub>3</sub>LC, dan EB<sub>4</sub>LC (isolat bakteri belum teridentifikasi).

#### **Pembuatan medium pertumbuhan isolat bakteri lignoselulolitik**

Medium yang digunakan untuk menumbuhkan stok isolat bakteri lignoselulolitik, yaitu medium cair lignoselulosa murni. Setiap 100 ml medium cair lignoselulosa dibuat menggunakan 2,98 gram *Thioglicollate* + 0,5 gram substrat lignoselulosa yang terdiri dari substrat CMC (0,17 gram), substrat Xylan (0,17 gram), substrat asam tanat (0,17 gram), dan ditambahkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 ml. Medium cair lignoselulosa murni yang baru dibuat selanjutnya dihomogenkan dengan cara di steril menggunakan vortex pada suhu 100 °C selama ±15 menit kemudian disterilisasi menggunakan *autoclaf* selama 15 menit pada suhu 121 °C. Setelah disterilisasi, kemudian medium cair didiamkan untuk menurunkan suhunya dan siap dimasukkan kedalam tabung reaksi sebagai tempat pertumbuhan isolat bakteri lignoselulolitik.

#### **Pembuatan medium uji kemampuan degradasi isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah**

Medium yang digunakan untuk uji kemampuan degradasi isolat lignoselulolitik asal cacing tanah yaitu medium padat yang terdiri atas 2 jenis substrat yaitu substart lignoselulosa murni (asam tanat, CMC, dan xylan) dan substrat Gulma tanaman (eceng gondok dan daun apu). Medium uji ini dibuat menggunakan 2,98 gram Thioglicollat + 1 gram substrat uji (asam tanat, CMC, xylan, eceng gondok, dan daun apu), 2 gram agar, dan ditambahkan aquades hingga volume 100 ml. Medium uji yang baru dibuat selanjutnya dihomogenkan dengan cara di steril menggunakan vortex pada suhu 100 °C selama ±15 menit. Medium yang sudah dihomogenkan selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclaf* selama 15 menit pada suhu 121 °C. Setelah disterilisasi, kemudian medium siap dituangkan pada cawan petri untuk uji kemampuan degradasi.

#### **Evaluasi uji kemampuan degradasi substrat dari isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah**

Pelaksanaan uji degradasi substrat dilakukan dengan cara menginokulasikan 15µl kultur isolat bakteri uji dalam paper disc 60 mm yang diletakkan diatas medium padat substrat uji pada cawan petri, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator suhu 39 °C selama 24

jam. Pengukuran diameter zona bening menggunakan jangka sorong, dimana dilakukan pengukuran pada 3 sisi zona bening yang terbentuk pada substrat uji.

### Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan bantuan program SPSS 16.0 dan apabila pada pengujian terdapat hasil berbeda nyata ( $P \leq 0,05$ ), maka analisis dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncans (Hartono, 2008).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi kemampuan isolat bakteri uji dalam mendegradasi senyawa lignoselulosa didasarkan dari diameter zona bening yang dihasilkan pada masing-masing substrat murni (Asam Tanat, CMC, Xylan) dan substrat alami (Eceng Gondok dan Daun Apu). Hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri yang digunakan mempunyai kemampuan degradasi yang berbeda terhadap masing-masing substrat uji baik itu substrat murni maupun substrat dari Gulma tanaman yang didasarkan dari diameter zona bening yang dihasilkan (Tabel 3.1). Hal ini menjadi indikasi bahwa semua isolat bakteri lignoselulolitik memiliki kemampuan mendegradasi semua substrat uji lignoselulosa (substrat murni dan substrat alami) yang mencerminkan isolat tersebut mampu menghasilkan enzim *lignoselulase* (*lignase*, *selulase* dan *xilanase*).

Tabel 3.1. Kemampuan degradasi dari isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap berbagai jenis substrat

Kode Isolat	Diameter Zona Bening dari 15 $\mu$ l Kultur Isolat Bakteri pada Berbagai Substrat (cm)				
	Asam Tanat	CMC	Xylan	E. Gondok	Daun Apu
EB <sub>1</sub> LC <sup>1)</sup>	0,798 <sup>a 2)</sup>	0,928 <sup>b</sup>	1,342 <sup>a</sup>	1,534 <sup>a</sup>	1,532 <sup>b</sup>
EB <sub>2</sub> LC	0,774 <sup>a</sup>	0,944 <sup>ab</sup>	1,346 <sup>a</sup>	1,549 <sup>a</sup>	1,536 <sup>b</sup>
EB <sub>3</sub> LC	0,807 <sup>b</sup>	0,981 <sup>a</sup>	1,389 <sup>a</sup>	1,553 <sup>a</sup>	1,578 <sup>a</sup>
EB <sub>4</sub> LC	0,789 <sup>ab</sup>	0,932 <sup>b</sup>	1,335 <sup>a</sup>	1,548 <sup>a</sup>	1,529 <sup>b</sup>
SEM <sup>3)</sup>	0,006	0,014	0,019	0,011	0,012

Keterangan :

1) Kode Isolat

EB<sub>1</sub>LC = isolat bakteri Lignoselulolitik pada kode isolat EB<sub>1</sub>LC

EB<sub>2</sub>LC = isolat bakteri Lignoselulolitik pada kode isolat EB<sub>2</sub>LC

EB<sub>3</sub>LC = isolat bakteri Lignoselulolitik pada kode isolat EB<sub>3</sub>LC

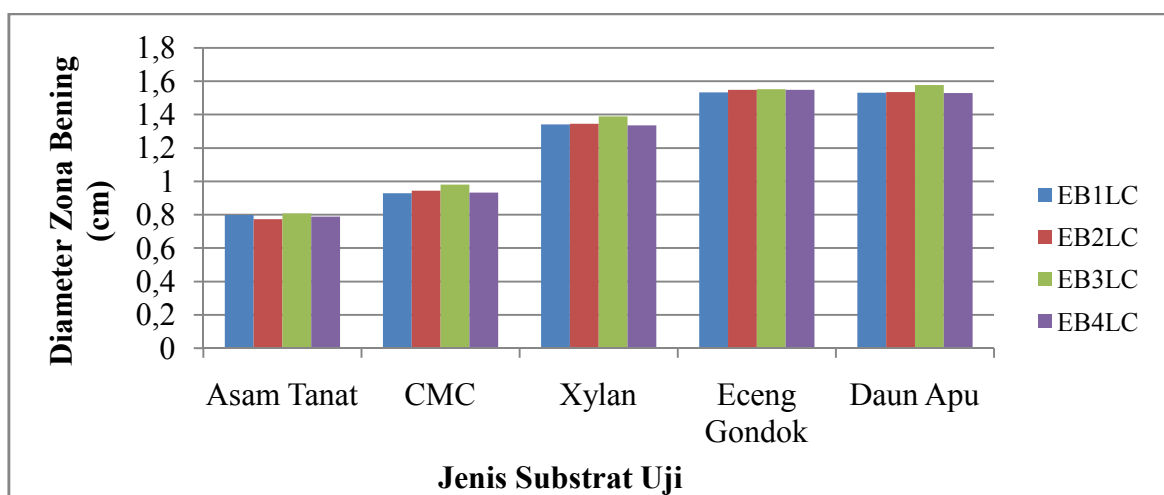
EB<sub>4</sub>LC = isolat bakteri Lignoselulolitik pada kode isolat EB<sub>4</sub>LC

2) Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ )

3) SEM = *Standard Error of The Treatment Means*

Asam tanat merupakan cerminan dari senyawa lignin murni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara kuantitatif diameter zona bening yang dihasilkan oleh isolat bakteri pada substrat asam tanat antara 0,774-807 cm. Isolat bakteri lignoselulolitik EB<sub>3</sub>LC secara kuantitatif menghasilkan zona bening yang lebih tinggi dan secara statistik berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap isolat EB<sub>2</sub>LC, ini artinya memiliki kemampuan degradasi substrat asam tanat yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat EB<sub>1</sub>LC, dan EB<sub>4</sub>LC. Hal ini diduga karena isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC mempunyai kemampuan yang relatif baik dalam memproduksi dan atau aktivitas enzim *lignase* yang dihasilkan isolat dalam mendegradasi senyawa lignin menjadi monomer/komponen penyusunnya. Isolat bakteri lignoselulolitik dengan kode EB<sub>2</sub>LC menghasilkan kemampuan degradasi yang paling rendah dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap isolat bakteri EB<sub>1</sub>LC dan EB<sub>3</sub>LC yang hanya mampu menghasilkan diameter 0,774 cm (Tabel 3.1).

Tinggi rendahnya nilai diameter zona bening yang dihasilkan isolat bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah mampu menghasilkan enzim *lignase* yang berbeda dalam proses mendegradasi senyawa lignin. Perbedaan yang dihasilkan oleh tiap isolat bakteri asal cacing tanah diduga dipengaruhi oleh faktor genetik, namun dalam penelitian ini belum mengidentifikasi spesies tiap isolat. Sumardi *et al.* (2010) menyatakan bahwa faktor genetik mempengaruhi besarnya produksi enzim. Lebih lanjut dijelaskan bahwa gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda dan dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu.



Gambar 3.1. Kemampuan degradasi berbagai substrat oleh isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah

Pada umumnya, lignin sulit didegradasi diduga karena strukturnya yang kompleks dan heterogen yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa dalam jaringan tanaman. Hal ini sejalan dengan Howard *et al.* (2003) maupun Perez *et al.* (2002) yang mengungkapkan bahwa lignin merupakan faktor pembatas utama degradasi lignoselulosa suatu bahan organik. Lebih lanjut dijelaskan bahwa lignin juga membentuk ikatan yang kuat dengan polisakarida yang melindungi polisakarida dari degradasi mikroba dan membentuk struktur lignoselulosa. Keberadaan lignin akan menghambat proses hidrolisis selulosa oleh enzim *selulase* karena lignin merupakan molekul kompleks yang terdiri atas unit-unit fenilpropana yang umumnya sulit didegradasi (Tahezadeh dan Karimi, 2008).

Substrat *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk *amorphous*, sehingga aktivitas enzim *selulase* pada substrat CMC merupakan aktivitas enzim *endo-1,4- $\beta$ -glukanase* (Meryandini *et al.*, 2009). Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman dan hampir tidak pernah ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan berikatan dengan bahan lain, yaitu lignin dan hemiselulosa membentuk suatu lignoselulosa (Lynd *et al.*, 2002). Terbentuknya zona bening pada substrat CMC menjadi indikasi bahwa isolat bakteri lignoselulolitik mampu mensintesis enzim *selulase* (*endo-glukanase*) yang mendegradasi senyawa selulosa menjadi monomer/komponen penyusunnya. Zona bening pada daerah sekitar koloni bakteri terbentuk karena adanya aktivitas hidrolisis selulosa oleh enzim *selulase* (*endo-glukanase*) yang dihasilkan oleh isolat bakteri selulolitik (Kasana *et al.*, 2008). Kemampuan tiap isolat bakteri dalam menghidrolisis selulosa yang terdapat pada media sangat dipengaruhi oleh jumlah enzim yang disekresikan, kemampuan aktivitas enzimnya serta keberadaan enzim pendegradasi produk hasil kerja enzim sebelumnya. Adanya sekresi enzim *endo- $\beta$ -1,4-glukanase* (*CMC-ase*) yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik dapat memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida pada media CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) (Teather dan Wood, 1982 dalam Lema, 2008).

Tabel 3.1 tampak bahwa secara kuantitatif diameter zona bening yang mampu dihasilkan oleh isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah pada substrat CMC (senyawa selulosa murni) antara 0,928-0,981 cm. Isolat bakteri lignoselulolitik dengan kode EB<sub>3</sub>LC secara kuantitatif menghasilkan zona bening yang lebih tinggi yaitu 0,981 cm dan secara statistik menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap EB<sub>1</sub>LC dan EB<sub>4</sub>LC, namun tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap EB<sub>2</sub>LC. Hasil ini menunjukkan bahwa EB<sub>3</sub>LC memiliki kemampuan degradasi substrat CMC yang tinggi dibandingkan dengan isolat



bakteri lainnya. Hal ini diduga karena isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC mempunyai kemampuan yang relatif baik dalam memproduksi dan atau aktivitas enzim yang dihasilkan isolat dalam mendegradasi senyawa selulosa menjadi monomer/komponen penyusunnya. Selain itu, Perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan oleh tiap isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah diduga dipengaruhi oleh faktor genetik, namun dalam penelitian ini belum mengidentifikasi spesies tiap isolat. Hal ini sejalan dengan Sumardi *et al.* (2010) menyatakan bahwa faktor genetik mempengaruhi besarnya produksi enzim. Lebih lanjut dijelaskan bahwa gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda dan dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu. Frost dan Moss, (1987 dalam Azizah, 2013), mengungkapkan *selulase* sebagai enzim ekstraseluler pada bakteri umumnya berfungsi memproduksi nutrisi dari polimer-polimer yang terdapat pada substrat yang mengandung selulosa. Jenis bakteri tertentu akan menghasilkan partikel yang disebut selulosom. Partikel inilah akan terdisintegrasi menjadi enzim-enzim, yang secara sinergis mendegradasi selulosa. Lebih lanjut dijelaskan bahwa umumnya isolat bakteri tidak mampu mensintesis ketiga jenis kompleks enzim *selulase* (*CMC-ase*, *eksoglukanase*, dan *glukosidase*) yang digunakan dalam pemutusan ikatan-ikatan penyusun senyawa selulosa. Hal ini akan mempengaruhi kemampuan tiap isolat bakteri uji dalam mendegradasi selulosa khususnya mikrofibril penyusun serat selulosa (Belitz *et al.*, 2008).

Gambar 3.1 tampak bahwa secara kuantitatif diameter zona bening yang dihasilkan oleh bakteri lignoselulolitik pada substrat xylan (hemiselulosa murni) adalah antara 1,335-1389 cm. Isolat bakteri lignoselulolitik yang mampu menghasilkan diameter zona bening tertinggi secara kuantitatif yaitu isolat bakteri dengan kode EB<sub>3</sub>LC (1,389 cm) dan secara statistik berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap isolat lainnya (EB<sub>1</sub>LC, EB<sub>2</sub>LC, dan EB<sub>3</sub>LC). Hasil ini menjadi indikasi bahwa semua isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah mampu memproduksi jumlah enzim *xilanase* dan mempunyai aktivitas enzim yang hampir sama (berbeda tidak nyata) dalam mendegradasi xylanosa menjadi monomer/komponen penyusunnya. Jika dilihat secara kuantitatif, semua isolat mampu menghasilkan diameter zona bening yang berbeda. Perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan oleh tiap isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah diduga dipengaruhi oleh faktor genetik, namun dalam penelitian ini belum mengidentifikasi spesies tiap isolat. Sumardi *et al.* (2010) menyatakan bahwa faktor genetik mempengaruhi besarnya produksi enzim. Lebih lanjut dijelaskan bahwa gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga

masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda dan dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu. Selain itu, ini disebabkan karena pada prinsipnya senyawa xylanosa/hemiselulosa jauh lebih mudah terdegradasi. Perez *et al.* (2002) menyatakan bahwa hemiselulosa relatif mudah didegradasi menjadi monomer penyusunnya yaitu glukosa, mannanosa, galaktosa, xilosa, arabinosa dan 4-O metil glukuronik, D-galacturonic, dan D-glukuronik.

Pada substrat eceng gondok, hasil penelitian menunjukkan bahwa secara kuantitatif diameter zona bening yang dihasilkan oleh isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah adalah sebesar 1,534-1,553 cm. Isolat bakteri lignoselulolitik dengan kode EB<sub>3</sub>LC secara kuantitatif menghasilkan zona bening yang tinggi yaitu 1,553 cm, namun secara statistik menunjukkan berbeda tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap kode isolat bakteri lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa kode isolat EB<sub>3</sub>LC memiliki kemampuan degradasi substrat Eceng Gondok yang tinggi, disusul oleh isolat dengan kode EB<sub>2</sub>LC (1,549 cm), dan EB<sub>4</sub>LC (1,548 cm). Sedangkan kemampuan degradasi yang paling rendah terhadap substrat Eceng Gondok ditunjukkan oleh isolat bakteri lignoselulolitik dengan kode EB<sub>1</sub>LC yang menghasilkan diameter zona bening 1,534 cm (Tabel 3.1). Hal ini menjadi indikasi bahwa semua isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah mampu memproduksi jumlah enzim *lignoselulase* (*selulase, xilanase dan lignase*) dan mempunyai aktivitas enzim yang hampir sama (berbeda tidak nyata) dalam mendegradasi senyawa lignoselulosa yang terkandung pada eceng gondok menjadi monomer atau komponen penyusunnya.

Keempat isolat yang digunakan secara kuantitatif menunjukkan nilai yang berbeda. Perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan oleh tiap isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah diduga dipengaruhi oleh faktor genetik, namun dalam penelitian ini belum mengidentifikasi spesies tiap isolat. Sumardi *et al.* (2010) menyatakan bahwa faktor genetik mempengaruhi besarnya produksi enzim. Lebih lanjut dijelaskan bahwa gen setiap mikroorganisme berbeda-beda sehingga masing-masing mikroorganisme memiliki sifat yang berbeda dan dari tiap gen memiliki sifat yang spesifik untuk mengkode enzim-enzim tertentu. Selain itu, hasil yang tinggi disebabkan oleh komponen penyusun pada Gulma tanaman eceng gondok lebih banyak mengandung senyawa yang mudah didegradasi seperti senyawa selulosa dibandingkan senyawa lignin. Ahmed *et al.* (2012) Eceng gondok memiliki serat kasar yang tinggi dengan komposisi yakni 60% selulosa, 8% hemiselulosa dan 17% lignin. Hal ini juga didukung oleh Soewardi dan Utomo (1975 disitasi Bidura, 2007) mengemukakan bahwa eceng gondok mengandung serat kasar sebesar 37,10%.

Terbentuknya zona bening pada substrat eceng gondok mengindikasikan bahwa kandungan lignoselulosa (lignin, selulosa, dan hemiselulosa) yang ada pada eceng gondok mampu didegradasi dengan baik. Hal ini diduga karena isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah mampu menghasilkan enzim *lignoselulase* (*xilanase*, *selulase*, dan *atau lignase*) dalam mendegradasi senyawa lignoselulosa menjadi komponen penyusunnya.

Terhadap substrat daun apu, isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah secara kuantitatif mampu menghasilkan diameter zona bening 1,529-1,578 cm. Kemampuan degradasi isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah secara kuantitatif memiliki nilai rata-rata yang lebih besar dibandingkan substrat eceng gondok. Hal ini dibuktikan dari diameter zona bening yang dihasilkan oleh substrat daun apu dibandingkan diameter zona bening yang dihasilkan oleh substrat eceng gondok yaitu antara 1,534-1,553 cm berbanding antara 1,529-1,578 cm. Isolat yang menghasilkan kemampuan degradasi yang tertinggi (secara kuantitatif) yaitu isolat bakteri EB<sub>3</sub>LC dengan diameter zona bening 0,978 cm dan secara statistik menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap kode isolat lainnya. Perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan oleh tiap isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah diduga dipengaruhi oleh faktor genetik, namun dalam penelitian ini belum mengidentifikasi spesies tiap isolat. Sumardi *et al.* (2010) menyatakan bahwa faktor genetik mempengaruhi besarnya produksi enzim.

Kemampuan degradasi substrat oleh isolat bakteri lignoselulolitik dari cacing tanah yang tinggi dibandingkan dengan substrat lainnya dikarenakan daun apu mempunyai kandungan serat kasar yang relatif rendah, sehingga diduga daun apu mempunyai komposisi senyawa lignoselulosa (selulosa, hemiselulosa dan lignin) yang relatif lebih rendah dengan eceng gondok. Berat kering daun apu mengandung BETN 37,0%, protein kasar 19,5%, kadar abu 25,6%, lemak kasar 1,3% dan mengandung serat kasar 11,7% (Diler *et al.* 2007). Serat kasar yang rendah menjadikan degradasi substrat oleh isolat bakteri menjadi lebih mudah untuk menghasilkan diameter zona bening yang tinggi. Terbentuknya zona bening pada substrat daun apu mengindikasikan bahwa kandungan lignoselulosa (lignin, selulosa, dan hemiselulosa) yang ada pada daun apu mampu didegradasi dengan baik. Hal ini menjadi indikasi bahwa isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah mampu menghasilkan enzim *lignoselulase* (*xilanase*, *selulase*, dan *atau lignase*) dalam mendegradasi senyawa lignoselulosa menjadi komponen penyusunnya.

Kemampuan degradasi pada semua substrat oleh bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah menunjukkan bahwa substrat yang menghasilkan nilai paling rendah yaitu substrat

asam tanat yang merupakan cerminan dari senyawa lignin murni. Nilai yang rendah dikarenakan lignin merupakan lapisan dinding sel bagian luar yang sulit didegradasi. Howard *et al.* (2003) maupun Perez *et al.* (2002) mengungkapkan bahwa lignin merupakan faktor pembatas utama suatu bahan organik yang sulit untuk didegradasi.

Nilai rendah yang dihasilkan substrat sintetis (asam tanat, CMC, xilan) jika dibandingkan dengan substrat alami (eceng gondok, daun apu) kemungkinan dapat disebabkan oleh senyawa yang terkandung pada substrat. Substrat sintetis hanya mengandung senyawa yang sejenis, namun substrat alami mengandung senyawa kompleks lignoselulosa serta senyawa lain yang ikut terdegradasi oleh enzim yang dihasilkan bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, maka dapat ditarik simpulan yaitu (1) Keempat Isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah mempunyai kemampuan degradasi pada substrat murni (asam tanat, CMC, xylan) dan substrat alami (eceng gondok, dan daun apu). (2) Isolat bakteri yang secara kuantitatif mempunyai kemampuan degradasi tertinggi yaitu isolat bakteri dengan kode isolat EB<sub>3</sub>LC dibandingkan dengan Isolat lainnya pada substrat daun apu.

### **Saran**

Pada penelitian ini, hasil yang diperoleh yaitu kemampuan degradasi substrat uji (Asam Tanat, CMC, Eceng Gondok, dan Daun Apu), sehingga diperlukan uji lanjut untuk mengetahui sejauh mana isolat bakteri lignoselulolitik asal cacing tanah dapat diaplikasikan sebagai stater dalam pakan fermentasi.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada Dekan Fakultas Peternakan Universitas Udayana bapak Dr. Ir. Ida Bagus Gaga Partama, MS atas pelayanan administrasi dan fasilitas pendidikan yang diberikan kepada penulis selama menjalani perkuliahan. Kepada Kepala Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Udayana, Bapak Udin Saransi yang telah mengarahkan dan memberikan petunjuk pada saat penelitian, dan rekan-rekan penelitian saya yakni I

Komang Geria Suardita, I Komang Juliartawan, I Kadek Dodi Kusumajaya, Ni Luh Dewi Antari, Ni Wayan Riandani, dan Marna Rohani Banurea atas kerjasamanya sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar dan dapat diselesaikan dengan tepat waktu.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A. F., Moahmed A, Abdel Naby. 2012. Pretreatment and Enzymic Saccharification of Water Hyacinth Cellulose. *Carbohydrate Polymers*.
- Azizah, Siti Nur. 2013. Skrining Bakteri Selulolitik Asal Vermicomposting Tanda Kosong Kelapa Sawit. Skripsi. Universitas Jember. Jember.
- Belitz, H. D., Groth, W. dan Schieberle, P. 2008. *Food Chemistry*, 4th ed, Springer Verlag. Berlin.
- Bidura, I G. N. G. 2007. *Limbah. Pakan Ternak Aplikatif dan Aplikasi Teknologi*. Udayana University Press. Denpasar.
- Dewi, G. A. M. K., I N. S. Utama, I W. Wijana. 2014. Isolasi dan Pemanfaatan Probiotik Bakteri Selulolitik Asal Rayap untuk Produksi Biosuplemen Berbasis Limbah Rumen dalam Optimalisasi Peternakan Itik Bali Rakyat. Fakultas Peternakan. Universitas Udayana
- Dewi, G. A. M. K., I W. Wijana, N W. Siti, dan I M. Mudita. 2014. Pengaruh Penggunaan Limbah Dan Gulma Tanaman Pangan Melalui Produksi Biosuplemen Berprobiotik Berbasis Limbah Isi Rumen Terhadap Ternak Itik Bali. Fakultas Peternakan Universitas Udayana.
- Diler I., Tekinay A. A., Guroy D., Guroy B. K., Soyuturk M. 2007. Effects of *ulva rigida* on the growth, feed intake and body composition of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Biological Sciences* 7:305-308.
- Hartono. 2008. *SPSS 16.0 Analisis Data Statistika dan Penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Howard, R. L., E. Abotsi, J. V. Rensburg, and Howards. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of biotechnology* 2:6002-619.
- Kasana, S., Dhar, D. dan Gulati, 2008. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using gram's iodine, *Curr Microbiol.* vol. 57, hal: 503-507.
- Krause, D. O., Denman S. E., Mackie R. I., Morrison, M., Rae, A. L., Attwood, G. T., and MacSweeney, S. C. 2003. Opportunities to improve fiber degradation in rumen: microbiology, ecology, and genomics. *FEMS Microbiology Reviews* 27:663-696.
- Lema, A.T.H. 2008. Viabilitas Isolat-Isolat Bakteri Selulolitik Pada Bahan Pembawa Gambut. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lynd L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl WH and I.S. Pretorius. 2002. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66(3):506-577.
- Meryandini, A., Wahyu W., Besty M., Titi C.S., Nisa R., dan Hasrul S. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *makara, sains*, Vol. 13, No. 1, 33-38.

- Mudita, I M., A. A. P. P. Wibawa, dan I W. Wirawan. 2014a. Isolasi dan Pemanfaatan Konsorsium Bakteri Lignoselulolitik Kolon Sapi Bali dan Sampah TPA Sebagai Inokulan Biosuplemen Berprobiotik Peternakan Sapi Bali Berbasis Limbah Pertanian. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahun I. Universitas Udayana, Denpasar.
- Mudita, I M., I G. L. O. Cakra., A. A. P. P. Wibawa., dan N. W. Siti. 2009. Penggunaan Cairan Rumen Sebagai Bahan Bioinokulan Plus Alternatif serta Pemanfaatannya dalam Optimalisasi Pengembangan Peternakan Berbasis Limbah yang Berwawasan Lingkungan. Laporan Penelitian Hibah Unggulan Udayana, Universitas Udayana, Denpasar.
- Palungkun, R. 2010. Usaha Ternak Cacing tanah. Swadaya: Jakarta.
- Pathma, J. and N. Sakthivel. 2012. Microbial diversity of vermicompost bacteria that exhibit useful agricultural traits and waste management potential. Springer Plus. Vol. 1(26);1-19
- Perez, J., J. Munoz-Dorado, T. De la Rubia, and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatment of cellulose, hemicellulose and lignin; an overview. Int. Microbial, 5: 53-56
- Purwadaria, T., Pesta A. Marbun, Arnold P. Sinurat dan P. Ketaren. 2003a. Perbandingan aktivitas enzim *selulase* dari bakteri dan kapang hasil isolasi dari rayap. JITV Vol. 8 No. 4 Th 2003:213-219
- Purwadaria, T., T., Pius P. Ketaren, Arnold P. Sinurat, and Irawan Sutikno. 2003b. Identification and evaluation of fiber hydrolytic enzymes in the extract of termites (*glyptotermes montanus*) for poultry feed application. Indonesian Journal of Agricultural Sciences 4(2) 2003; 40-47
- Russell J. B. and D. B. Wilson. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH. Journal of Dairy Science Vol. 79, No. 8, 199
- Sarkar, P., M. Meghvanshi and rajni Singh. 2011. Microbial consortium; a new approach in effective degradation of organic kitchen waste. International Journal of Environmental Science and development. Vol. 2 No. 3; 170-174
- Sumardi, Christina Nugroho Ekowati dan Dwi Haryani. 2010. Isolasi bacillus penghasil *selulase* dari saluran pencernaan ayam kampung. Jurusan Biologi FMIPA Unila. J. Sains MIPA, Vol. 16, No. 1, Hal.: 62-68.
- Taherzadeh, M.J. and K. Karimi. (2008). Pretreatment of lignocellulosic waste to improve ethanol and biogas production: a review. Int. J. Mol. Sci., 9, 1621 - 1651.
- Watanabe H, Noda H, Tokuda G, Lo N. 1998. A cellulase gene of termite origin. Nature 394: 330-331
- Wibawa, A.A. A. P. P., I M. Mudita, I W. Wirawan. I G. L. O. Cakra. 2009-2011. Aplikasi Teknologi Suplementasi dan Biofermentasi dalam Wafer Ransum Komplit Berbasis Limbah Inkonsvensional dalam Pengembangan Peternakan Kambing Sustainable dengan Emisi Polutan Rendah. Laporan Penelitian Hibah Bersaing I, II, III. Universitas Udayana, Denpasar.