

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Isolat yang berasal dari Tandan Kosong Kelapa Sawit dan Pelepah Sawit

Isolat Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) yang telah diisolasi berjumlah 12 isolat, dan terdapat 4 isolat dari Pelepah Kelapa Sawit (PKS) pengamatan isolat murni dilakukan berdasarkan tampak kondosi luar isolat, kemudian isolat yang sudah diperkirakan murni dilakukan pewarnaan gram untuk melihat karakteristik morfologi isolat.

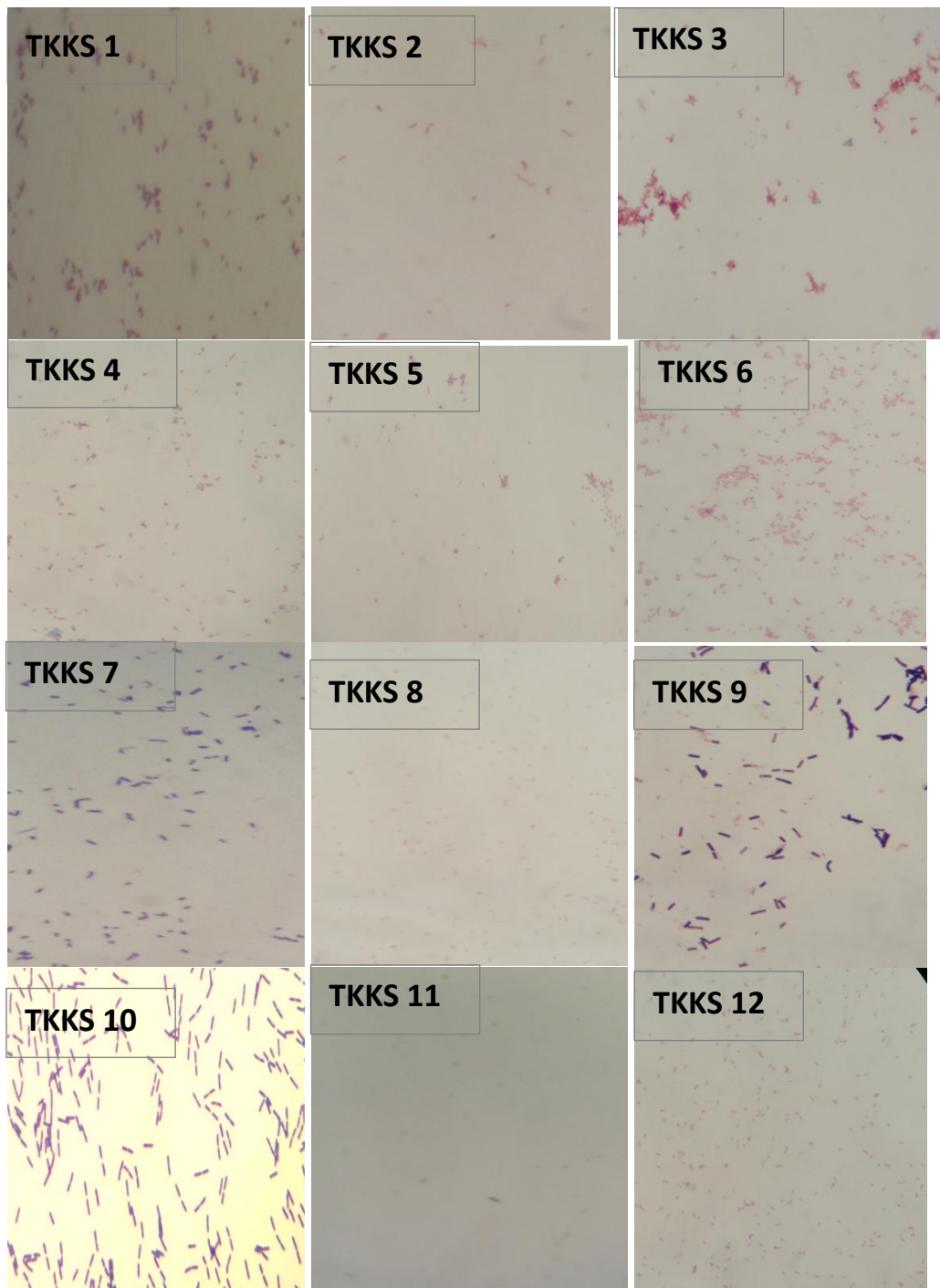
Tabel 1. Data hasil pewarnaan gram bakteri TKKS

Isolat	Gram (+/-)	Bentuk koloni
TKKS 1	+	Diplococcus
TKKS 2	-	Coccus
TKKS 3	-	Coccus
TKKS 4	-	Basil
TKKS 5	-	Basil
TKKS 6	-	coccus
TKKS 7	+	Diplobasil
TKKS 8	-	Coccus
TKKS 9	+	Basil
TKKS 10	+	Diplobasil
TKKS 11	+	Basil
TKKS 12	-	Basil

Keterangan:

TKKS = Tandan kosong kelapa sawit

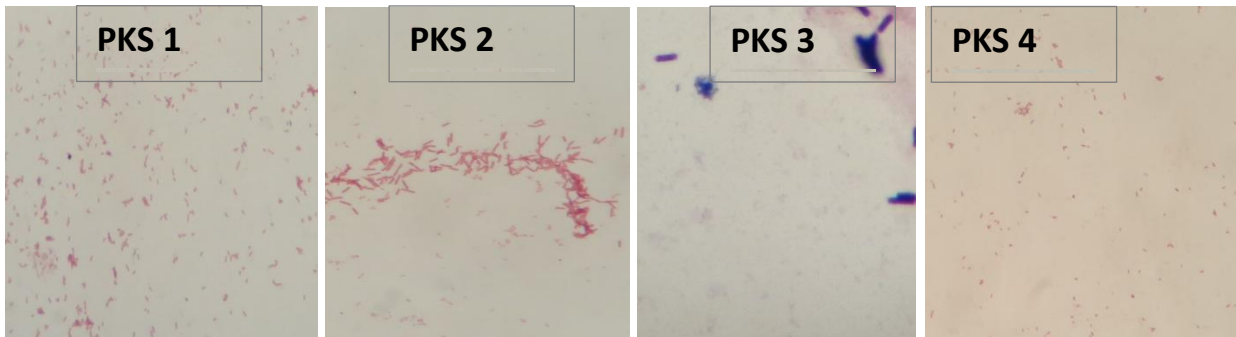
Tabel 1 menunjukkan hasil isolat yang diperoleh dari tandan kosong kelapa sawit dominan bakteri Gram negatif yaitu terdapat 7 Gram negatif dan 5 Gram positif dan banyak berbentuk basil. Berikut gambar isolat yang telah murni setelah dilakukan pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Isolat bakteri TKKS

Tabel 2. Data hasil pewarnaan gram dan indeks selulolitik bakteri PKS

Isolat	Warna koloni	Bentuk koloni	Indeks Selulolitik
PKS 1	Merah	Diplobasil	1
PKS 2	Merah	Diplobasil	1
PKS 3	Ungu	Diplobasil	0.5
PKS 4	Merah	Basil	0.5



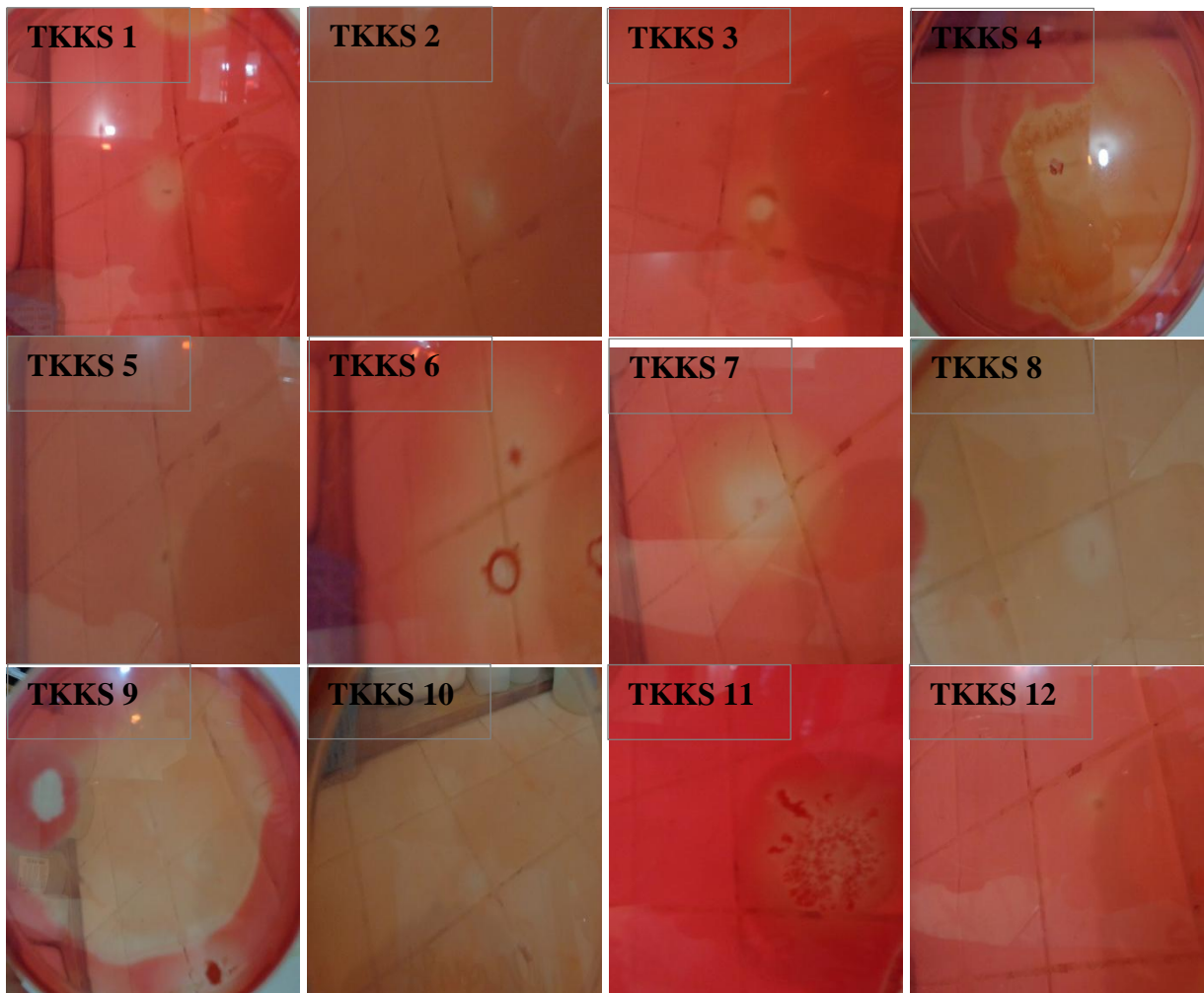
Gambar 2. Isolat bakteri PKS

Uji Kualitatif Selulolitik

Setelah dilakukan pemurnian dan pewarnaan gram, maka dilakukan uji kualitatif selulolitik pada isolat. Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan isolat untuk melihat tingkat aktivitas enzim selulase pada setiap isolat. Keaktifan enzim selulase diukur dengan menghitung nilai indeks selulolitik

Tabel 3. Data indeks selulolitik bakteri TKKS

Isolat	Indeks Selulolitik
TKKS 1	4
TKKS 2	-
TKKS 3	3
TKKS 4	0.04
TKKS 5	2.5
TKKS 6	0.2
TKKS 7	7
TKKS 8	2.33
TKKS 9	0.5
TKKS 10	2.33
TKKS 11	0.33
TKKS 12	0.5



Gambar 3. Zona bening bakteri TKKS

Tabel 4. Data indeks selulolitik bakteri PKS

Isolat	Indeks Selulolitik
PKS 1	1
PKS 2	1
PKS 3	0,5
PKS 4	0,5

Uji fermentasi karbohidrat (glukosa, maltose, sukrosa, dan manitol)

Isolat yang telah diuji kualitatif diambil 4 isolat tertinggi dari TKKS dan 3 isolat tertinggi dari PKS yang akan dilakukan uji selanjutnya. Hal ini dilakukan untuk melihat kemampuan isolat memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat atau tidak.

Tabel 5. Hasil uji fermentasi karbohidrat TKKS

Isolat	Uji glukosa	Uji maltosa	Uji sukrosa	Uji manitol
TKKS 1	+	+	+	+
TKKS 2	+	+	+	+
TKKS 3	+	+	+	+
TKKS 4	+	+	+	+
TKKS 5	+	+	+	+
TKKS 6	+	+	+	+
TKKS 7	+	+	+	+
TKKS 8	+	+	+	+
TKKS 9	+	+	+	+
TKKS 10	+	+	+	+
TKKS 11	+	+	+	+
TKKS 12	+	+	+	+

Pada uji fermentasi karbohidrat (glukosa, maltosa, sukrosa, manitol) dari semua isolat memperlihatkan positif dapat memfermentasi karbohidrat. Uji glukosa, maltosa, sukrosa, manitol bertujuan untuk menentukan kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi dan memfermentasi karbohidrat dengan menghasilkan asam dan gas. Pada uji glukosa, hasil uji positif ditandai oleh adanya asam dan gas. Adanya asam diperlihatkan oleh perubahan warna medium *phenol red dextone* (glukosa) menjadi kuning.

Tabel 6. Hasil uji fermentasi karbohidrat PKS

Isolat	Uji glukosa	Uji maltosa	Uji sukrosa	Uji manitol
TKKS 1	+	+	+	+
TKKS 2	+	+	+	+
TKKS 3	+	+	+	+
TKKS 4	+	+	+	+

Uji MR dan VP

Uji biokimia selanjutnya adalah uji MR dan VP, Uji MR bertujuan untuk menentukan kemampuan mikrob untuk mengoksidasi glukosa dengan menghasilkan asam sebagai produk akhir dan berkonsentrasi tinggi, sedangkan Uji VP bertujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam memproduksi hasil metabolisme glukosa yang tidak bersifat asam seperti aseton.

Tabel 7. Hasil uji MR-VP TKKS

Isolat	Uji MR	Uji VP
TKKS 1		+
TKKS 2		+
TKKS 3		+
TKKS 4		+
TKKS 5		+
TKKS 6		+
TKKS 7		+
TKKS 8		+
TKKS 9		+
TKKS 10		+
TKKS 11		+
TKKS 12		+

Tabel 8. Hasil uji MR-VP PKS

Isolat	Uji MR	Uji VP
TKKS 1		+
TKKS 2		+
TKKS 3		+
TKKS 4		+

Berdasarkan hasil pengamatan semua isolat, memperlihatkan reaksi positif terhadap uji *Voges-Proskauer*. Reaksi positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi merah mawar, sedangkan bila medium tetap berwarna kuning maka reaksi negatif.

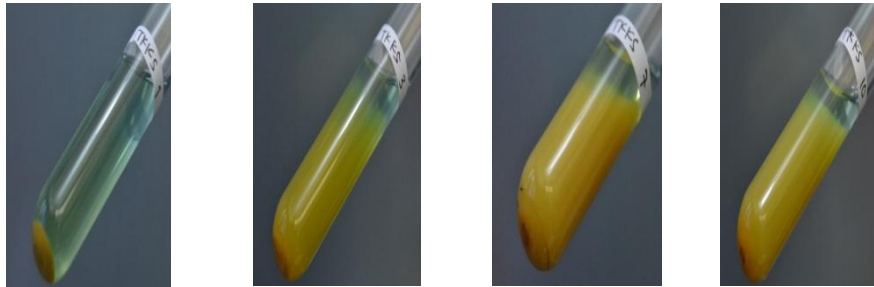
Uji Potensi Bakteri Selulolitik

Uji Gula Reduksi

Uji gula reduksi TKKS dilakukan pada 4 isolat yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi yaitu isolate 1, 3, 7 dan 10 sedangkan bakteri PKS yang diuji gula reduksi yaitu Isolat 1, 2, dan 3. Hal ini karena diharapkan isolat tersebut memiliki kemampuan mereduksi selulosa yang tinggi. Gula reduksi diamati secara kualitatif ditandai dengan adanya endapan merah bata. Jika endapan merah bata pada sampel pertama ada sedikit gula reduksi maka diberi tanda (+), jika sampel kedua lebih banyak gula reduksi dari sampel pertama diberi tanda (++), jika sampel ketiga lebih banyak dari sampel kedua maka diberi tanda (+++).

Tabel 9. Hasil Uji Gula Reduksi

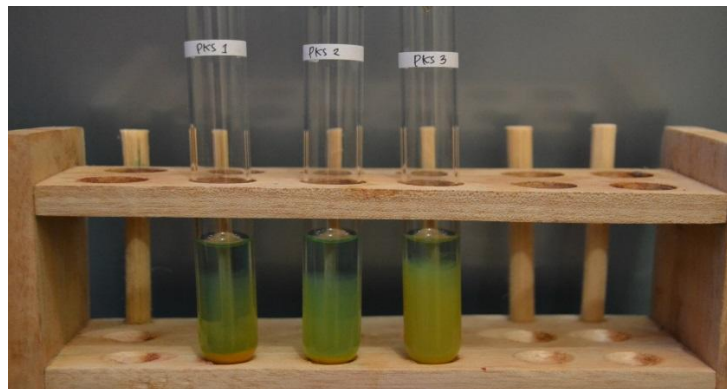
Isolat	Hasil Gula Reduksi
TKKS 1	+
TKKS 3	+
TKKS 7	++
TKKS 10	+



Gambar 4. Uji Gula reduksi bakteri TKKS

Tabel 10. Hasil Uji Gula Reduksi

Isolat	Hasil Gula Reduksi
PKS 1	+++
PKS 2	++
PKS 3	+



Gambar 5. Uji Gula reduksi bakteri PKS

Pengukuran Kekeruhan Bakteri

Pengukuran kekeruhan bakteri dilakukan untuk melihat peningkatan jumlah sel yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik pada media CMC yang diinkubasi selama 4 hari. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Kekeruhan bakteri berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mereduksi bakteri.

Tabel 11. Hasil Pengukuran Tingkat Kekeruhan Bakteri Selama 4 Hari

Isolat	Hari pertama	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
TKKS 1	1,099	1,346	1,359	1,418
TKKS 3	1,036	1,214	1,227	1,262
TKKS 7	1,022	1,248	1,290	1,332
TKKS 10	1,230	1,236	1,260	1,269

Hasil pengukuran tingkat kekeruhan menunjukkan bahwa pada isolate 1 populasi sel tertinggi terlihat pada hari ke-4,

Tabel 12. Hasil Pengukuran Tingkat Kekeruhan Bakteri Selama 4 Hari

Isolat	Hari pertama	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
PKS 1	0,807	1,150	1,189	1,205
PKS 2	1,112	1,421	1,459	1,486
PKS 3	1,067	1,450	1,465	1,488

Uji Anaerob

Tabel 13. Hasil uji Anaerob bakteri TKKS

Isolat	Keterangan
TKKS 1	Aerob
TKKS 2	Aerob
TKKS 3	Aerob
TKKS 4	Aerob
TKKS 5	Anaerob fakultatif
TKKS 6	Aerob
TKKS 7	Aerob
TKKS 8	Aerob
TKKS 9	Anaerob fakultatif
TKKS 10	Aerob
TKKS 11	Aerob
TKKS 12	Aerob

Pengamatan uji bakteri dinyatakan positif bersifat anaerob jika terdapat koloni bakteri yang tumbuh di dalam media dengan kondisi tanpa oksigen maka bakteri tersebut merupakan bakteri anaerob. Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa terdapat 10 isolat yang bersifat aerob dan 2 isolat yang bersifat anaerob fakultatif yang merupakan bakteri yang mampu hidup dalam kondisi terdapat oksigen dan juga dapat hidup jika pada kondisi tanpa oksigen.

Tabel 14. Hasil uji Anaerob bakteri PKS

Isolat	Keterangan
PKS 1	Aerob
PKS 2	Aerob
PKS 3	Aerob
PKS 4	Aerob

ISOLAT YANG BERASAL DARI SERASAH AKASIA

Pemurnian isolat serasah akasia yang telah diseleksi berjumlah 8 isolat, pengamatan isolat murni dilakukan berdasarkan tampak kondisi luar isolat, kemudian isolat yang sudah diperkirakan murni dilakukan pewarnaan gram untuk melihat karakter morfologi isolat. Berikut gambar isolat yang telah murni dan telah dilakukan pewarnaan gram.

Tabel 15. Data hasil pewarnaan gram koloni

Isolat	Warna koloni	Bentuk koloni
SA 1	-	Diplobasil
SA2	+	Basil
SA3	-	Basil
SA4	-	Basil
SA5	+	Tetrabasil
SA6	-	Diplococcus
SA7	+	Diplobasil
SA 8	-	Coccus

Pewarnaan gram bertujuan untuk membedakan bakteri gram positif dan bakteri gram negative. Pewarnaan gram ini dilakukan dengan cara mengambil satu ose biakan bakteri yang berumur 24 jam. Dari hasil pewarnaan gram isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa koloni dari hasil isolasi telah murni, hal ini dapat terlihat dari warna dan bentuk koloni yang seragam sehingga dapat ditentukan bakteri yang bergram positif dan bakteri yang bergram negatif.

Uji Kualitatif Bakteri Selulolitik

Setelah dilakukan pemurnian dan pewarnaan gram, maka dilakukan uji kualitatif selulolitik pada isolat serasah akasia. Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan isolat untuk melihat tingkat aktivitas enzim selulase pada setiap isolat serasah akasia. Keaktifan enzim selulase diukur dengan menghitung nilai indeks

selulolitik. Indeks selulolitik merupakan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni.

Tabel 16. Nilai Indeks Selulolitik Isolat serasah Akasia

Isolat	Diameter koloni	Diameter zona bening	Nilai indeks selulolitik
SA 1	2 mm	7 mm	2,5
SA 2	3 mm	7 mm	1,33
SA 3	3 mm	6 mm	1
SA 4	5 mm	6 mm	0,2
SA 5	3 mm	5 mm	0,67
SA 6	5 mm	10 mm	1
SA 7	14 mm	16 mm	0,14
SA 8	11 mm	15 mm	0,36

Dari hasil uji kualitatif isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa bakteri yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi yaitu 2,5 mm yang terdapat pada isolat SA1 dengan diameter koloni 2 mm dan diameter zona bening 7 mm. Hal ini dikarenakan semakin besar indeks selulolitik yang dihasilkan isolat SA1 maka semakin besar enzim yang dihasilkan oleh isolat bakteri tersebut.

Karakterisasi Biokimia

Uji fermentasi karbohidrat (glukosa, maltose, sukrosa, dan manitol)

Isolat yang telah di uji kualitatif kemudian dilakukan uji fermentasi karbohidrat, hal ini dilakukan bertujuan untuk melihat kemampuan isolat memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat atau tidak yang disertai produksi asam atau gas..

Tabel 17. Hasil uji fermentasi karbohidrat

Isolat	Uji glukosa	Uji maltosa	Uji sukrosa	Uji manitol
Isolat 1	+	+	+	+
Isolat 2	+	+	+	+
Isolat 3	+	+	+	+
Isolat 4	+	+	+	+
Isolat 5	+	+	+	+
Isolat 6	+	+	+	+
Isolat 7	+	+	+	+

Dari hasil uji fermentasi karbohidrat (maltose, sukrosa, dan manitol) isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa semua uji yang dilakukan bernilai positif (+). Hasil positif pada fermentasi karbohidrat ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning sehingga dapat disimpulkan bahwa isolat-isolat bakteri serasah akasia tersebut memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat.

UJI MR dan VP

Uji biokimia selanjutnya adalah uji MR dan VP, uji MR dilakukan untuk melihat apakah hasil dari perombakan karbohidrat yang dilakukan bakteri menghasilkan senyawa asam sebagai produk akhir dan berkonsentrasi tinggi serta membedakan mikrob enterik pengoksidasi glukosa, sedangkan uji VP dilakukan untuk melihat apakah hasil dari perombakan karbohidrat oleh bakteri menghasilkan senyawa tidak asam.

Tabel 18. Hasil uji MR-VP

Isolat	Uji MR	Uji VP
Isolat SA 1	-	+
Isolat SA 2	-	+
Isolat SA 3	-	+
Isolat SA 4	-	-
Isolat SA 5	-	+
Isolat SA 6	-	+
Isolat SA 7	-	+
Isolat SA 8	-	+

Dari hasil uji MR isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa masih dinyatakan negatif (-) hal ini dikarenakan masih belum terlihat adanya perubahan warna dari warna biru menjadi merah, warna yang terlihat hanya berwarna hijau kekuningan sehingga perlu dilakukan pengujian ulang. Sedangkan untuk uji VP MR isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa hampir seluruh isolat pada uji VP dinyatakan positif karna terbentunya perubahan warna merah muda yang merupakan indikasi bahwa bakteri tersebut mampu memfermentasikan glukosa dan membentuk asam sedangkan uji VP dinyatakan negatif terlihat pada isolat SA 4 yaitu dikarenakan kaldu tidak mengalami perubahan warna setelah penambahan reagen.

UJI ANAEROBIK

Uji anaerobik dilakukan pada 8 isolat bakteri akasia yang bertujuan melihat koloni yang tumbuh didalam media dengan kondisi tanpa oksigen. Pengujian bakteri yang bersifat anaerobik dilakukan pada bakteri selulolitik yang berumur 24 jam.

Tabel 19. Data hasil Uji Anaerobik

Isolat	Keterangan
SA 1	Anaerob fakultatif
SA2	Aerob
SA3	Anaerob fakultatif
SA4	Anaerob fakultatif
SA5	Anaerob fakultatif
SA6	Anaerob fakultatif
SA7	Aerob
SA 8	Aerob

Dari hasil Uji anaerobik isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa sebagian besar bakteri pada serasah akasia tersebut bersifat anaerob fakultatif yang mana bakteri tersebut dapat tumbuh dengan kondisi ada atau tanpa oksigen. Sedangkan beberapa isolat bakteri serasah akasia tersebut aerob yang mana bakteri tersebut dapat tumbuh dengan kondisi adanya oksigen.

Uji Potensi Bakteri Selulolitik

Uji Gula Reduksi

Uji gula reduksi dilakukan pada isolat bakteri yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi yaitu isolate SA1, SA2, SA3 dan SA6. Uji ini dilakukan dengan harapan isolat tersebut memiliki kemampuan mereduksi yang tinggi. Uji ini bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri untuk mereduksi selulosa.

Tabel 20. Hasil Uji Gula Reduksi

Isolat	Hasil Gula Reduksi
SA 1	++
SA 2	+
SA 3	+
SA 6	+++

Dari hasil uji gula reduksi isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa hasil gula reduksi bernilai positif jika mengalami perubahan warna menjadi

merah. Semakin merah warna yang dihasilkan maka diharapkan semakin besar kemampuan mereduksi gula. Tingkat kepekatan warna merah di lambangkan dengan tanda “+”, semakin banyak tanda “+” maka semakin pekat warna merah yang dihasilkan. Hasil uji gula reduksi terbaik yang didapat adalah SA 6 dimana tingkat kepekatan warna dilambangkan “+++”.

Pengukuran Kekeruhan Bakteri

Pengukuran kekeruhan bakteri dilakukan untuk melihat peningkatan jumlah sel yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik pada media CMC yang diinkubasi selama 4 hari. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan spectrometer dengan panjang gelombang 600 nm. kekeruhan bakteri berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mereduksi bakteri, selain itu kita juga dapat melihat pada hari keberapa tingkat kekeruhan bakteri terlihat.

Tabel 21. Hasil Pengukuran Tingkat Kekeruhan Bakteri Selama 4 Hari

Isolat	Hari pertama	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
Isolat SA 1	1,253	1,376	1,387	1,399
Isolat SA 2	1,224	1,156	0,728	0,709
Isolat SA 3	1,179	1,342	1,346	1,352
Isolat SA 6	1,164	1,546	1,678	1,859

Dari hasil uji pengukuran tingkat kekeruhan isolat bakteri serasah akasia diatas menunjukkan bahwa pada isolate SA 6 memiliki populasi sel tertinggi terlihat pada hari ke-4, pada isolate SA 2 memiliki tingkat populasi sel tertinggi terjadi pada hari pertama dan menurun secara bertahap pada hari berikutnya, sedangkan isolat SA 1 dan SA 3 mengalami kenaikan populasi sel dari hari pertama sampai hari ke-4 secara bertahap dengan populasi tertinggi pada hari ke-4. Untuk tingkat kekeruhan tertinggi terjadi pada isolate SA 6 yang mana isolate tersebut dinyatakan memiliki kemampuan dalam mereduksi bakteri paling baik sebab semakin keruh bakteri maka semakin banyak sel yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

Isolat yang berasal dari Jerami Padi

Purifikasi bakteri dari jerami padi bertujuan untuk mendapatkan koloni tunggal atau bakteri murni dimana koloni bakteri hanya terdiri dari 1 jenis bakteri saja tanpa ada tercampur dengan koloni bakteri lain. Purifikasi (pemurnian) isolat jerami

padi yang telah diseleksi berjumlah 7 isolat, pengamatan isolate murni dilakukan berdasarkan tampak kondosi luar isolat, kemudian isolat yang sudah diperkirakan murni dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram bertujuan untuk membedakan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, bakteri yang berwarna ungu digolongkan kedalam bakteri gram positif dan bakteri yang berwarna merah digolongkan kedalam bakteri gram negatif . Berikut gambar isolat yang telah murni dan telah dilakukan pewarnaan gram.

Dari gambar diatas diatas menunjukkan bahwa isolat yang telah difurifikasi telah terpisah seutuhnya dari koloni lain, sehingga yang tampak di gambar hanya ada satu koloni tunggal.

Tabel 22. Data hasil pewarnaan gram koloni

Isolaat	Warna koloni	Bentuk koloni
JP 1	Negatif	Bacil
JP 2	Positif	Diplokokus
JP 3	Negatif	Bacil
JP 4	Negatif	Bacil
JP 5	Negatif	Diplokokus
JP 6	Negatif	Kokus
JP 7	Negatif	Bacil

Dari hasil pewarnaan gram isolat diatas menunjukkan bahwa tedapat 2 jenis bakteri berdasarkan warna gram, isolat berlabel JP 2 merupakan isolat dengan gram positif dimana warna koloni berwarna ungu, sedamgkan JP 1, 3, 4, 5, 6, dan 7 merupakan bakteri gram negatif hal terlihat dari warna koloni yang berwarna merah.

Uji Kualitatif Selulolitik

Setelah dilakukan pemurnian dan pewarnaan gram, maka dilakukan uji kulalitatif selulolitik pada islat. Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan isolat untuk melihat tingkat aktivitas enzim selulase pada setiap isolat jerami padi. Keatifan enzim selulase diukur dengan menghitung nilai indeks selulolitik.

Tabel 23. Nilai Indeks Selulolitik Isolat Jerami Padi

Isolat	Diameter koloni	Diameter zona bening	Nilai indeks selulolitik
JP 1	-	-	-
JP 2	3 mm	7 mm	1,33
JP 3	2 mm	5 mm	1,5
JP 4	3 mm	5 mm	0,67
JP 5	2 mm	6 mm	2
JP 6	2 mm	6 mm	2
JP 7	7 mm	35 mm	4

Dari hasil uji kualitatif yang dilakukan, hanya isolate yang berlabel JP 1 yang tidak memiliki data nilai indeks selulolitik dikarenakan isolate mengalami kontaminasi. Isolat dengan nilai tertinggi adalah JP 5, 6, dan 7. Semakin tinggi nilai indeks selulolitiknya maka semakin tinggi aktivitas enzim selulase bakteri tersebut.

Uji Fermentasi Karbohidrat (Glukosa, Maltose, Sukrosa, dan Manitol)

Isolat yang telah diuji kualitatif kemudian dilakukan uji fermentasi karbohidrat, uji ini bertujuan untuk melihat kemampuan isolat memiliki kemampuan memfermentasi karbohidrat atau tidak.

Tabel 24. Hasil uji fermentasi karbohidrat

Isolat	Uji glukosa	Uji maltosa	Uji sukrosa	Uji manitol
JP 1	+	+	+	+
JP 2	+	+	+	+
JP 3	+	+	+	+
JP 4	+	+	+	+
JP 5	+	+	+	+
JP 6	+	+	+	+
JP 7	+	+	+	+

Uji fermentasi karbohidrat pada media glukosa, maltose, sukrosa, dan manitol menunjukkan positif, hal ini terlihat dari perubahan media yang semula merah berubah menjadi kuning.

Dari hasil uji glukosa yang dilakukan dapat dilihat pada gambar bahwa media agar glukosa pada saat semula berwarna merah kemudian berubah warna menjadi kuning, hal ini dikarenakan hasil dari fermentasi yang dilakukan oleh bakteri

selulolitik akan menghasilkan senyawa asam yang kemudian merubah media menjadi kuning.

Dari hasil uji sukrosa yang dilakukan dapat dilihat pada gambar bahwa media agar sukrosa pada saat semula berwarna merah kemudian berubah warna menjadi kuning, hal ini dikarenakan hasil dari fermentasi yang dilakukan oleh bakteri selulolitik akan menghasilkan senyawa asam yang kemudian merubah media menjadi kuning.

Dari hasil uji maltosa yang dilakukan dapat dilihat pada gambar bahwa media agar maltosa pada saat semula berwarna merah kemudian berubah warna menjadi kuning, hal ini dikarenakan hasil dari fermentasi yang dilakukan oleh bakteri selulolitik akan menghasilkan senyawa asam yang kemudian merubah media menjadi kuning.

Dari hasil uji manitol yang dilakukan dapat dilihat pada gambar bahwa media agar manitol pada saat semula berwarna merah kemudian berubah warna menjadi kuning, hal ini dikarenakan hasil dari fermentasi yang dilakukan oleh bakteri selulolitik akan menghasilkan senyawa asam yang kemudian merubah media menjadi kuning.

Uji MR dan VP

Uji biokimia selanjutnya adalah uji MR dan VP, uji MR bertujuan untuk melihat apakah hasil dari perombakan karbohidrat yang dilakukan bakteri menghasilkan senyawa asam, sedangkan uji VP dilakukan untuk melihat apakah hasil dari perombakan karbohidrat oleh bakteri menghasilkan senyawa tidak asam. Uji MR dan VP dilakukan pada isolat yang memiliki aktivitas enzim selulase tertinggi yaitu isolat 5,6, dan 7.

Tabel 25. Hasil uji MR-VP

Isolat	Uji MR	Uji VP
JP 5		-
JP 6		-
JP 7		-

Hasil uji VP masih dikatakan negatif (-) hal ini dikarenakan masih belum terlihat adanya perubahan warna dari warna biru menjadi merah, warna yang terlihat hanya berwarna hijau kekuningan.

Uji Potensi Bakteri Selulolitik Uji Gula Reduksi

Uji gula reduksi dilakukan pada 3 isolat yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi yaitu isolate 5, 6, dan 7. Hal ini karena diharapkan isolate tersebut memiliki kemampuan mereduksi yang tinggi. Uji ini bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri untuk mereduksi selulosa.

Tabel 26. Hasil Uji Gula Reduksi

Isolat	Hasil Gula Reduksi
JP 5	+
JP 6	++
JP 7	+

Hasil uji gula reduksi positif jika mengalami perubahan warna menjadi merah. Semakin merah warna yang dihasilkan maka diharapkan semakin besar kemampuan mereduksi gula. Tingkat kepekatan warna merah di lambing dengan tanda “+”, semakin banyak tanda “+” maka semakin pekat warna merah yang dihasilkan. Hasil uji gula reduksi terbaik yang di dapat adalah isolate 6 diman tingkat kepekatan warna dilambangkan “++”.

Pengukuran Kekeruhan Bakteri

Pengukuran kekeruhan bakteri dilakukan untuk melihat peningkatan jumlah sel yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik pada media CMC yang diinkubasi selama 4 hari. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan spectrometer dengan panjang gelombang 600 nm. Kekeruhan bakteri berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mereduksi bakteri, selain itu kita juga dapat melihat pada hari seberapa tingkat kekeruhan bakteri terlihat.

Tabel 27. Hasil Pengukuran Tingkat Kekeruhan Bakteri Selama 4 Hari

Isolat	Hari pertama	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
JP 5	0,831	1,160	1,174	1,186
JP 6	1,185	1,130	1,124	1,122
JP 7	0,955	1,040	1,104	1,116

Hasil pengukuran tingkat kekeruhan menunjukkan bahwa pada isolate 5 populasi sel tertinggi terlihat pada hari ke-4, pada isolate ke-6 tingkat populasi sel tertinggi terjadi pada hari pertama dan menurun secara bertahap pada hari berikutnya, sedangkan isolate 7 mengalami kenaikan populasi sel dari hari pertama sampai hari ke-4 dengan populasi tertinggi pada hari ke-4. Untuk tingkat kekeruhan tertinggi terjadi pada isolate 5.

Uji pH rendah Bakteri dari Serasah Akasia

Hasil pengamatan uji pH rendah dapat dilihat pada Tabel 28.

Tabel 28. Data hasil uji pH rendah

Kode Isolat	pH 3	pH 4	pH 5	pH 7
SA 1	-	-	1.6	1.123
SA 2	-	-	0.198	0.773
SA 3	-	1.553	1.43	1.144
SA 6	-	1.421	1.604	1.404

Keterangan:

SA : Serasah Akasia

Hasil pengamatan uji pH rendah dilakukan pada 4 isolat serasah akasia yang memiliki indeks selulolitik yang tinggi yaitu SA1, SA2, SA3, SA6 sehingga dapat diketahui bahwa Isolat-isolat yang dikarakterisasi menunjukkan keragaman pH optimum. Isolat-isolat ini merupakan bakteri selulolitik yang diisolasi dari lahan gambut yang umumnya bersifat asam dan serasah yang umumnya bersifat alkali hingga netral.

Pada hasil pengamatan uji pH 7 (sebagai kontrol) dan pH 5 dapat dilihat bahwa keempat isolat SA dapat tumbuh dengan baik hal ini dapat dilihat dari tingkat kekeruhan bakteri yang cukup tinggi setelah diinkubasi selama 48 jam. Pada hasil pengamatan pH 4 dapat dilihat bahwa dari keempat isolat SA hanya ada dua isolat yang mampu tumbuh yaitu SA3 dan SA6, sedangkan pada hasil pengamatan pH 3 dapat dilihat bahwa dari keempat isolat SA tersebut tidak satupun isolat SA yang mampu tumbuh di pH 3. Derajat keasaman (pH) tergantung pada banyak sedikitnya H⁺ dalam suatu medium yang menyebabkan medium menjadi asam. Keasaman terjadi karena adanya akumulasi asam-asam organik yang dihasilkan selama proses fermentasi (Madigan *et al.*, 2009).

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri adalah nilai pH. Bakteri memerlukan suatu pH optimum (6,5-7,5) untuk tumbuh optimal. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri ini berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim ini dibutuhkan oleh beberapa bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri (Suriani *et al.*, 2013). Perubahan pH atau pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah. Selain itu perubahan pH juga menyebabkan denaturasi enzim dan mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim (Girindra, 1993).

Uji pH rendah Isolat dari TKKS

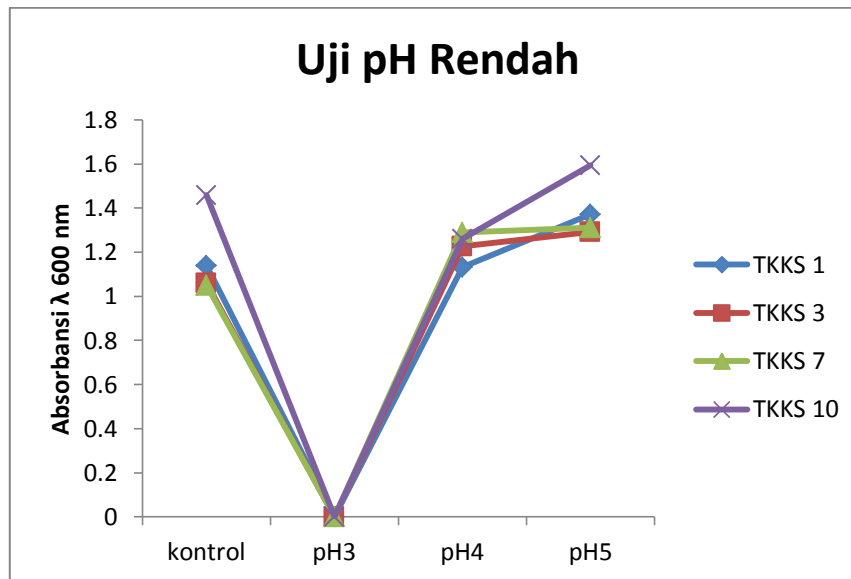
Pengujian ketahanan bakteri terhadap pH dilakukan dengan mengamati jumlah sel bakteri yang ditumbuhkan pada media NB yang telah diatur pH nya dengan menggunakan spektrofotometer

Tabel 29. Hasil spektrofotometer uji pH rendah

Isolat	kontrol	pH3	pH4	pH5
TKKS 1	1.140	0	1.132	1.372
TKKS 3	1.059	0	1.227	1.292
TKKS 7	1.051	0	1.290	1.312
TKKS 10	1.459	0	1.260	1.595

Keterangan:

TKKS = Tandan kosong kelapa sawit



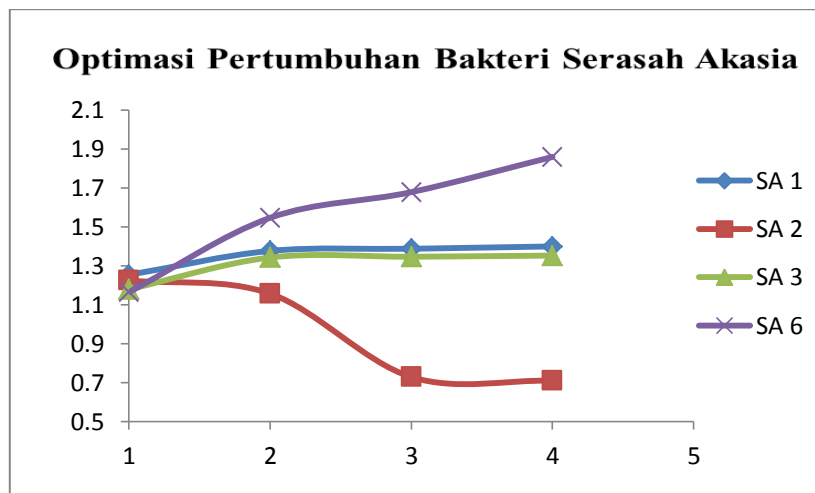
Gambar 6. Hasil spektrofotometer uji pH rendah

Isolat bakteri memiliki karakteristik pH dan suhu optimum yang berbeda. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH sehingga apabila terjadi perubahan pH maka akan menyebabkan denaturasi enzim dan menghilangkan aktivitas enzim. Pada Gambar 7, hasil pengamatan menunjukkan bahwa pengukuran OD terhadap isolat bakteri asal TKKS dengan perlakuan pH rendah (pH 3, pH 4 dan pH 5), nilai absorbansi pada pH 3 bakteri tidak mampu mempertahankan hidupnya sedangkan pada pH 4 dan 5 bakteri mampu mempertahankan hidupnya pada kondisi pH rendah dan isolat yang memiliki nilai absorbansi tertinggi yaitu isolat TKKS10.

Kekeruhan bakteri dari Serasah Akasia dengan spektrometer

Pengukuran kekeruhan bakteri dilakukan untuk melihat peningkatan jumlah sel yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik pada media CMC yang diinkubasi selama 4 hari. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Absorbansi atau nilai kekeruhan bakteri diperoleh

dengan nilai yang beragam tergantung banyaknya sel yang terkandung pada masing-masing isolat. Hasil pengamatan kekeruhan bakteri pada Grafik dibawah ini.



Gambar 7. Optimasi 4 Isolat Bakteri dari Serasah Akasia selama 4 hari

Hasil uji pengukuran tingkat kekeruhan isolat bakteri serasah akasia terlihat pada Tabel 7 diatas menunjukkan bahwa pada isolat SA 2 memiliki tingkat populasi sel tertinggi terjadi pada hari pertama dan menurun secara bertahap pada hari berikutnya, sedangkan isolat SA 1, SA 3 dan SA 6 mengalami kenaikan populasi sel dari hari pertama sampai hari ke-4 secara bertahap dengan populasi tertinggi pada hari ke-4.

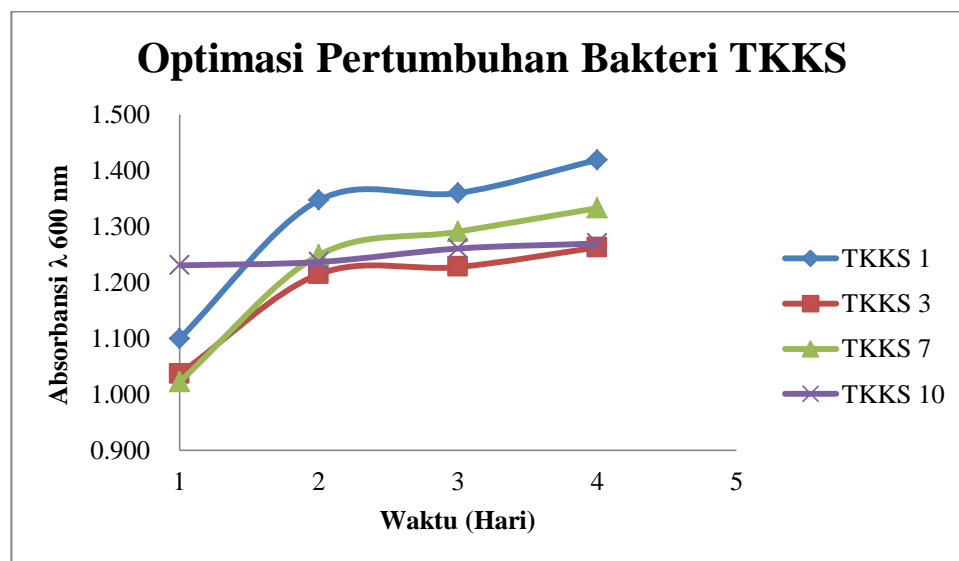
Absorbansi atau nilai kekeruhan bakteri diperoleh dengan nilai yang beragam tergantung banyaknya sel yang terkandung pada masing-masing isolat. Absorbansi atau nilai kekeruhan bakteri juga berkaitan dengan uji gula reduksi yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik, semakin keruh bakteri selulolitik maka semakin tinggi gula reduksi yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik tersebut.

Untuk tingkat kekeruhan tertinggi terjadi pada isolat SA 6 yang mana isolat tersebut dinyatakan memiliki kemampuan dalam mereduksi bakteri paling baik sebab, pada kondisi optimum bakteri selulolitik dalam menghasilkan enzim selulase dilihat dari kekeruhannya, semakin keruh berarti semakin banyak sel yang ada, sehingga enzim selulase yang dihasilkan akan semakin banyak. Jumlah sel yang tumbuh diasumsikan berbanding lurus dengan banyaknya enzim yang diproduksi. Banyaknya

sel ditunjukkan dengan kekeruhan media yang diukur dengan Spektrofotometer T70 UV-Vish dengan panjang gelombang (λ) = 600 nm (Alam *et al.* 2013).

Pengukuran kekeruhan bakteri TKKS

Pengukuran kekeruhan bakteri dilakukan untuk melihat peningkatan jumlah sel yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik pada media CMC yang diinkubasi selama 4 hari. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Kekeruhan bakteri berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mereduksi bakteri. Empat isolat bakteri dengan indeks selulolitik tertinggi dibuat inokulumnya untuk dihitung jumlah selnya dengan cara menentukan kekeruhan (turbiditas) atau *Optical Density* (OD) suspensi dalam media CMC cair. Perbedaan nilai OD masing-masing isolat bakteri disebabkan oleh perbedaan jumlah sel. Semakin keruh suatu suspensi atau semakin tinggi nilai OD, maka semakin banyak jumlah sel.



Gambar 8. Optimasi pertumbuhan Isolat bakteri pada media CMC cair

Menurut Meryandini *et al.* (2009), perbedaan pertumbuhan antara isolat bakteri berdasarkan atas kemampuannya dalam mendegradasi substrat dan komposisi yang ditambahkan pada media. Substrat CMC merupakan substrat selulosa murni

yang berbentuk *amorphous* sehingga aktivitas enzim selulase pada substrat CMC merupakan aktivitas enzim endo-1,4- β -glukanase.

Identikasi Molekuler

Beberapa isolat dari limbah jerami, serasah akasia, TKKS, dan pelepah kelapa sawit yang memiliki indeks selulolitik tertinggi dilakukan identifikasi bakteri secara molekuler menggunakan primer 16S rRNA. Data hasil analisis DNA masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel.

Hasil Analisis DNA Sampel

Tabel 38. Hasil Analisis BLASTn Terhadap gen BSF pada sampel

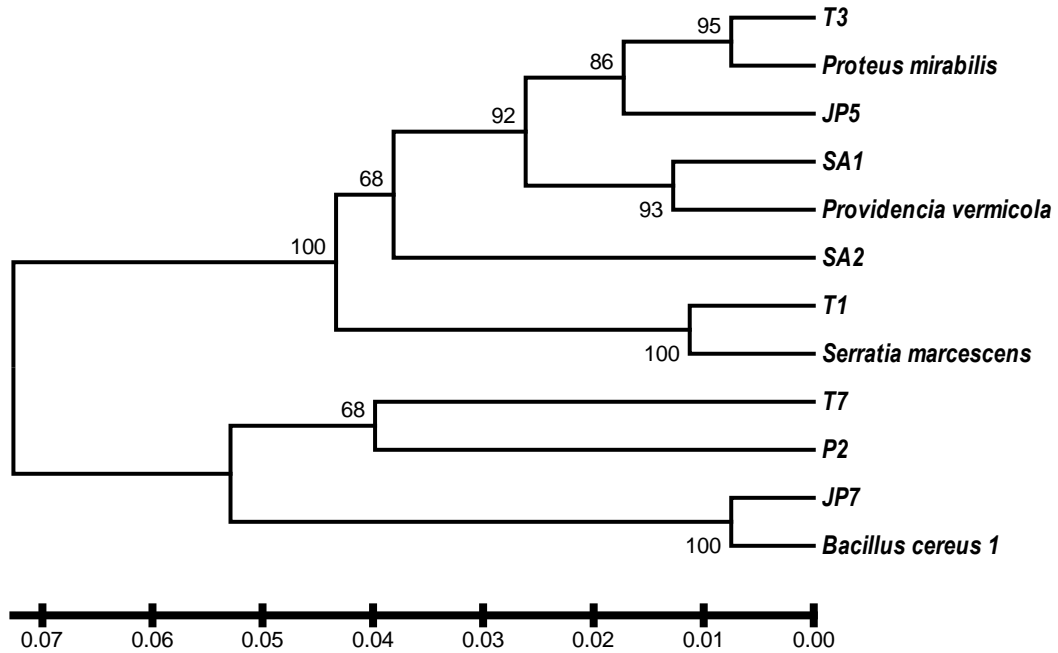
SAMPEL	Deskription	Max score	Total score	Query cover	E-value	Ident	Accession
1. T1	Serratia marcescens strain NBRC 102204 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1119	1806	83%	0,0	95 %	NR_114043.1
2. T3	Proteus mirabilis strain ATCC 29906 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2013	2013	97%	0,0	93%	NR_114419.1
3. T7	<u>Proteus mirabilis strain ATCC 29906 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	800	800	98%	0,0	74%	<u>NR_114419.1</u>
4. SA1	Providencia vermicola strain OP1 16S ribosomal RNA gene, complete	1685	1685	98%	0,0	87%	NR_042415.1



	sequence						
5. SA2	Proteus mirabilis strain ATCC 29906 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1793	1793	98%	0,0	88%	NR_114419.1
6. JP5	Proteus mirabilis strain ATCC 29906 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	231	231	98%	0,0	96%	NR_114419.1
7. JP7	Bacillus cereus strain CCM 2010 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	1934	1934	98%	0,0	91%	NR_115714.1
8. P2	Bacillus cereus strain CCM 2010 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	684	684	98%	0,0	72%	NR_115714.1

Berdasarkan Tabel dapat dilihat bahwa delapan isolat yang diidentifikasi secara molekuler merupakan bakteri baru yang belum pernah diidentifikasi sebelumnya. Hal ini disebabkan karena masih rendahnya tingkat kemiripan bakteri yang diidentifikasi. Hanya beberapa bakteri yang memiliki tingkat kemiripan di atas 90 yaitu T1, T3, JP5, dan JP7. Hasil ini akan dibandingkan dengan uji morfologi dan fisiologi yang dilakukan sehingga dapat diperoleh spesies bakteri yang diperoleh. Untuk melihat kemiripan bakteri yang diisolasi dengan data NCBI isolat teridentifikasi maka dibuat pohon filogenetik melalui dendogram yang berikut.

Hasil Dendogram UPGMA dengan 1000x pengulangan berdasarkan basa nukleotida



Hasil Dendogram NJ dengan 1000x pengulangan berdasarkan basa nukleotida

