

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Isolasi bakteri selulolitik

Isolasi bakteri dari sampel air sungai siak di daerah Tandun dilakukan dengan metoda Total Plate Count menggunakan medium nutrisi agar dan media spesifik. Metoda total Plate agar ini disamping untuk isolasi bakteri juga sekaligus untuk menghitung jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam sampel. Hasil dari isolasi bakteri selulolitik dapat dilihat pada **tabel 8**.

Tabel 3. Penghitungan jumlah total bakteri dalam media nutrient agar

Media	Faktor pengenceran	Jumlah koloni	Volume sampel (ml)	Total Plate Count	Kode Isolat
Nutrien agar	10^{-1}	26	0,1	26×10^3 CFU/ml	S
Selektif	10^{-1}	4	0,1	-	S-p



Gambar 3. Pengenceran 10^{-1} pada media nutrient agar



Gambar 4. Pengenceran 10^{-1} pada media spesifik untuk enzim selulase

4.1.2. Inokulasi pada Media Spesifik

Isolat tunggal hasil isolasi dari media nutrient agar dipindahkan ke media spesifik untuk enzim selulase yang mengandung 1% CMC. Isolat tunggal yang tumbuh pada media spesifik dapat dilihat pada **gambar 3**.



Gambar 5. Isolat dalam media spesifik

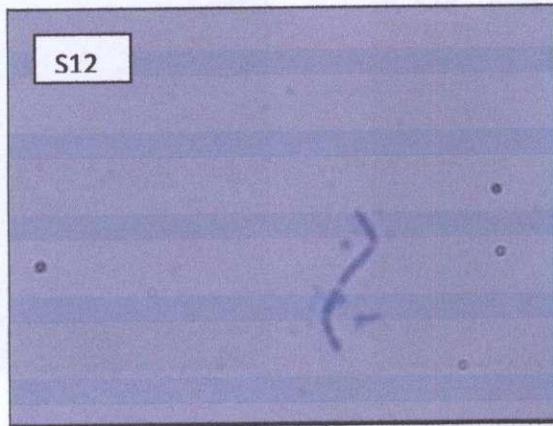
Isolat bakteri yang tumbuh pada media selektif diatas dipindahkan ke media Nutrien Agar miring, dan selanjutnya isolat ini diidentifikasi dengan pewarnaan gram untuk membedakan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

4.1.3. Pewarnaan Gram

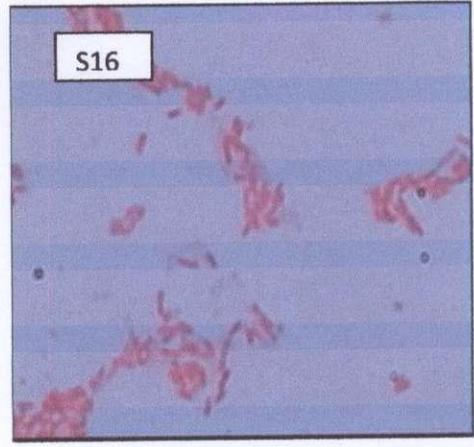
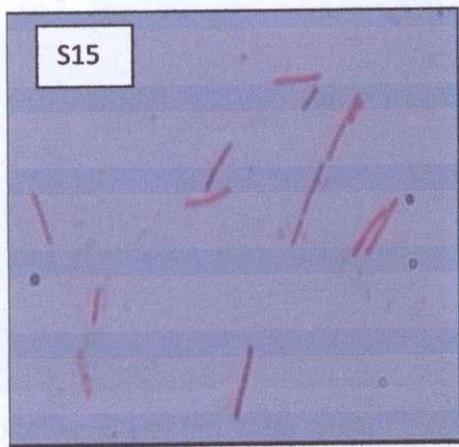
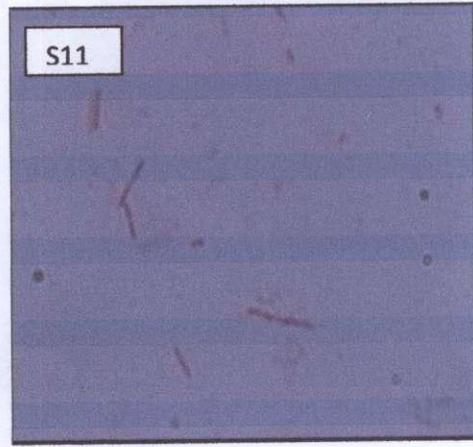
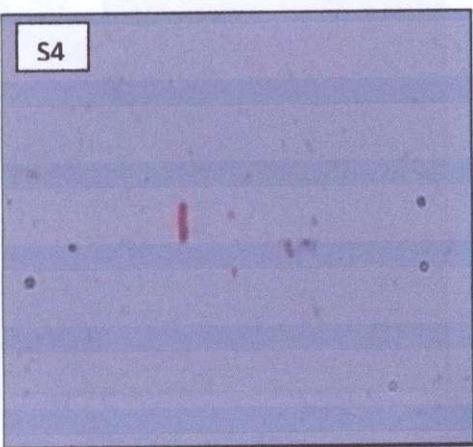
Pewarnaan gram dilakukan untuk menentukan gram positif dan gram negaatif pada bakteri. Hasil pewarnaan gram positif dan gram negative dapat dilihat pada **tabel 4**.

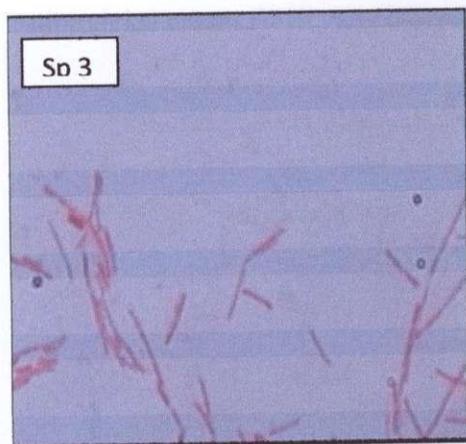
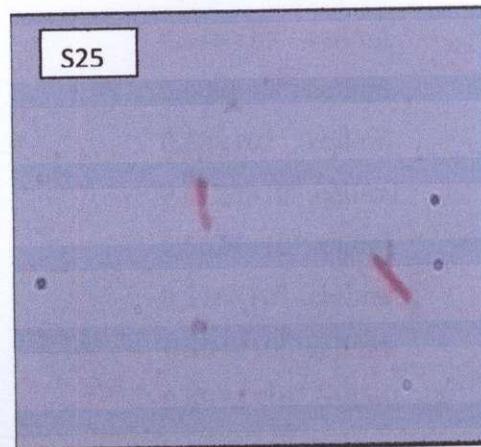
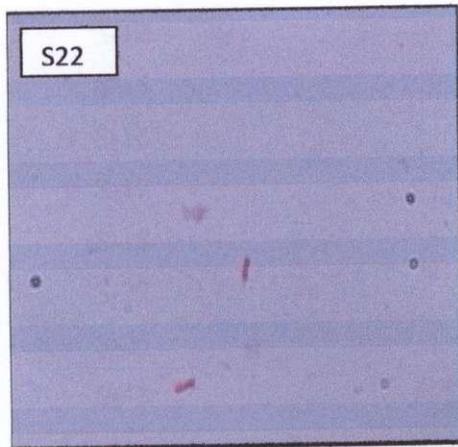
Tabel 4. Pewarnaan gram.

Isolat	bakteri gram positif	bakteri gram negatif
S-4		√
S-11		√
S-12	√	
S-15		√
S-16		√
S-17		√
S-18		√
S-22		√
S-25		√
SP-3		√



Gambar 6. Isolat bakteri gram postif





Gambar 7. Bakteri gram negatif

4.1.4. Produksi Enzim

Dalam penentuan uji aktivitas enzim, dilakukan produksi enzim terlebih dahulu. Enzim diproduksi pada media cair yang mengandung 1 % CMC (Anjandkk, 2009). Dalam memproduksi enzim terlebih dahulu kita mengukur OD dari setiap isolat pada media *Nutrient broth* yang sudah diinkubasi selama 24 jam pada panjang gelombang 600 nm. Hasil pengukuran OD pada setiap isolat dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Jumlah sel pada setiap isolat pada A_{600} nm

Isolat bakteri	absorbansi	jumlah sel
S-4	0,193	$0,1544 \times 10^9$ cell/ml
S-11	0,836	$0,6688 \times 10^9$ cell/ml
S-12	0,185	$0,148 \times 10^9$ cell/ml
S-15	0,758	$0,6064 \times 10^9$ cell/ml
S-16	0,850	$0,68 \times 10^9$ cell/ml
S-17	0,516	$0,4128 \times 10^9$ cell/ml
S-18	0,703	$0,5624 \times 10^9$ cell/ml
S-22	0,395	$0,316 \times 10^9$ cell/ml
S-25	0,630	$0,504 \times 10^9$ cell/ml
Sp-3	0,547	$0,4376 \times 10^9$ cell/ml

Keterangan: S= Isolat inokulasi bakteri dari media nuteient agar ke media selektif

Sp= Isolat langsung ke media selektif, $OD_{600}=1, \sim 0,8 \times 10^9$ cell/ ml

Setelah pengukuran OD dari setiap isolat, dari setiap isolat akan diproduksi enzim. Hasil yang didapat dari produksi enzim dapat dilihat pada tabel

Tabel 6. Jumlah enzim dari setiap isolat

isolat	jumlah enzim
S-11	14,8 ml
S-12	8,6 ml
S-15	16 ml
S-17	14,5 ml
S-22	19 ml
S-25	13,9 ml
Sp-3	8 ml

4.2. Pembahasan

4.2.1. Isolasi bakteri selulolitik

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang dapat mendegradasi selulosa menjadi bentuk yang lebih sederhana (winarno, 1986). Limbah kelapa sawit sebagian besar mengandung selulosa (Irawan dkk, 1995). Dari penelitian ini bakteri yang didapat merupakan bakteri selulolitik karena bakteri yang didapat tumbuh pada media spesifik (media yang hanya bakteri tertentu yang dapat tumbuh) yang mengandung 1% CMC dimana CMC merupakan substrat dan sumber karbon pada bakteri selulolitik itu artinya bakteri tersebut mampu mendegradasi selulosa yang terdapat pada media spesifik. Pada media juga terdapat mineral- mineral (K, Fe, Ca, Mg, P, Cl) dan ekstrak kamir sebagai sumber vitamin bagi bakteri, karena bakteri membutuhkan carbon, mineral dan vitamin untuk tumbuh.

4.2.2. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram masih merupakan salah satu prosedur yang paling banyak digunakan untuk mencirikan banyak bakteri (pelczar dan chan, 1986).Pewarnaan Gram ini dimaksudkan untuk menentukan bakteri gram positif atau Gram negatif. Perbedaan warna antara bakteri Gram negaatif dan bakteri Gram negatif disebabkan perbedaan pada struktur, komposisi dinding sel bakteri dan perbedaan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri.

Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentasi lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis daripada dinding sel bakteri positif. Selama dalam prosedur pewarnaan perlakuan etanol (alkohol) terhadap bakteri gram negatif menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel gram negatif. Jadi kompleks ungu kristal-yodium (UK-Y), yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan, dapat diekstraksi. Karena itu bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut. Karena kandungan lipidnya yang lebih rendah, dinding sel bakteri gram positif menjadi terhidrasi selama perlakuan dengan etanol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks UK-Y tidak dapat terekstraksi.

Penjelasan serupa lainnya juga didasarkan pada perbedaan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri negatif mengandung peptidoglikan jauh lebih sedikit, dan peptidoglikan ini mempunyai ikatan silang yang jauh kurang ekstensif dibandingkan dengan yang dijumpai pada dinding bakteri gram positif karenanya, maka pori-pori peptidoglikan bakteri gram negatif tetap cukup besar sekalipun setelah perlakuan etanol sehingga memungkinkan ekstraksi kompleks UK-Y. Pada bakteri gram positif, setelah perlakuan etanol, kompleks UK-Y terperangkap didalam dinding, yang tampaknya mengurangi diameter pori-pori pada peptidoglikan dinding sel.

4.2.3. produksi enzim

Produksi enzim dimaksudkan untuk menghasilkan enzim dan selanjutnya kan diuji aktivitas enzim dari setiap isolat yang sudah didapatkan, tapi pada penelitian ini uji aktivitas belum dilakukan. Pengukuran OD dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah sel ($OD_{600} = 1, \sim 0,8 \times 10^9$ cell/ml) yang terdapat pada setiap isolat sehingga kita dapat mengetahui berapa jumlah yang akan kita ambil dari setiap isolat ke media produksi enzim. Perbedaan OD disebabkan oleh perbedaan banyak sel, seperti pada isolat S-12 memiliki nilai OD yang terendah itu artinya banyak sel dari isolat tersebut paling sedikit dibanding yang lainnya.



Sedangkan isolat S-16 memiliki jumlah sel yang paling banyak itu sebabnya memiliki OD paling tinggi.

Pengamatan aktivitas metabolisme diketahui dari kemampuan bakteri untuk menggunakan dan menguraikan molekul yang kompleks. Enzim selulase merupakan enzim *inducible* yaitu enzim yang dihasilkan sebagai respon terhadap jenis makanan yang terdapat di dalam lingkungan pertumbuhan organisme penghasilnya. Enzim yang dihasilkan yaitu selulase merupakan suatu kompleks enzim yang bekerja bersama-sama atau bertahap dalam menguraikan selulosa menjadi unit glukosa. Hal ini jugalah yang menyebabkan perbedaan jumlah enzim yang dihasilkan dari setiap bakteri. Pada bakteri S-17 menghasilkan enzim yang lebih banyak dibandingkan yang lain ini artinya kemampuan yang tinggi dari bakteri S-17 dalam menggunakan dan menguraikan molekul kompleks (menguraikan selulosa) sebagai respon terhadap makanan yang terdapat didalam lingkungan pertumbuhan bakteri penghasil selulase.