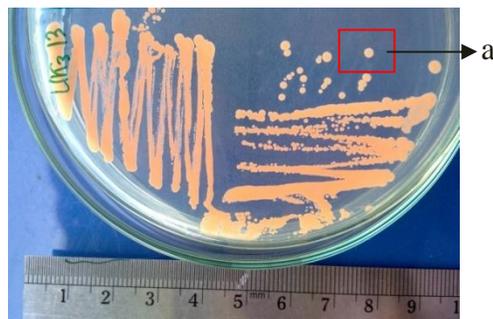


## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Keanekaragaman Bakteri

#### 5.1.1 Karakterisasi Parsial Isolat

Sebanyak 115 isolat disubkultur dan dipurifikasi dan diperoleh 86 isolat yang mampu tumbuh dan membentuk koloni tunggal pada medium *nutrien agar* (NA) dengan waktu inkubasi sekitar 24-48 jam. Adapun asal isolat yang dipurifikasi berasal dari lokasi ladang ubi kayu 42 isolat, lahan gambut habis terbakar 38 isolat dan hutan akasia 6 isolat. Gambar 1 menyajikan representasi isolat yang sudah murni.



**Gambar 1.** Isolat yang sudah murni. (a) koloni tunggal

#### 5.1.2. Karakterisasi Morfologi Koloni

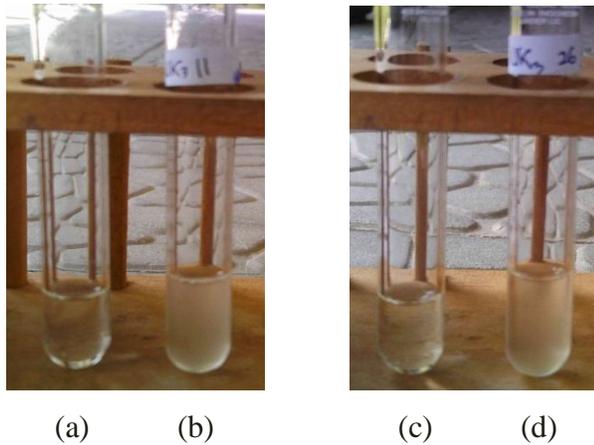
Morfologi koloni bakteri diamati pada medium NA dengan waktu inkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Dari hasil pengamatan, bentuk koloni bakteri seluruhnya memiliki bentuk bulat. Warna koloni isolat bervariasi, meliputi pink, putih krem, orange dan krem kuning. Dari 86 isolat tersebut, diperoleh sebanyak 55 isolat (64%) memiliki warna koloni pink, yang berasal dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 42 isolat (48,8%) dan lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 13 isolat (15,1%). Sebanyak 28 isolat (32,5%) memiliki warna koloni putih krem, yang berasal dari lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 23 isolat (26,7%) dan lokasi hutan akasia sebanyak 5 isolat (5,8%). Sisanya sebanyak 2 isolat (2,3%) memiliki warna koloni orange yang berasal dari lokasi hutan bekas terbakar dan 1 isolat (1,2%) memiliki warna koloni krem kuning yang berasal dari lokasi hutan akasia. Seluruh isolat memiliki tepian koloni licin, elevasi cembung dan konsistensi menempel (Tabel 1 dan Lampiran 2, 3, 4).

Berdasarkan uji motilitas, diperoleh sebanyak 12 isolat (13,9%) bersifat motil yang diantaranya berasal dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 8 isolat (9,3%) dan lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 4 isolat (4,6%). Hasil penelitian tersebut menunjukkan rendahnya bakteri yang bersifat motil pada tanah gambut. Hasil penelitian ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Puspitasari *et al.* (2009) yang memperoleh seluruh isolat bakteri (100%) bersifat motil yang berasal dari tanah daerah pegunungan.

### 5.1.3 Analisis Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi fisiologi yang dilakukan meliputi uji pewarnaan gram dan uji pertumbuhan pada berbagai pH, suhu dan konsentrasi NaCl. Seluruh isolat uji merupakan bakteri gram negatif kecuali UK<sub>3</sub>\_1 yang termasuk bakteri gram positif dengan bentuk isolat kokus sebanyak 67 isolat (77,9%) dan basil sebanyak 19 isolat (22,1%) (Tabel 1 dan Lampiran 2, 3, 4). Hasil penelitian ini sedikit berbeda jika dibandingkan dengan hasil karakterisasi yang dilakukan oleh Sri (2002) yang memperoleh seluruh isolat bakteri dari tanah masam (100%) bersifat gram negatif namun berbentuk basil. Pewarnaan gram berfungsi untuk membedakan bakteri menjadi kelompok gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah muda, karena cat sebelumnya telah luntur oleh alkohol sehingga mampu mengikat zat warna safranin (Waluyo 2004)

Sebanyak 38 isolat (44,2%) mampu tumbuh pada medium yang mengandung NaCl 3% dan 51 isolat (59,3%) mampu tumbuh pada medium yang mengandung NaCl 6,5%. Sebanyak 32 isolat (37,2%) mampu tumbuh pada kedua konsentrasi NaCl uji, sedangkan yang tidak dapat tumbuh pada kedua konsentrasi NaCl uji sebanyak 28 isolat (32,6%). Natrium klorida (NaCl) berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bagi kelompok bakteri tertentu dan juga dapat berfungsi merangsang kelompok bakteri halofilik (Weiser *et al.* 1978). Kelompok bakteri yang bersifat halofilik ringan umumnya dapat tumbuh baik pada medium yang mengandung 2-5% garam (Fardiaz 1992), bahkan dapat tumbuh pada medium dengan konsentrasi NaCl 7,5%. Kelompok bakteri yang bersifat halofilik dan dapat bertahan pada medium yang mengandung garam dengan konsentrasi tertentu mempunyai kemampuan untuk menahan tekanan osmotik dari luar sehingga tidak mengalami lisis, karena adanya mekanisme pengaturan kandungan K<sup>+</sup> di dalam sel (Stanier *et al.* 1976). Gambar 2 menyajikan representasi isolat yang tumbuh pada uji pertumbuhan konsentrasi NaCl 3% dan 6,5%.



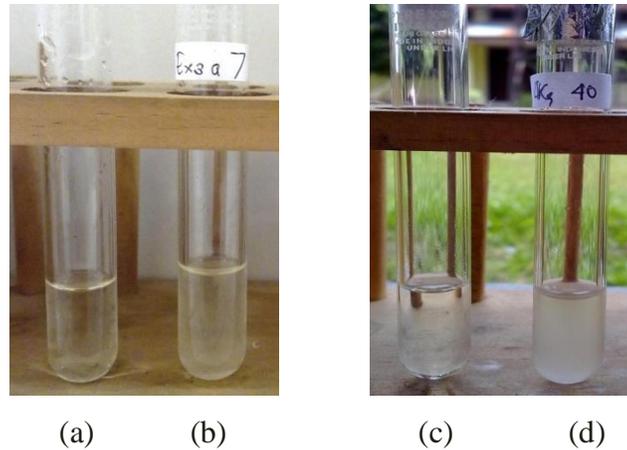
**Gambar 2.** Uji pertumbuhan bakteri pada NaCl 3% (kiri) dan NaCl 6,5% (kanan). (a & c) sebagai kontrol, (b & d) sampel (reaksi positif)

Uji kemampuan pertumbuhan bakteri pada suhu 4°C diperoleh sebanyak 15 isolat (17,4%) mampu tumbuh yang berasal dari lokasi lahan gambut habis terbakar, dan seluruh isolat uji tumbuh pada suhu ruang ( $\pm 32^{\circ}\text{C}$ ). Uji kemampuan pertumbuhan bakteri pada suhu 50°C diperoleh sebanyak 82 isolat (95,3%) yang mampu tumbuh, diantaranya dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 38 isolat (44,2%), lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 38 isolat (44,2%) dan lokasi hutan akasia sebanyak 6 isolat (7%) dengan perubahan medium menjadi keruh. Selain itu juga diperoleh sebanyak 15 isolat (17,4%) yang dapat tumbuh pada variasi suhu (4°C, suhu ruang  $\pm 32^{\circ}\text{C}$  dan 50°C), yang berasal dari lokasi lahan gambut habis terbakar, sedangkan yang tidak dapat tumbuh pada variasi suhu (4°C dan 50°C) diperoleh 4 isolat (4,6%) yang berasal dari lokasi ladang ubi kayu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat relatif tidak tumbuh baik pada suhu 4°C, melainkan mampu tumbuh baik pada suhu ruang ( $\pm 32^{\circ}\text{C}$ ) yang dapat digolongkan ke dalam kelompok bakteri mesofilik dan pada suhu 50°C yang digolongkan ke dalam kelompok bakteri termofilik. Namun juga terdapat beberapa bakteri yang bersifat termotoleran, dimana mampu tumbuh pada suhu 4°C, suhu ruang  $\pm 32^{\circ}\text{C}$  dan 50°C. Hal tersebut dikarenakan tidak semua bakteri tanah memiliki kemampuan dalam membentuk spora sebagai pembungkus luar yang kokoh sehingga mampu bertahan pada lingkungan ekstrim (Rao 1994). Gambar 3 menyajikan representasi isolat yang tumbuh pada uji pertumbuhan dengan suhu 4°C dan 50°C.

**Tabel 1.** Tabulasi jumlah isolat berdasarkan karakter yang diuji

No	Karakter yang diuji	Reaksi +/Tumbuh		Reaksi -/Tidak Tumbuh		Total Isolat Uji
		Jumlah	Persentase (%)	Jumlah	Persentase (%)	
1	Pewarnaan Gram	85	98,8%	1	1,2%	86
2	Uji motilitas	12	13,9%	74	86,1%	86
	<b>Pertumbuhan pada NaCl:</b>					
3	NaCl 3%	38	44,2%	48	55,8%	86
4	NaCl 6,5%	51	59,3%	35	40,7%	86
5	NaCl 3% dan 6,5%	32	37,2%	54	62,8%	86
	<b>Pertumbuhan pada suhu:</b>					
6	4°C	15	17,4%	71	82,6%	86
7	30-32°C	86	100%	-	-	86
8	50°C	82	95,3%	4	4,7%	86
9	4°C, 30-32°C, 50°C	15	17,4%	71	82,6%	86
	<b>Pertumbuhan pada:</b>					
10	pH 3	52	60,5%	34	39,5%	86
11	pH 5	86	100%	-	-	86
12	pH 7	47	54,7%	39	45,3%	86
13	pH 3, 5 dan 7	31	36,0%	55	64,0%	86
	<b>Uji Biokimia</b>					
14	Uji Voges Proskauer	86	100%	-	-	86
15	Uji methyl red	-	-	86	100%	86
16	Hidrolisis pati	2	2,3%	84	97,7%	86
17	Hidrolisis kasein	8	9,3%	78	90,7%	86
18	Hidrolisis gelatin	52	60,5%	34	39,5%	86
19	Fermentasi karbohidrat					
	• Fruktosa	29	33,7%	57	66,3%	86
	• Glukosa	19	22,1%	67	77,9%	
	• Sukrosa	21	24,4%	65	75,6%	
	• Selobiosa	9	10,5%	77	89,5%	
	• Galaktosa	10	11,6%	76	88,4%	
	• Laktosa	35	40,7%	51	59,3%	
20	Uji urease	9	10,5%	77	89,5%	86
21	Uji oksidase	-	-	86	100%	86
22	Uji katalase	86	100%	-	-	86

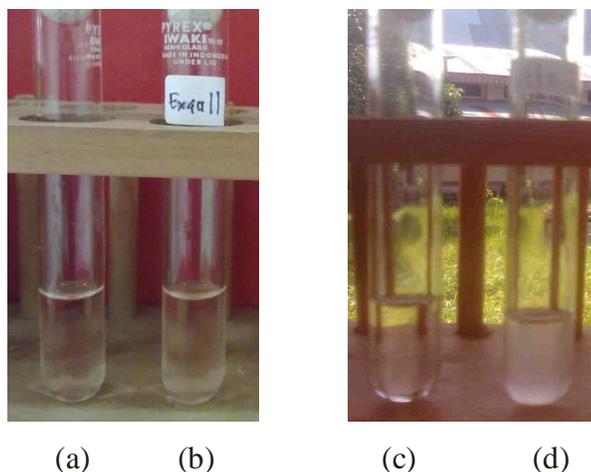


**Gambar 3.** Uji pertumbuhan pada suhu 4°C (kiri) dan suhu 50°C (kanan). (a & c) sebagai kontrol, (b & d) sampel (reaksi positif)

Uji kemampuan pertumbuhan bakteri pada pH 3 diperoleh sebanyak 52 isolat (60,5%) mampu tumbuh berasal dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 42 isolat (48,9%) dan lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 10 isolat (11,6%) dan seluruh isolat tumbuh pada pH 5. Uji kemampuan pertumbuhan bakteri pada pH 7 diperoleh sebanyak 47 isolat (54,7%) yang mampu tumbuh, diantaranya dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 25 isolat (29,1%), lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 17 isolat (19,8%) dan lokasi hutan akasia sebanyak 5 isolat (5,8%) dengan perubahan medium menjadi keruh. Selain itu juga diperoleh sebanyak 31 isolat (36%) yang dapat tumbuh pada variasi pH uji (3, 5 dan 7) diantaranya dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 25 isolat (29%) dan lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 6 isolat (7%), sedangkan yang tidak dapat tumbuh pada variasi pH uji (3 dan 7) diperoleh sebanyak 18 isolat (21%) diantaranya dari lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 17 isolat (19,8%) dan lokasi hutan akasia sebanyak 1 isolat (1,2%).

Menurut Sembiring&Fachmiasari (2004) pH tanah dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba dan keragaman spesiesnya. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri tanah adalah 6,5-7,5 (Jay 1978). Secara umum sel selalu mempertahankan kondisi pH di dalam sel supaya konstan mendekati netral untuk dapat berlangsungnya beberapa proses biokimia oleh enzim-enzim di dalam organel sel. Sebagian mikroba dapat mengeluarkan sejumlah proton-proton yang masuk ke dalam sitoplasma dengan menggunakan energi, tetapi lama-lama energi yang tersedia menjadi sangat berkurang dan tidak cukup untuk aktivitas dan sintesis komponen-komponen sel sehingga pertumbuhan sel mikroba lama-lama dapat terhambat bahkan berhenti (Fardiaz 1992). Kemampuan bakteri untuk mengeluarkan ion inilah yang dapat membedakan

kelompok bakteri tertentu dapat lebih tahan asam (pH rendah) atau tidak tahan asam. Gambar 4 menyajikan representasi isolat yang mampu tumbuh dengan uji pertumbuhan pada pH 3 dan pH 7.



**Gambar 4.** Uji pertumbuhan pada pH 3 (kiri) dan pH 7 (kanan). (a & c) sebagai kontrol, (b & d) hasil positif

Analisis biokimia pada 86 isolat bakteri meliputi uji Voges Proskauer, uji methyl red, uji hidrolisis pati, uji hidrolisis kasein, uji hidrolisis gelatin, uji fermentasi karbohidrat, uji oksidase, uji urease, uji katalase. Data analisis biokimia disajikan pada Lampiran 2, 3 dan 4.

Pada uji Voges Proskauer, seluruh isolat bereaksi positif, tetapi bereaksi negatif pada uji methyl red. Reaksi positif uji Voges Proskauer ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah pada medium setelah penambahan larutan KOH dan  $\alpha$ -naphthol (Helmich *et al.* 2001). Uji Voges Proskauer merupakan uji untuk mengetahui kemampuan mikroba dalam memproduksi nonasam atau netral dengan produk akhir seperti asetilmetilkarbinol dari asam-asam organik yang dihasilkan dari metabolisme glukosa (Hadioetomo 1993). Reaksi negatif dari uji methyl red dikarenakan bakteri tersebut tidak memiliki enzim *format hidrogenaliase* yang mampu memecah asam format dalam medium (Hadioetomo 1993). Hasil penelitian ini berbeda jika dibandingkan dengan hasil karakterisasi yang dilakukan oleh Puspitasari *et al.* (2002) yang memperoleh seluruh isolat bakteri (100%) bereaksi negatif pada uji Voges Proskauer dan uji methyl red yang berasal dari tanah daerah pengunungan. Gambar 5 menyajikan representasi isolat yang bereaksi positif pada uji Voges Proskauer.

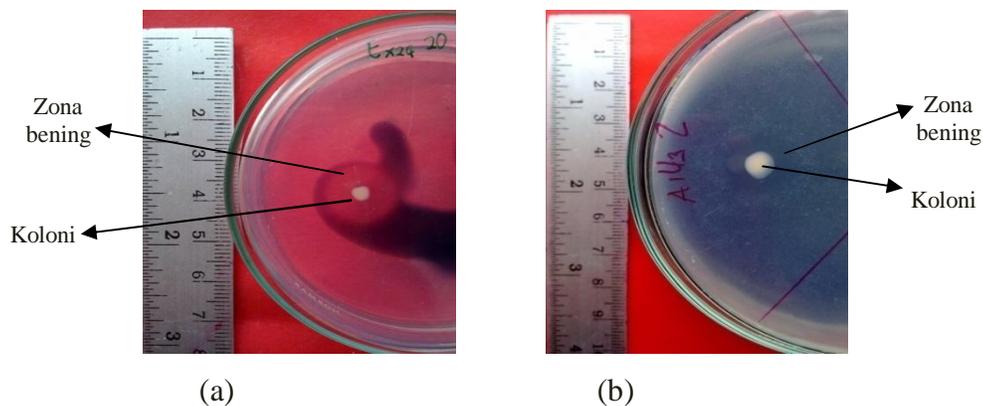


(a) (b)

**Gambar 5.** Uji Voges Prokauer, (a) reaksi positif (b) sebagai kontrol

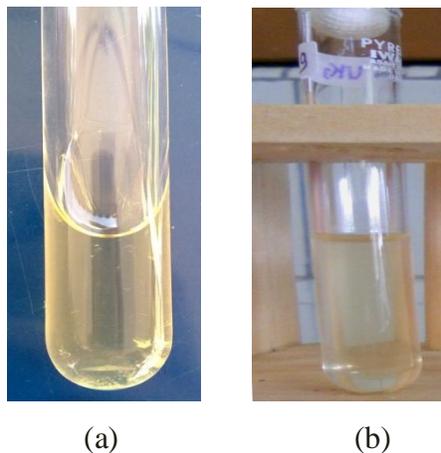
Pada uji hidrolisis pati, diperoleh sebanyak 2 isolat (2,3%) bereaksi positif yaitu Ex4a\_13 dan Ex3a\_6 dengan adanya zona bening disekitar koloni pada medium pati agar setelah ditetesi larutan iodin (Gambar 6a). Hal ini disebabkan bakteri menghasilkan enzim amilase yang mampu menghidrolisis pati menjadi molekul-molekul maltosa, glukosa dan dekstrin. Larutan iodin adalah indikator pati (Hadioetomo 1993).

Sebanyak 8 isolat (9,3%) bereaksi positif pada uji hidrolisis kasein, diantaranya dari lokasi ubi kayu sebanyak 2 isolat (2,3%), lahan gambut habis terbakar sebanyak 5 isolat (5,8%) dan lokasi hutan akasia 1 isolat (1,2%) dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni setelah waktu inkubasi selama 4 hari (Gambar 6b). Berdasarkan fungsi biologi, kasein termasuk golongan protein nutrien dan penyimpanan. Renin yaitu enzim yang menguraikan kasein dari susu termasuk dalam enzim yang menguraikan golongan protein sehingga disebut protease.



**Gambar 6.** Reaksi positif pada uji pati dan kasein. (a) uji pati (b) uji kasein

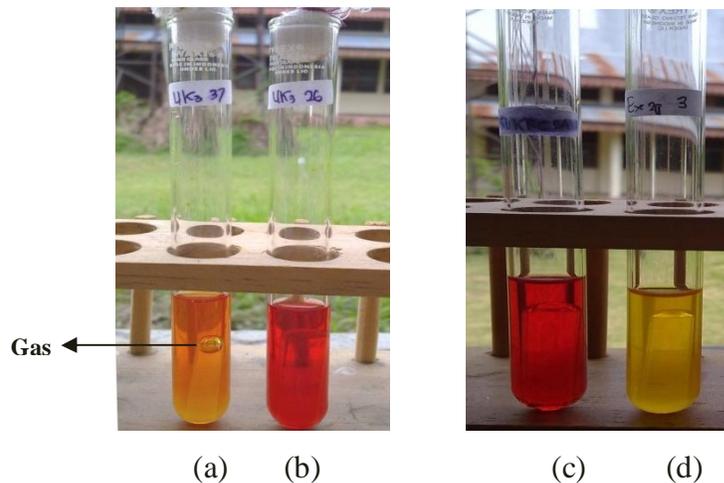
Pada uji hidrolisis gelatin, diperoleh sebanyak 52 isolat (60,5%) bereaksi positif diantaranya lokasi ladang ubi kayu sebanyak 18 isolat (21%), lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 28 isolat (32,5%) dan lokasi hutan akasia sebanyak 6 isolat (7%) dengan terjadinya pencairan gelatin pada dasar tabung (Collins *et al.* 2004). Hasil uji dapat dilihat pada Gambar 7. Gelatin yang telah dicerna tidak mampu membentuk gel dan bersifat cair. Kemampuan untuk mencernakan gelatin dapat digunakan dalam pencirian mikroba. Pada suhu 35°C, gelatin dapat mencair bila diinokulasi dengan mikroba yang mampu maupun yang tidak mampu mencairkan gelatin. Berdasarkan hal tersebut, gelatin harus dimasukkan dalam lemari es selama 30 menit untuk mengetahui kemampuan mikroba mencairkan gelatin (Lay 1994).



**Gambar 7.** Uji gelatin. (a) reaksi positif (b) reaksi negatif

Pada uji urease, diperoleh sebanyak 9 isolat (10,5%) bereaksi positif diantaranya dari lokasi ladang ubi kayu sebanyak 6 isolat (7%), lokasi lahan gambut habis terbakar sebanyak 2 isolat (2,3%) dan lokasi hutan akasia 1 isolat (1,2%) dengan perubahan warna medium dari kuning menjadi merah keunguan. Pada uji fermentasi karbohidrat, diperoleh sebanyak 29 isolat (34%) bereaksi positif pada uji fruktosa, 19 isolat (22,1%) pada uji glukosa, 21 isolat (24,4%) pada uji sukrosa, 9 isolat (10,5%) pada uji selobiosa, 10 isolat (11,6%) pada uji galaktosa, 35 isolat (40,7%) pada uji laktosa yang ditandai dengan berubahnya medium menjadi kuning (Tabel 1 dan Lampiran 2, 3, 4). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu memfermentasi monosakarida yang ditambahkan pada medium fermentasi. Jika di dalam tabung Durham terdapat gelembung udara berarti dari fermentasi tersebut terbentuk gas

seperti pada isolat UK<sub>3</sub>\_18, UK<sub>3</sub>\_37 dan Ex4a\_14. Sementara itu, pada uji fermentasi karbohidrat selobiosa, ornitin, asparagin, arginin, glisin dan 2-naftol, diperoleh seluruh isolat bereaksi negatif. Hal tersebut dikarenakan bakteri tidak mampu menghasilkan asam organik pada medium tersebut (Tortora *et al.* 1998). Gambar 8 menyajikan representasi isolat yang bereaksi positif pada uji fermentasi.



**Gambar 8.** Uji fermentasi. (a) reaksi positif dengan terbentuknya gas, (b & c) sebagai control, (d) reaksi positif tanpa adanya gas

Pada uji katalase, seluruh isolat bereaksi positif, tetapi bereaksi negatif pada uji oksidase. Reaksi positif uji katalase ditandai dengan adanya gelembung udara disekitar biakkan setelah ditetesi larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Katalase adalah enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) menjadi air dan oksigen (Lay 1994). Reaksi negatif pada uji oksidase menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memiliki enzim oksidase sitokrom yang mampu mengoksidasikan reagen oksidase (Irianto 2006).

## 5.2 Similaritas Bakteri Asal Cagar Biosfer GSK-BB

### 5.2.1. Analisis Similaritas Bakteri Lokasi Ladang Ubi Kayu

Analisis klustering terhadap 42 isolat bakteri yang terdiri dari 98 karakter morfologi, fisiologi dan biokimia menghasilkan dendogram dengan koefisien kemiripan *Simple Matching* (SM) berkisar antara 89 sampai 100% atau terdapat keanekaragaman morfologi sebesar 0 sampai 11% (Gambar 9). Pada koefisien kemiripan 91% dihasilkan enam kelompok utama yaitu kelompok I terdiri atas 4 isolat. Kelompok II terdiri atas 15 isolat. Kelompok III terdiri

atas 6 isolat. Kelompok IV terdiri atas 2 isolat. Kelompok V terdiri atas 14 isolat. Kelompok VI terdiri atas 1 isolat.

### **5.2.2 Analisis Similaritas Bakteri Lokasi Lahan Gambut Habis Terbakar**

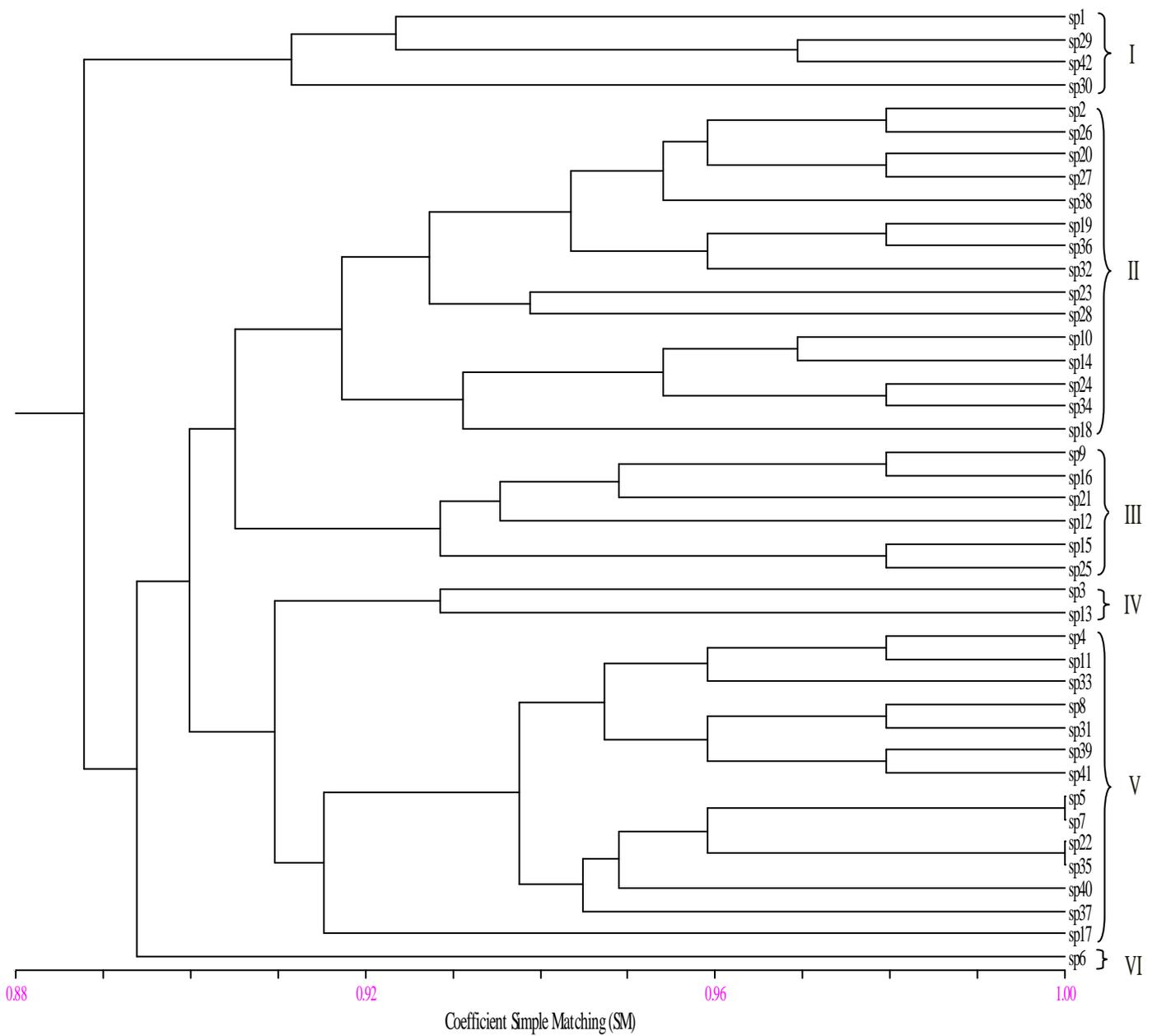
Analisis klustering terhadap 38 isolat bakteri yang terdiri dari 100 karakter morfologi, fisiologi dan biokimia menghasilkan dendogram dengan koefisien kemiripan *Simple Matching* (SM) berkisar antara 86 sampai 100% atau terdapat keanekaragaman morfologi sebesar 0 sampai 14% (Gambar 10). Pada koefisien kemiripan 89% dihasilkan empat kelompok utama yaitu kelompok I terdiri atas 11 isolat. Kelompok II terdiri atas 19 isolat. Kelompok III terdiri atas 4 isolat. Kelompok IV terdiri atas 4 isolat.

### **5.2.3 Analisis Similaritas Bakteri Lokasi Hutan Akasia**

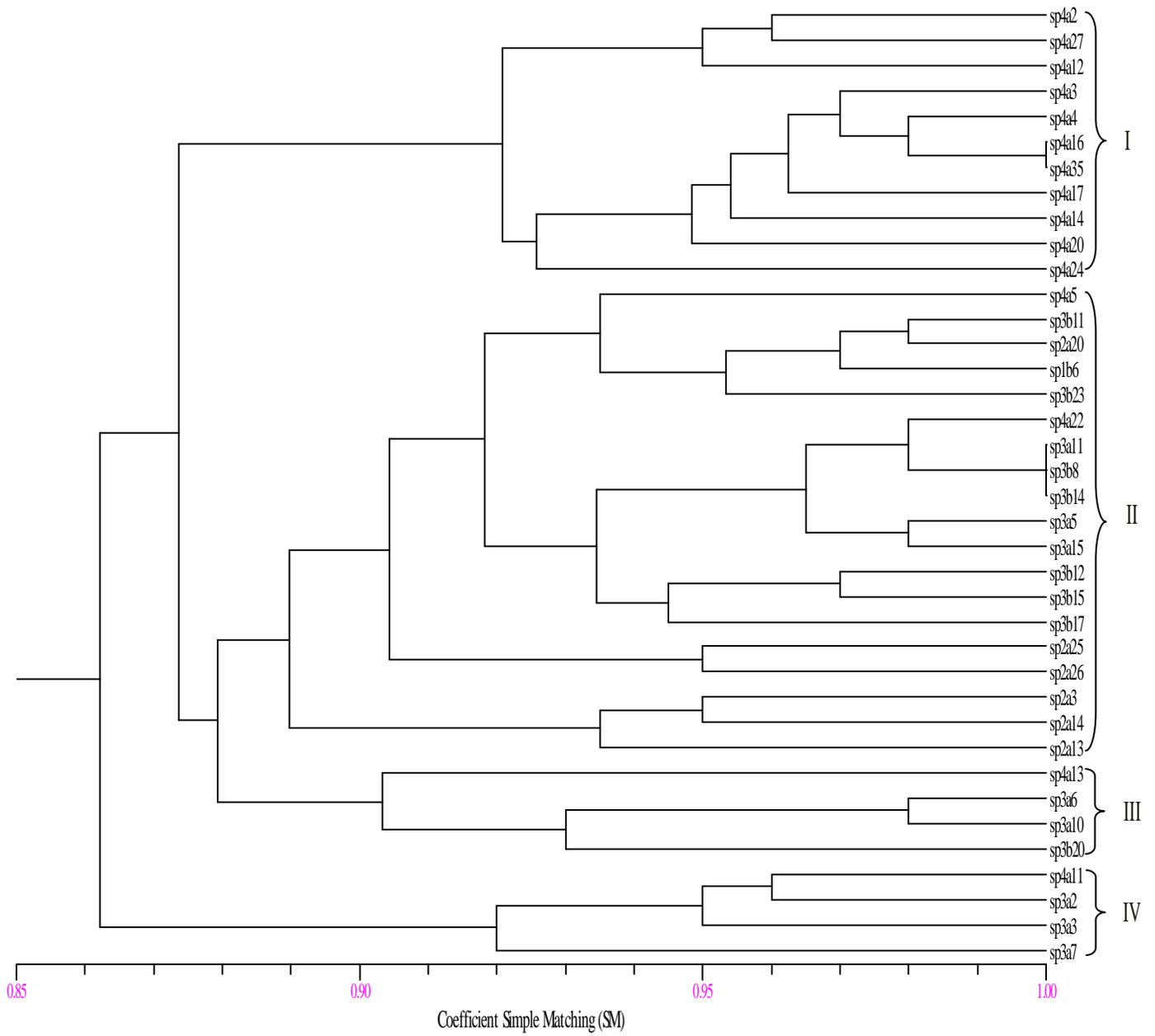
Analisis klustering terhadap 6 isolat bakteri yang terdiri dari 99 karakter morfologi, fisiologi dan biokimia dendogram dengan koefisien kemiripan *Simple Matching* (SM) berkisar antara 86 sampai 98% atau terdapat keanekaragaman morfologi sebesar 2 sampai 14% (Gambar 11). Pada koefisien kemiripan 89% dihasilkan 2 kelompok utama yaitu kelompok I terdiri atas 5 isolat. Kelompok II terdiri atas 1 isolat.

### **5.2.4. Analisis Similaritas Bakteri Dari Tiga Lokasi**

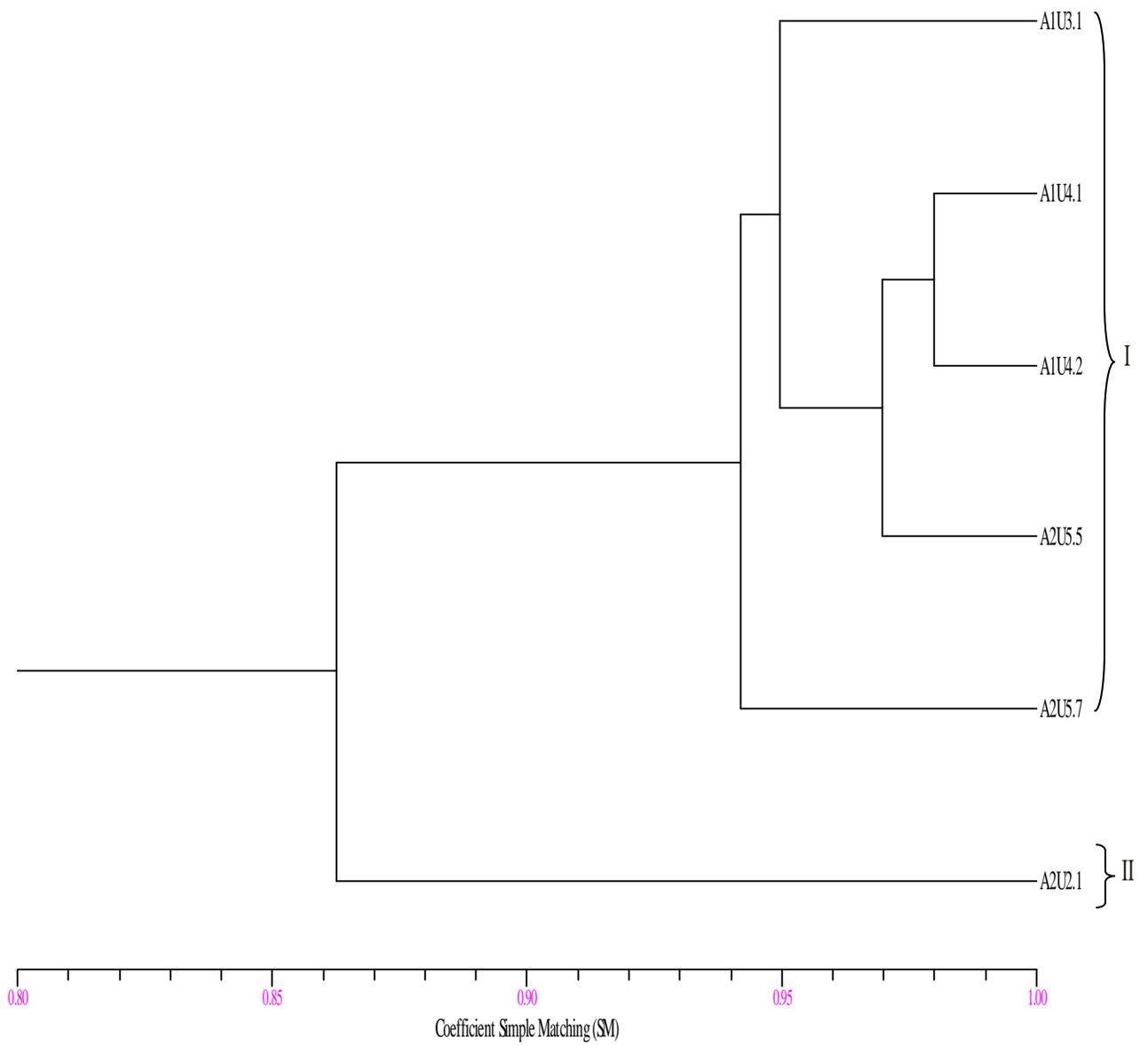
Analisis klustering terhadap 86 isolat bakteri yang terdiri dari 96 karakter morfologi, fisiologi dan biokimia dendogram dengan koefisien kemiripan *Simple Matching* (SM) berkisar antara 85% sampai 100% atau terdapat keanekaragaman morfologi sebesar 0 sampai 15% (Gambar 12). Pada koefisien kemiripan 88% dihasilkan lima kelompok utama yaitu kelompok I terdiri atas 44 isolat. Kelompok II terdiri atas 29 isolat, kelompok III terdiri atas 5 isolat, kelompok IV terdiri atas 4 isolat dan kelompok V terdiri atas 2 isolat.



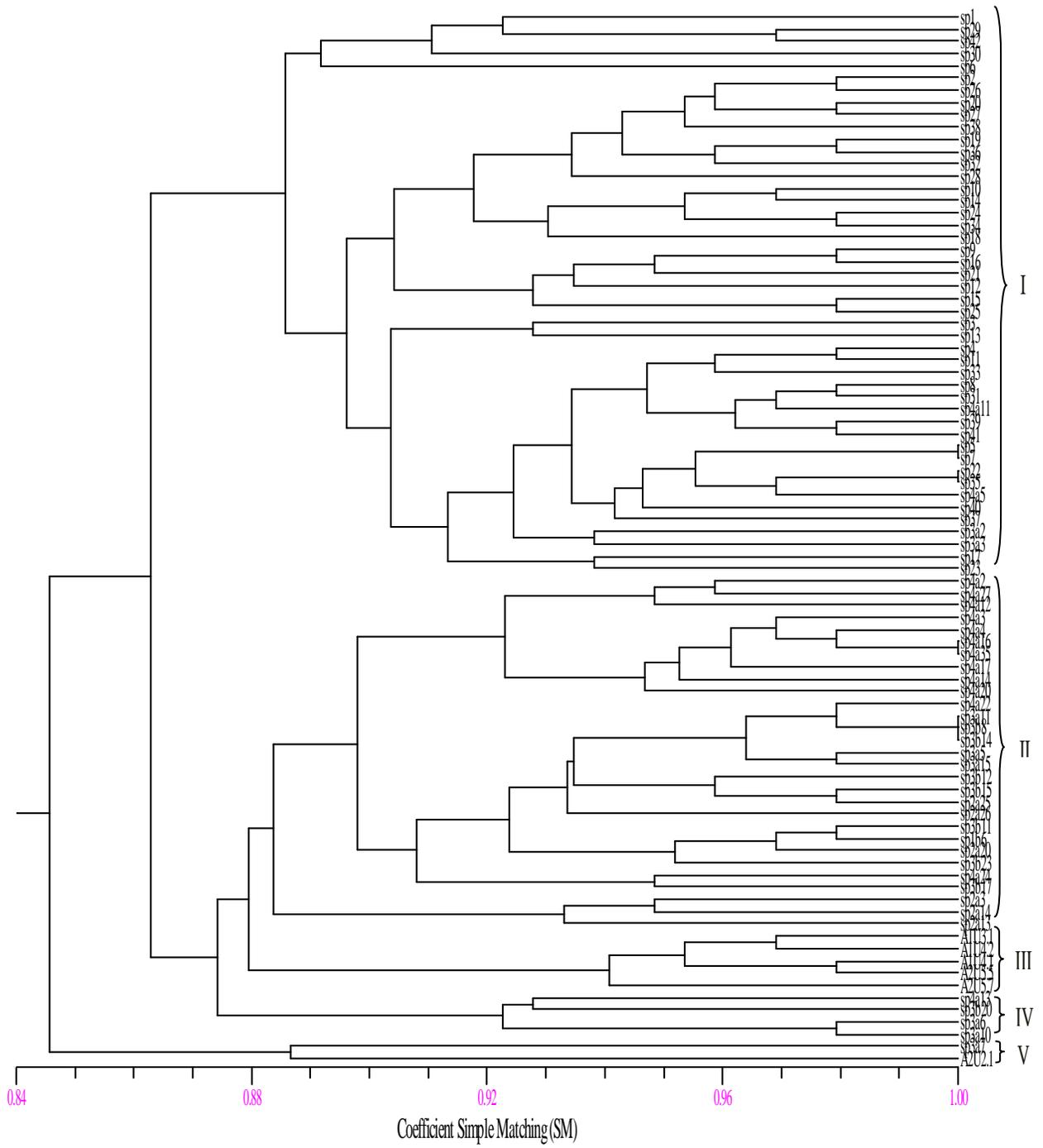
**Gambar 9.** Dendogram 42 isolat bakteri lokasi ladang ubi kayu asal Cagar Biosfer GSK-BB



**Gambar 10.** Dendogram 38 isolat bakteri lokasi lahan gambut habis terbakar asal Cagar Biosfer GSK-BB



**Gambar 11.** Dendrogram 6 isolat bakteri lokasi hutan akasia asal Cagar Biosfer GSK-BB



**Gambar 12.** Dendrogram 86 Isolat Bakteri Dari Tiga Lokasi Asal Cagar Biosfer GSK-BB

Hasil analisis kluster berdasarkan kemiripan morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri mampu memisahkan 86 isolat asal Cagar Biosfer GSK-BB tetapi tidak semua dapat mengelompok berdasarkan asalnya. Terpisahnya hubungan kekerabatan isolat bakteri asal Cagar Biosfer GSK-BB yaitu sp3a\_7 dan A<sub>2</sub>U<sub>2.1</sub> dengan isolat bakteri lainnya pada koefisien kemiripan 85% disebabkan oleh adanya beberapa karakter bakteri yang sama-sama dimiliki oleh isolat bakteri sp3a\_7 dan A<sub>2</sub>U<sub>2.1</sub> dibanding isolat bakteri lainnya. Persamaan karakter-karakter bakteri yang dimiliki oleh isolat bakteri sp3a\_7 dan A<sub>2</sub>U<sub>2.1</sub> yaitu, warna koloni, bentuk morfologi sel dan sifat nonmotil. Karakter bakteri yang menyebabkan kekerabatan antar bakteri di Cagar Biosfer GSK-BB pada koefisien kemiripan 85% adalah karakter bentuk koloni, ukuran koloni, elevasi koloni, tepian koloni, konsistensi, warna koloni, faktor pertumbuhan pada berbagai variasi pH, suhu dan konsentrasi NaCl, morfologi sel, sifat motilitas dan analisis biokimia.

### 5.3. Indeks Keanekaragaman dan Kemerataan Bakteri Asal Cagar Biosfer GSK-BB

Indeks keanekaragaman dan indeks kemerataan bakteri asal Cagar Biosfer GSK-BB pada lokasi ladang ubi kayu, lahan gambut habis terbakar dan hutan akasia seperti disajikan pada Tabel 2 (Analisis pengukuran disajikan pada Lampiran 5, 6, 7).

**Tabel 2.** Indeks keanekaragaman dan kemerataan bakteri tanah pada berbagai lokasi di Cagar Biosfer GSK-BB

Lokasi	H'	E
Hutan Sekunder	3,62	0,98
Kebun Ubi Kayu	3,67	0,98
Lahan Bekas Terbakar	3,51	0,96
Hutan Akasia	1,56	0,87
Kebun Sawit	2,61	0,96
Kebun Karet	1,95	1

**Keterangan:** H'=indeks keanekaragaman dan E=indeks kemerataan

Indeks keanekaragaman bakteri asal Cagar Biosfer GSK-BB berkisar antara 1,56 hingga dan 3,67. Nilai indeks keanekaragaman pada lokasi hutan akasia tergolong sedang yaitu 1,56. Berdasarkan Kusmana *dalam* Yunasfi (2006) indeks keanekaragaman rendah jika nilainya H'

$< 1$ , sedang jika nilainya  $H' 1-3$  dan tinggi jika nilainya  $H' 3 >$ . Dari data, tampak kecenderungan bahwa lokasi yang telah mengalami alih fungsi lahan mengalami penurunan keanekaragaman, terutama pada lokasi hutan akasia, kebun sawit dan kebun karet. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya, dimana nilai indeks keanekaragaman bakteri pada ekosistem yang dianggap kontrol bernilai 4.33, namun setelah ekosistem terkontaminasi seng nilai  $H'$  turun menjadi 3.91 (Hill *et al.* 2003).

Menurut Barbour *et al.* (1987), indeks keanekaragaman spesies merupakan informasi penting tentang suatu komunitas. Semakin luas areal sampel dan semakin banyak spesies yang dijumpai, maka nilai indeks keanekaragaman spesies cenderung akan lebih tinggi. Nilai indeks keanekaragaman yang relatif rendah umum dijumpai pada komunitas yang telah mencapai klimaks. Menurut Grey dalam Nasution (1995) nilai keanekaragaman dipengaruhi oleh kompetisi antar spesies akibat perubahan lingkungan dan perubahan waktu atau karena banyaknya relung ekologi dan adaptasi mekanisme (Dykhuisen 1998) yang disebabkan oleh tingginya fungsional kelimpahan bakteri tanah (Griffiths *et al.* 2001). Keanekaragaman spesies sendiri juga erat kaitannya dengan kondisi fisika dan kimia tempat hidupnya. Nilai indeks keanekaragaman menunjukkan tingkat kestabilan suatu komunitas (Carriker 1967).

Dari Tabel 2 juga dapat dilihat bahwa nilai indeks kemerataan jenis bakteri tanah di GSK-BB tergolong tinggi. Hasil nilai dari indeks kemerataan jenis bakteri tanah di GSK-BB yaitu berkisar antara 0,87 – 1. Berdasarkan Krebs (1989) indeks keragaman rendah jika nilainya  $0 < 0,4$ , sedang jika nilainya  $0,4 < E < 0,6$  dan tinggi jika nilainya  $E > 0,6$ . Perbedaan pada setiap lokasi penelitian sangat kecil, dengan demikian spesies bakteri yang hidup pada kondisi lingkungan yang berbeda relatif sama ditinjau dari aspek jumlah spesies dan penyebaran bakteri dalam komunitas tersebut (Krebs 1978). Jika dibandingkan dengan peneliti sebelumnya, nilai indeks kemerataan bakteri pada ekosistem yang diukur dengan komunitas bakteri  $H'$  kontrol 0,90, namun setelah tanah terkontaminasi seng nilai indeks kemerataan menjadi 0,87 (Hill *et al.* 2003).

Indeks keanekaragaman dan indeks kemerataan merupakan dua hal yang berbeda. Menurut Barbour *et al.* (1987) adakalanya kekayaan spesies berkorelasi positif dengan keanekaragaman spesies, namun kondisi lingkungan di sepanjang wilayah penelitian bersifat homogen, sehingga penurunan kekayaan spesies dapat disertai dengan penurunan keanekaragaman. Hal ini sangat tidak memungkinkan karena jumlah individu pada setiap

lokasi tidak bervariasi. Kemerataan akan menjadi minimum dan heterogen jika semua spesies mempunyai jumlah individu yang berbeda pada setiap lokasi penelitian. Fenomena demikian sangat jarang terjadi di alam, karena setiap spesies mempunyai kemampuan untuk beradaptasi dan toleransi, serta pola sejarah hidup (*life history pattern*) yang berbeda-beda.

## **5.4 Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik**

### **5.4.1 Koleksi Bakteri Selulolitik**

Total jumlah isolat selulolitik yang diperoleh dari Cagar Biosfer GSK-BB pada kegiatan tahun II adalah 571 isolat. Sembilan puluh empat isolat bakteri selulolitik diperoleh dari hasil isolasi metode *pour plate* ulangan pertama, dan pada ulangan kedua diperoleh 477 isolat (Lampiran 8). Banyaknya isolat bakteri selulolitik yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian tahun I, dimana total populasi bakteri selulolitik di Cagar Biosfer GSK-BB cukup tinggi yang berkisar antara  $0,14 \times 10^5$  -  $5,4 \times 10^5$  CFU/g tanah.

Jumlah isolat hasil isolasi *pour plate* pertama jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil isolasi *pour plate* ulangan kedua. Pada hasil isolasi *pour plate* pertama hanya beberapa lokasi yang berhasil menampakkan isolat yang menghasilkan zona bening di sekitar koloni. Lokasi tersebut antara lain: lokasi kebun karet Sepahat I, lokasi ladang ubi kayu, lokasi kebun sawit Temiang, lokasi lahan karet Temiang, lokasi hutan akasia umur 5-6 tahun, lokasi hutan alami dan lokasi hutan karet Bukit Batu. Pada hasil isolasi *pour plate* ulangan kedua, keseluruhan sampel tanah menghasilkan isolat dengan zona bening di sekitar koloni. Zona bening yang tampak disekitar koloni menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim selulase. Kemampuan mikroba untuk memproduksi enzim selulase menjadikannya mampu menghidrolisis selulosa yang terdapat pada medium sebagai sumber karbon yang dipergunakan untuk pertumbuhannya (Zverlova *et al.* 2003).

Isolasi bakteri selulolitik dengan metode *spread plate* juga dilakukan pada 17 sampel tanah dari Cagar Biosfer GSK-BB (selain sampel yang dianalisis untuk pengukuran aktivitas dan keanekaragaman mikroba, beberapa sampel tanah diperoleh dari grup Ekologi yang juga melakukan di area yang sama). Hasil isolasi metode tersebut tidak menghasilkan satu koloni-pun yang menampakkan zona bening.

#### 5.4.2 Hasil Seleksi Bakteri Selulolitik dari Cagar Biosfer GSK-BB

Seleksi bakteri selulolitik dilakukan pada seluruh isolat bakteri hasil isolasi kegiatan tahun II dan isolat dari kegiatan tahun I. Total keseluruhan bakteri selulolitik dari Cagar Biosfer GSK-BB yang diseleksi adalah 1346 isolat, dimana 421 isolat diperoleh dari koleksi kegiatan tahun I dan sisanya dari kegiatan tahun II dengan rincian 94 isolat dari hasil isolasi metode *pour plate* ulangan pertama, 477 isolat dari hasil isolat dari isolasi metode *pour plate* ulangan 2 dan 354 isolat dari hasil isolasi metode *spread plate*.

Keseluruhan isolat disubkultur pada medium CCRA, dan diperoleh 31,72% dari keseluruhan isolat merupakan bakteri selulolitik; 20,80% merupakan mikroba selulolitik selain bakteri; 11,14% adalah bakteri yang mampu tumbuh pada medium CCRA namun tidak menghasilkan zona bening. Koloni bakteri yang tidak mampu tumbuh pada medium CCRA saat disubkultur ulang sebesar 36,33 % dari keseluruhan isolat yang diseleksi. Hasil lebih lengkap disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah isolat yang tidak mampu tumbuh saat disubkultur ulang cukup tinggi, yaitu sebanyak 489 isolat. Fenomena ini terjadi karena selulosa merupakan polisakarida dengan struktur penyusun yang kompleks terdiri dari selulosa amorph dan kristal, serta dibutuhkannya tiga enzim selulase untuk merubah selulosa menjadi glukosa (Mulcahy 1996). Pada medium CCRA, selulosa yang digunakan merupakan selulosa mikrokristalin 20  $\mu\text{m}$  (Sigma) (Hendrik 1995), sehingga bakteri yang tumbuh pada medium ini membutuhkan enzim ekso-1,4- $\beta$ -glukonase yang berfungsi memotong ujung rantai oligo-sakarida menjadi selobiosa (Meryandini *et al.* 2009). Selobiosa adalah dua molekul glukosa yang berikatan secara  $\beta$ -1,4-glukosidik (Meryandini *et al.* 2009). Substrat selulosa yang berbentuk kristal sulit didegradasi, hal ini terbukti pada hasil penelitian Meryandini *et al.* (2009), dimana aktivitas selulase pada bakteri selulolitik lebih tinggi pada substrat selulosa berbentuk amorphous (CMC) bila dibandingkan dengan substrat selulosa berbentuk kristal (avisel). Dengan demikian bakteri dari Cagar Biosfer GSK-BB yang tidak mampu tumbuh pada media CCRA merupakan bakteri yang tidak mampu mensekresikan enzim ekso-1,4- $\beta$ -glukonase.

Pertumbuhan mikroba mengalami fase pertumbuhan adaptasi, logaritmik, stasioner dan fase kematian. Fase adaptasi adalah fase untuk melakukan penyesuaian dengan substrat dan kondisi lingkungan sekitar (Supriyanto dan Wahyudi 2010). Lamanya ( $\pm$  6 bulan) penyimpanan isolat pada pendingin, menyebabkan isolat tersebut membutuhkan waktu yang

lama pada fase adaptasi saat disubkultur ulang. Keadaan ini menyebabkan sebagian besar isolat tidak dapat beradaptasi, sehingga isolat tidak mengalami peningkatan fase pertumbuhan yang mengakibatkan tidak terbentuknya koloni saat disubkultur. Oleh sebab itu, persentase kultur bakteri tidak mampu tumbuh pada koleksi isolat sangat tinggi.

Hasil seleksi menunjukkan bahwa adanya mikroba lain yang tumbuh pada medium CCRA. Mikroba ini merupakan kelompok dari jamur selulolitik, dimana jamur ini dapat membentuk zona bening dan ada pula yang tidak dapat membentuk zona bening. Total keseluruhan jamur pada hasil seleksi sebesar 280 isolat. Isolat jamur selulolitik tersebut berasal dari koleksi isolat kegiatan tahun I sebanyak 86 isolat, hasil isolasi metode *spread plate* sebanyak 160 isolat, 32 isolat dari hasil isolasi metode *pour plate* 2, dan 2 isolat berasal dari hasil isolasi *pour plate* 1. Selain bakteri, jamur merupakan salah satu mikroba yang mampu mendegradasi selulosa. Beberapa kelompok jamur yang mampu mendegradasi selulosa adalah *Trikordema*, *Penicillium* dan *Mucor* (Kusnadi *et al.* 2009). Tumbuhnya jamur pada medium CCRA karena medium ini juga dapat digunakan untuk menumbuhkan jamur selulolitik (Hendrik 1995).

#### **5.4.3 Jumlah Koleksi Isolat Selulolitik Berdasarkan Lokasi Pengambilan Sampel**

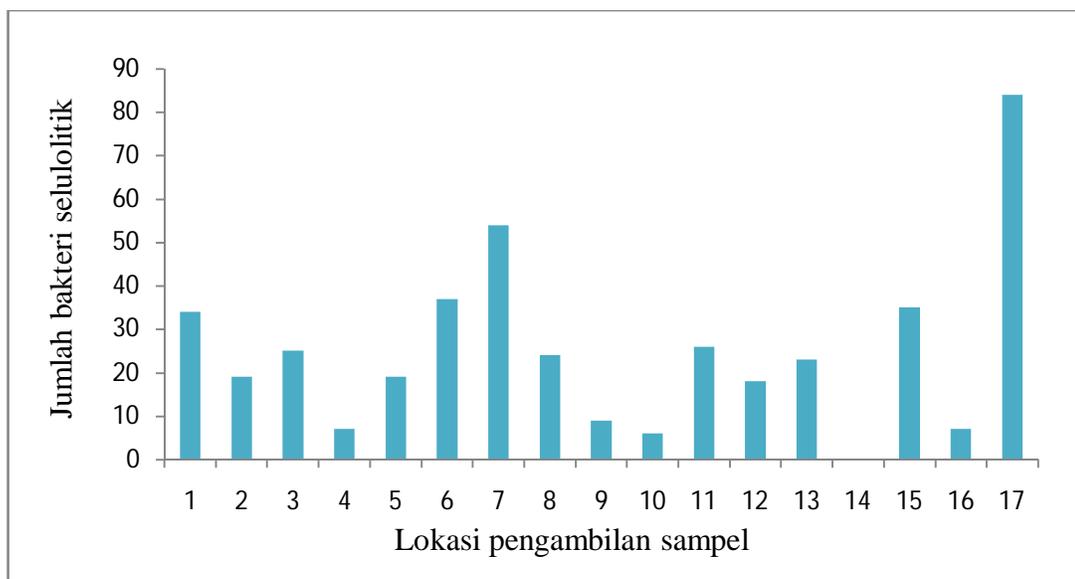
Gambar 13 menyajikan jumlah koleksi bakteri selulolitik dari 17 belas lokasi sampel tanah di Cagar Biosfer GSK-BB. Jumlah bakteri selulolitik terbanyak terdapat pada lokasi ladang ubi kayu yaitu 84 isolat dan terendah pada lokasi lahan gambut bekas terbakar Sepahat yaitu 6 isolat, sedangkan pada lokasi hutan akasia umur 4 tahun bakteri selulolitik tidak berhasil dikoleksi. Lokasi hutan karet Bukit Batu menempati posisi kedua dengan jumlah bakteri selulolitik sebanyak 52 isolat, kemudian diikuti oleh lokasi lainnya.

Berdasarkan hasil penelitian tahun I dan II, ladang ubi kayu merupakan lahan gambut saprik. Gambut saprik adalah gambut yang sudah melapuk lanjut dan bahan dasarnya sulit dikenali, berwarna coklat tua sampai hitam (Agus dan Subiksa 2008), kandungan bahan organik kasar pada gambut saprik kurang dari 1/3 (Hardjowigeno 1996 *cit* Muthalib *et al.* 1991). Gambut saprik memiliki ketersediaan unsur hara yang lebih tinggi dan berat volume lebih besar dari gambut kasar (Hardjowigeno 1996 *cit* Muthalib *et al.* 1991). Ketersediaan unsur yang tinggi pada tanah gambut saprik merupakan salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri ataupun mikroba tanah. Oleh sebab itu, pada lokasi ladang ubi kayu banyak ditemukan bakteri selulolitik.

**Tabel 3.** Tabulasi bakteri selulolitik hasil isolasi dari tanah gambut di Cagar Biosfer GSK-BB

No	Kode	Mikroba selulolitik				Bakteri tanpa zona bening		Koloni bakteri tidak tumbuh		Jumlah
		Bakteri		Selain bakteri		$\Sigma$	Persentase (%)	$\Sigma$	Persentase (%)	
		$\Sigma$	Persentase (%)	$\Sigma$	Persentase (%)					
1	Isolat bakteri selulolitik (koleksi tahun I)	84	6,24	86	6,39	0	0	251	18,65	421
2	Isolat bakteri selulolitik metode <i>pour plate</i> ulangan 1 (koleksi tahun II)	10	0,74	2	0,15	22	1,63	60	4,46	94
3	Isolat bakteri selulolitik metode <i>pour plate</i> ulangan 2 (koleksi tahun II)	328	24,37	32	2,38	61	4,53	56	4,16	477
4	Isolat bakteri selulolitik metode <i>spread plate</i> (koleksi tahun II)	5	0,37	160	11,88	67	4,98	122	9,06	354
Jumlah		427	31,72	280	20,80	150	11,14	489	36,33	<b>1346</b>

Pohon karet merupakan jenis kayu lunak (*softwood*) yang mengandung 45-50 % selulosa (Glazer dan Nikaido 2007). Tingginya kandungan selulosa pada pohon karet mempengaruhi kandungan selulosa pada tanah di sekitar pohon karet tersebut. Kayu dan ranting karet yang telah lapuk serta daun tua akan jatuh ke tanah di sekitar pohon karet, sehingga akan meningkatkan akumulasi selulosa dalam tanah di sekitar areal pohon karet. Tersedianya selulosa dalam tanah di sekitar pohon karet, merupakan faktor penentu keberadaan bakteri selulolitik pada tanah tersebut. Oleh sebab itu, bakteri selulolitik juga banyak ditemukan di lokasi karet, khususnya pada lokasi hutan karet Bukit Batu.



**Gambar 13.** Jumlah koleksi bakteri selulolitik pada lokasi pengambilan sampel di Cagar Biosfer GSK-BB. 1. hutan alami, 2. hutan sekunder, 3. kebun kelapa sawit Sepahat, 4. kebun kelapa sawit Temiang, 5. kebun kelapa sawit Tanjung Leban, 6. kebun karet Temiang, 7. hutan karet Bukit Batu, 8. kebun karet Sepahat II, 9. kebun karet Sepahat I I, 10. lahan gambut habis terbakar Sepahat, 11. lahan gambut habis terbakar Temiang, 12. hutan akasia umur 1 tahun, 13. hutan akasia umur 3 tahun, 14. hutan akasia umur 4 tahun, 15. hutan akasia 5 tahun, 16. hutan akasia umur 5-6 tahun dan 17. ladang ubi kayu

Jumlah bakteri selulolitik pada lokasi karet dipengaruhi oleh usia karet yang tumbuh pada lokasi tersebut. Lokasi karet Bukit Batu dengan usia karet 60 tahun memiliki jumlah bakteri selulolitik 52 isolat, lokasi karet Temiang dengan usia karet 30 tahun memiliki 31 isolat, lokasi karet Sepahat dengan usia karet 7 tahun memiliki 24 isolat. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tua usia karet pada lokasi sampel maka semakin banyak bakteri selulolitik yang ditemukan, terkecuali pada lokasi karet Sepahat I. Hal serupa juga tampak pada lokasi

akasia umur 5 tahun, 3 tahun dan 1 tahun. Kecenderungan antara umur vegetasi pada lokasi pengambilan sampel dengan jumlah bakteri selulolitik terjadi karena adanya peningkatan kandungan selulosa pada tanaman tersebut. Semakin tua usia tanaman maka semakin tinggi kandungan selulosa yang disebabkan oleh penebalan dinding sel tanaman berupa selulosa, hemiselulosa dan lignin (Siregar 1973 *cit* Syarifuddin 2000).

Bakteri selulolitik tidak dijumpai pada lokasi akasia umur 4 tahun. Hal ini dikarenakan sampel tanah lokasi ini hanya digunakan pada isolasi *pour plate* ulangan pertama dan tidak dilakukan pada tahap isolasi *pour plate* ulangan ke-2 dan isolasi *spread plate*. Hasil isolasi *pour plate* ulangan pertama lokasi hutan akasia umur 4 tahun menunjukkan bahwa tidak satu pun dari koloni yang tumbuh dapat membentuk zona bening (Lampiran 8). Oleh sebab itu, pada lokasi ini tidak berhasil dikoleksi isolat bakteri selulolitik. Sementara rendahnya jumlah bakteri selulolitik yang ditemukan pada lokasi lahan habis terbakar Sepahat dikarenakan tanah pada sampel ini telah mengalami berbagai perubahan akibat dari kebakaran yang terjadi pada lokasi ini, hasil ini sesuai dengan Certini (2005). Menurut Certini (2005) kebakaran hutan menyebabkan hilangnya bahan organik pada tanah, merusak struktur dan porositas tanah, menghilangkan nutrisi mengubah jumlah dan komposisi tertentu mikroba dan komunitas invertebrata tanah.

#### **5.4.4 Sebaran Bakteri Selulolitik Berdasarkan Aktivitas Selulase Secara Semikuantitatif**

Berdasarkan analisis uji nilai tengah (Sudjana 2002), rasio zona bening isolat bakteri selolitik dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu kriteria tinggi, sedang dan rendah. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni ini, menggambarkan adanya aktivitas enzim selulolitik pada koloni bakteri yang dapat dilihat secara semikuantitatif (Saraswati *et al.* 2006 dan Zverlova *et al.* 2003). Zverlova *et al.* (2003) menyatakan bahwa zona bening yang terbentuk terkait dengan kelarutan dari enzim selulase, semakin tinggi tingkat kelarutan suatu enzim maka akan semakin besar zona bening yang terbentuk. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa kisaran nilai rasio zona bening per diameter koloni menggambarkan kriteria aktifitas enzim selulase pada bakteri selulolitik.

Total keseluruhan bakteri selulolitik hasil seleksi yang berpotensi dalam mendegradasi selulosa adalah 427 isolat. Empat ratus dua puluh tujuh isolat ini diuji potensinya dalam mendegradasi selulosa pada medium CCRA dengan masa inkubasi 8 dan 15 hari, dan dihitung rasio zona bening yang terbentuk.

#### 5.4.4.1 Kriteria Bakteri Selulolitik Berdasarkan Aktivitas dengan masa inkubasi 8 hari

Analisis enzim secara semikuantitatif pada 328 isolat bakteri selulolitik dengan masa inkubasi 8 hari menghasilkan kisaran zona bening 1,1 sampai dengan 16,45. Rasio zona bening tertinggi (16,45) dihasilkan oleh isolat bakteri selulolitik yang berasal dari lokasi hutan akasia umur 5 tahun dengan kode isolat A5\_PP2.10<sup>-4b</sup>4 (Lampiran 9). Secara semikuantitatif, isolat ini merupakan isolat bakteri selulolitik yang memiliki aktifitas enzim selulase tinggi, hal ini sesuai dengan penelitian Meryandini *et al* (2009) dan Gupta *et al.* (2010).

Meryandini *et al* (2009) menguji aktivitas selulase pada berbagai substrat (jerami, tongkol jagung dan kulit pisang) dengan menggunakan bakteri selulolitik yang menghasilkan zona bening pada medium CMC dan hasil menunjukkan bahwa bakteri ini mampu mendegradasi berbagai substrat selulosa tersebut. Hasil penelitian Gupta *et al.* (2010) menunjukkan bahwa isolat bakteri selulolitik yang memiliki rasio zona bening tinggi menghasilkan enzim endoglukonase yang cukup tinggi pula.

Tabel 4 menyajikan representasi kriteria isolat bakteri selulolitik berdasarkan rasio zona bening, dimana hasil analisis menunjukkan bahwa diperoleh 88 isolat bakteri selulolitik berkriteria tinggi dalam mendegradasi selulosa, dengan rasio berkisar antara 7,49-16,45. Total isolat berkriteria sedang dan rendah berturut-turut, yaitu 165 isolat dan 75 isolat. Sebagian besar rasio zona bening yang dihasilkan pada hasil penelitian ini lebih besar jika dibandingkan dengan peneliti sebelumnya yaitu Nurkanto (2007), Hatami (2008) dan Ambriyanto (2010).

**Tabel 4.** Kriteria aktifitas bakteri selulolitik dari 328 isolat dengan masa inkubasi 8 hari

Kriteria	Rasio Z/K	Jumlah isolat	Persentase dari total isolat (%)
Tinggi	>7,49	88	26,83
Sedang	3,87 – 7,49	165	50,3
Rendah	<3,87	75	22,86
Jumlah		328	100

Pada tahun 2007 Nurkanto berhasil mengidentifikasi aktinomesetes pada tanah hutan pasca kebakaran Bukit Bingkirai Kalimantan Timur dan memperoleh 35 isolat aktinomisetes yang mampu mendegradasi selulosa dengan rasio yang diperoleh 1,14-2,5 dengan rata-rata rasio zona bening 1,59. Sedikit berbeda dengan Nurkanto (2007), Hatami (2008) mengisolasi bakteri selulolitik dari tanah pertanian dan hutan di Iran. Rasio zona bening yang diperoleh Hatami (2008) berkisar antara 0,15-4,00, dengan rata-rata zona bening 2,1 pada tanah

pertanian dan 1,6 pada tanah hutan. Selain itu, isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik juga dilakukan oleh Ambriyanto (2010), dimana diperoleh rasio zona bening terbesar 3,7 dan terendah sebesar 1,1.

Bakteri selulolitik yang diuji dalam mendegradasi selulosa dengan masa inkubasi 8 hari ini, merupakan bakteri selulolitik yang belum dipurifikasi. Ada kemungkinan isolat ini terdiri lebih dari satu bakteri dalam satu koloni. Koloni mikroba yang terdiri dari beberapa mikroba disebut dengan istilah konsorsium. Tingginya rasio zona bening dari isolat pada masa inkubasi 8 hari mungkin disebabkan bakteri selulolitik tersebut bersifat konsorsium. Hubungan antar bakteri pada sistem konsorsium tidak saling mengganggu, tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi (Prakash *et al.* 2003). Dalam aplikasi degradasi selulosa di alam, bakteri selulolitik konsorsium lebih efektif dibandingkan bakteri selulolitik tunggal (Wahyuni 2010, Kato *et al.* 2004).

#### **5.4.4.2 Kriteria Bakteri Selulolitik Berdasarkan Aktifitas dengan masa inkubasi 15 hari**

Isolat bakteri selulolitik yang diuji dengan masa inkubasi 15 hari adalah 99 isolat yang dipurifikasi (Tabel 5 dan Lampiran 5). Sebanyak 36,36% isolat mempunyai aktivitas enzim selulase tinggi dengan rasio  $> 1,63$ ; sebanyak 38,38% merupakan isolat yang mempunyai aktivitas enzim selulase sedang dengan rasio 1,35-1,63 dan 25,35% merupakan isolat yang mempunyai aktivitas enzim selulase rendah dengan rasio  $< 1,35$ . Isolat yang diperoleh pada penelitian ini sebagian besar merupakan isolat yang mempunyai aktivitas selulolitik sedang, jika dilihat dari besarnya persentase jumlah bakteri selulolitik yang berkriteria sedang.

Kisaran rasio zona bening yang terbentuk pada isolat masa inkubasi 15 hari adalah 1,13-2,3 dengan rata-rata zona bening 1,55 (Lampiran 10). Rasio zona bening yang dihasilkan pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian Nurkanto (2007). Namun, jika dibandingkan dengan hasil Hatami (2008) dan Ambriyanto (2010), isolat ini merupakan isolat bakteri selulolitik yang berpotensi rendah dalam menghidrolisis selulosa.

Rendahnya kemampuan isolate dari kegiatan penelitian tahun I mungkin di sebabkan adanya perubahan viabilitas dan stabilitas sel, serta struktur genetik. Perubahan viabilitas, struktur genetik dan stabilitas pada isolat selulolitik tersebut karena penyimpanan stok kultur yang terlalu lama pada media padat (Kusmiati dan Priadi 2003), sehingga potensi kultur dalam mendegradasi selulosa menjadi rendah. Padahal saat isolasi tampak zona bening disekitar koloni.

**Tabel 5.** Kriteria aktifitas bakteri selulolitik dari 99 isolat dengan masa inkubasi 15 hari

Kriteria	Rasio Z/K	Jumlah isolat	Persentase dari total isolat (%)
Tinggi	>1,63	36	36,36
Sedang	1,35 – 1,63	38	38,38
Rendah	<1,35	25	25,35
Jumlah		99	100

## 5.5 Isolasi dan Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat

### 5.5.1. Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dari Cagar Biosfer GSK-BB

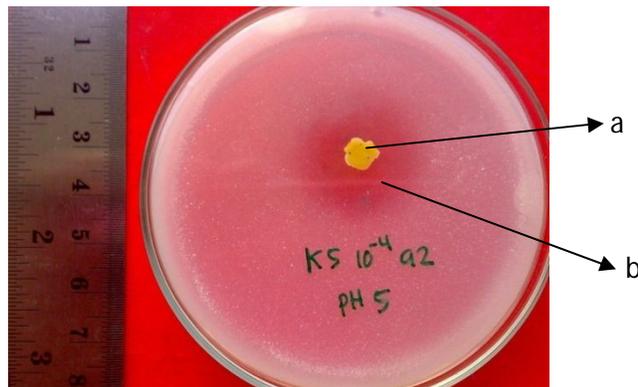
Isolasi BPF dilakukan sejak kegiatan tahun I, II, dan III. Total isolat BPF yang diperoleh adalah 244 isolat, dimana 123 isolat dari kegiatan tahun I, 99 isolat dari kegiatan tahun II dan 22 isolat dari kegiatan tahun III. Isolat BPF yang telah berhasil diisolasi menggunakan medium Pikovskaya. Selain menggunakan medium Pikovskaya yang sumber P berasal dari  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , Chang dan Yang (2009) menggunakan sumber P lainnya sebagai pengganti  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dengan menggunakan aluminum phosphate ( $\text{AlPO}_4$ ), iron phosphate ( $\text{FePO}_4$ ), hydroxyapatite (HA) dan *rock phosphate* (RP) dengan komposisi yang sama untuk 1000 ml medium Pikovskaya yang digunakan. Fitriatin *et al.* (2008) menggunakan substrat P organik berbeda untuk mengetahui pengaruh aktifitas enzim phosphatase yang dihasilkan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas mallei* terhadap kemampuan pelarutan P inorganik. Substrat organik yang digunakan yaitu phytic acid (*myo*-inositol heksakisphosphate), glycerophosphate disodium salt, phenyl phosphate dan  $\alpha$ -D-glucose 1-phosphate disodium salt. Media isolasi bakteri pelarut fosfat umumnya diperkaya dengan sumber karbon seperti glukosa, sumber nitrogen seperti yeast ekstrak dan sumber P seperti  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ .

Jumlah isolat yang berhasil diisolasi pada penelitian ini lebih banyak dibandingkan dengan penelitian yang lain. Penelitian Sitepu *et al.* (2007) mengisolasi 71 isolat pada medium NBRIP (*National Botanical Research Institute Phosphate*) dan setelah diseleksi hanya lima bakteri yang mampu melarutkan fosfat anorganik  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  yaitu *Erwinia* sp. CK10, *Roseateles* sp. CK15, *Rhizobium* sp. CK19, *Enterobacter* sp. CK23 dan *Erwinia* sp. CK24. Penelitian Fankem *et al.* (2006) berhasil mengisolasi BPF dari tanah rizosfir pohon kelapa sawit sebanyak 10 isolat dan diperoleh 6 isolat terseleksi yang mampu melarutkan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  pada medium *Nutrient Agar* (NA) yang diperkaya dengan berbagai sumber P yaitu  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{AlPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

### 5.5.2 Seleksi Bakteri Pelarut Fosfat

Keseluruhan isolat bakteri yang diseleksi merupakan hasil purifikasi isolat yang selanjutnya dilihat aktifitasnya secara semikuantitatif pada medium Pikovskaya melalui pembentukan zona bening dengan cara mengukur rasio diameter zona bening dan rasio diameter koloni bakteri pelarut fosfat. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu melarutkan fosfat tidak terlarut menjadi bentuk terlarut. Besar kecilnya diameter zona bening yang terbentuk dari masing-masing isolat berbeda. Hal ini disebabkan karena kemampuan melarutkan fosfat dari setiap isolat juga berbeda-beda.

Rasio Z/K terbesar dihasilkan oleh isolat bakteri kode E1  $10^{-4}$  b 3 yaitu sebesar 7,48. Rasio Z/K terkecil dihasilkan oleh isolat bakteri kode S2  $10^{-4}$  9 yaitu sebesar 1,03 (Lampiran 6). Jika dibandingkan dengan penelitian lainnya, maka aktivitas isolat BPF yang diperoleh lebih tinggi dan cukup potensial untuk dikembangkan. Suliasih dan Rahmat (2007) mendapatkan rasio zona bening tertinggi sebesar 1,35 dari isolat *Bacillus pantothenicus* yang diisolasi dari sampel tanah di kawasan Wamena Papua. Sementara peneliti Fankem *et al.* (2006) memperoleh BPF strain EDJ<sub>4</sub> asal rizosfir pohon kelapa sawit *Elaeis guineensis* dengan rasio Z/K tertinggi sebesar 2,33. Gambar 14 menyajikan representasi isolat BPF yang diperoleh.



**Gambar 14.** Bakteri pelarut fosfat yang membentuk zona bening disekitar koloni dalam medium *Pikovskaya* pH 5 hari ke 7 yang diinkubasi pada suhu ruang. a. koloni bakteri pelarut fosfat, b. zona bening disekitar koloni

### 5.5.3 Kriteria Bakteri Pelarut Fosfat Berdasarkan Aktivitas secara Semikuantitatif

Berdasarkan uji nilai tengah (Lampiran 11) terhadap rasio zona bening isolat (Z/K), isolat BPF yang diperoleh dibagi kedalam tiga kriteria yaitu kriteria tinggi, sedang dan rendah. Kriteria dan persentase isolat bakteri pelarut fosfat dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Kriteria rasio Z/K dan persentase isolat bakteri fosfat berdasarkan uji nilai tengah

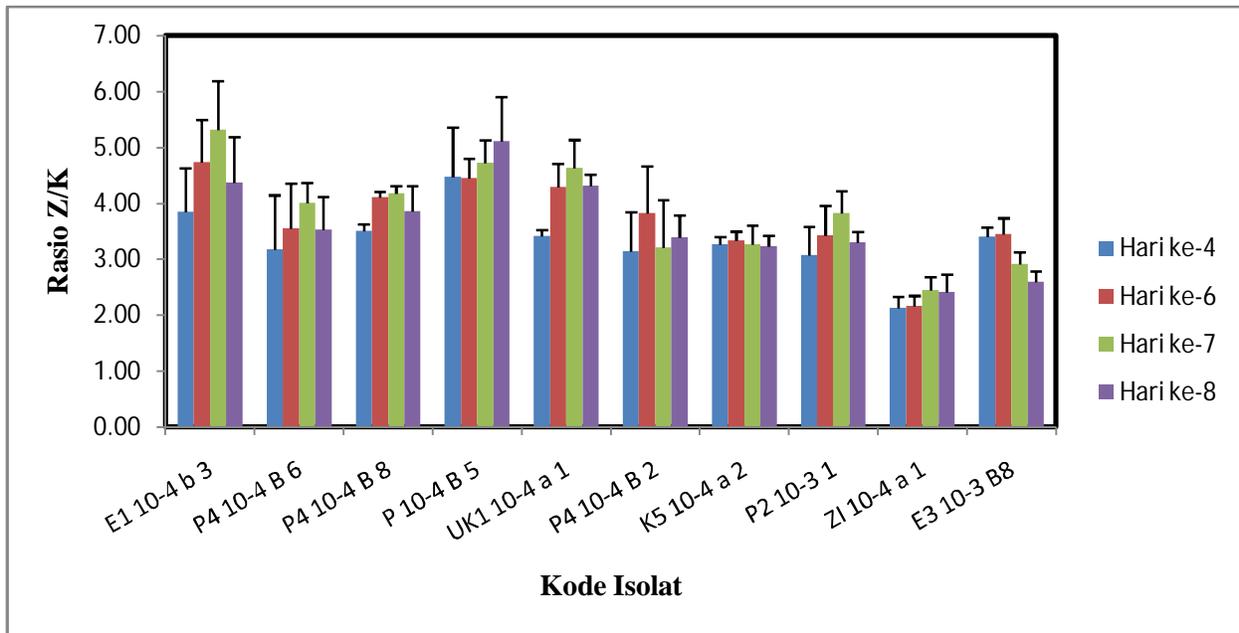
Kriteria	Rasio Z/K	Jumlah Isolat	Persentase Isolat (%)
Tinggi	$\geq 7,26$	1	0,4%
Sedang	1,19 - 7,26	229	93,9%
Rendah	$\leq 1,19$	14	5,7%
Jumlah		244	100

Isolat yang termasuk kriteria tinggi dalam aktivitas fosfatase yaitu apabila rasio Z/K bernilai  $\geq 7,26$ . Kriteria sedang apabila rasio Z/K bernilai antara 1,19-7,26 dan kriteria rendah apabila rasio Z/K bernilai  $\leq 1,19$ . Persentase tertinggi berada pada kriteria sedang yaitu sebesar 93,9% dan persentase rendah berada di kriteria tinggi yaitu 0,4%. Hal ini menjelaskan bahwa isolat bakteri pelarut fosfat yang diperoleh mempunyai aktifitas sedang dalam melarutkan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Hal yang sama didapatkan oleh Castagno *et al.* (2008) dari skrining terhadap BPF asal tanah rizosfir tanaman *Lotus tenuis* dan memperoleh nilai persentase tertinggi sebesar 41,2% dengan kriteria tinggi dan persentase terkecil sebesar 23,5% dengan 47 kriteria sedang.

### 5.5.4 Uji Potensi Bakteri Pelarut Fosfat pada Medium Pikovskaya pH 5, 6 dan 7

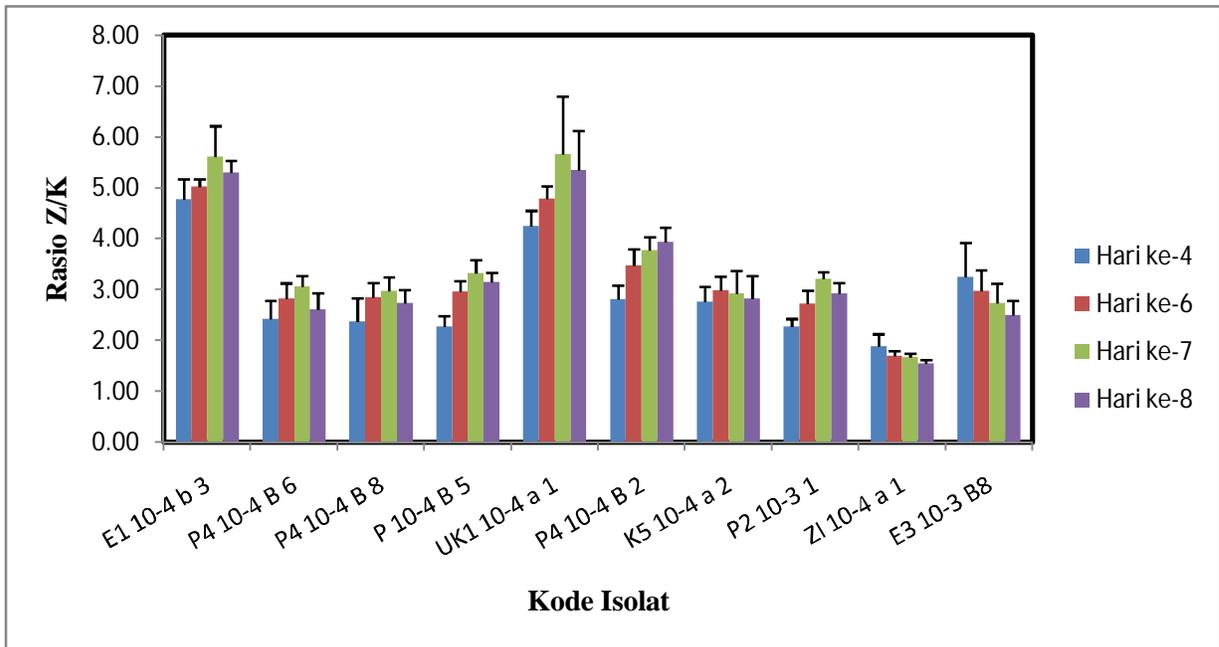
Sepuluh isolat BPF terseleksi ( $Z/K \geq 3$ ) selanjutnya diuji kemampuannya dalam mendegradasi P pada medium Pikovskaya pH 5, 6 dan 7. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas masing-masing isolat BPF tersebut pada berbagai pH medium dan untuk mengetahui aktifitas pelarutan P berdasarkan waktu inkubasi (hari ke 4, 6, 7 dan 8) (Lampiran 4). Indeks kelarutan P dari 10 isolat BPF terseleksi pada medium Pikovskaya pH 5, 6 dan 7 dengan waktu inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8 bervariasi. Gambar 15 menyajikan aktifitas pelarutan P pada medium Pikovskaya pH 5 inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8. Isolat BPF yang memiliki aktifitas pelarutan P tertinggi pada inkubasi hari ke-4 adalah P 10<sup>-4</sup> B5 sebesar 4,47 dan terendah pada isolat ZI 10<sup>-4</sup> a1 sebesar 2,13. Isolat BPF yang memiliki aktifitas pelarutan P tertinggi pada inkubasi hari ke-6 dan ke-7 adalah isolat E1 10<sup>-4</sup> b3 dengan

rasio Z/K berturut-turut sebesar 4,74 dan 5,32 serta yang terendah pada isolat ZI 10<sup>-4</sup> a1 berturut-turut sebesar 2,16 dan 2,45. Inkubasi hari ke-8 isolat E1 10<sup>-4</sup> b3 mengalami penurunan rasio Z/K menjadi 4,37 sedangkan isolat ZI 10<sup>-4</sup> a1 mengalami penurunan rasio Z/K menjadi 2,41.



**Gambar 15.** Aktifitas pelarutan P pada medium Pikovskaya pH 5 dengan variasi inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8.

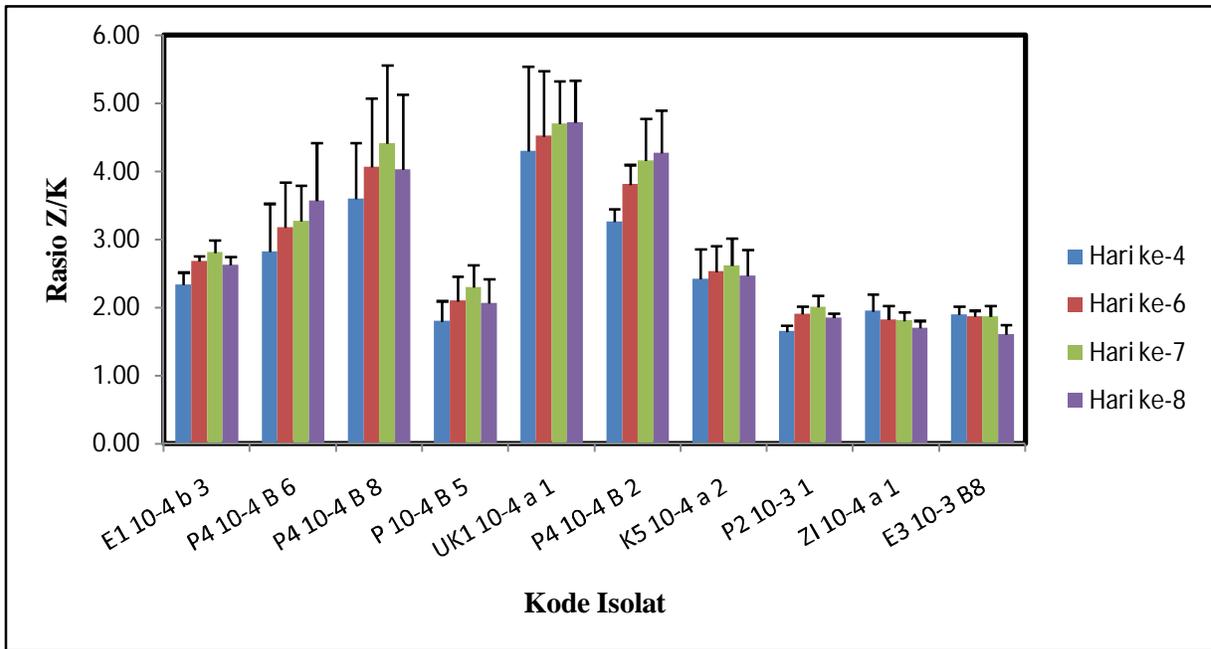
Kemampuan 10 isolat BPF dalam melarutkan P pada medium Pikovskaya pH 6 inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8 juga bervariasi. Aktifitas tersebut digambarkan dalam bentuk kurva yang dapat disajikan pada Gambar 16. Isolat BPF yang memiliki aktifitas pelarutan P tertinggi pada inkubasi hari ke-4 dan ke-6 adalah isolat E1 10<sup>-4</sup> b3 dengan rasio Z/K berturut-turut sebesar 4,77 dan 5,03, sedangkan aktifitas terendah pada inkubasi hari ke-4 dan ke-6 adalah isolat ZI 10<sup>-4</sup> a1 dengan rasio Z/K berturut-turut sebesar 1,89 dan 1,70. Isolat BPF yang memiliki aktifitas pelarutan P tertinggi pada inkubasi hari ke-7 dan ke-8 adalah isolat UKI 1 dengan rasio Z/K berturut-turut sebesar 5,66 dan 5,35.



**Gambar 16.** Aktifitas pelarutan P pada medium Pikovskaya pH 6 dengan variasi inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8

Kemampuan 10 isolat BPF dalam melarutkan P pada medium Pikovskaya pH 7 inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8 juga bervariasi (Gambar 17). Isolat BPF yang memiliki aktifitas pelarutan P tertinggi pada inkubasi hari ke-4 adalah isolat UKI 1 dengan rasio Z/K sebesar 4,30 dan terendah isolat P2 10<sup>-3</sup> 1 sebesar 1,65. Isolat BPF yang memiliki aktifitas pelarutan P tertinggi pada inkubasi hari ke-6, ke-7 dan ke-8 adalah isolat UK1 1 dengan rasio Z/K berturut-turut sebesar 4,52; 4,70; dan 4,72.

Secara keseluruhan, indeks kelarutan P pada pH 5, 6 dan 7 dengan pengamatan hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8 diketahui bahwa rasio Z/K berbeda-beda. Menurut Madjid (2009) variasi indeks kelarutan fosfat dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain: (1) konsentrasi fosfat, (2) ketebalan agar, (3) kecepatan pertumbuhan mikroba, dan (4) kesesuaian untuk membandingkan satu kelompok mikroba. Selain itu, kadar keasaman medium yang digunakan juga berpengaruh terhadap indeks kelarutan karena pH merupakan faktor penting dalam mekanisme pelarutan P. Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian lainnya yang juga memperoleh variasi indeks kelarutan P dari isolat *Enterobacter* sp. CK23 pada berbagai variasi pH medium dan waktu inkubasi (Sitepu *et al.* 2007).



**Gambar 17.** Aktifitas pelarutan P pada medium Pikovskaya pH 7 dengan variasi inkubasi hari ke-4, ke-6, ke-7 dan ke-8

### 5.5.5 Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat

Karakterisasi isolat BPF hanya dilakukan pada 10 isolat terbaik dan terseleksi berdasarkan nilai rasio  $Z/K \geq 3$ . Karakterisasi meliputi uji fisiologi dan biokimia, yaitu pewarnaan gram, uji fermentasi karbohidrat (glukosa, fruktosa, galaktosa, selobiosa, selulosa, sukrosa), uji oksidase, uji katalase, uji urease, uji hidrolisis pati, uji hidrolisis gelatin, uji hidrolisis kasein, uji methyl red dan uji voges proskauer.

#### 5.5.5.1 Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi koloni BPF diamati pada medium Pikovskaya dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Seluruh isolat memiliki bentuk koloni bulat. Warna koloni isolat pada umumnya pink, putih, kuning, krem dan orange. Seluruh isolat memiliki tepian koloni licin, elevasi koloni cembung dan keseluruhan isolat memiliki konsistensi menempel. Bentuk sel ada yang kokus juga ada yang basil.

#### 5.5.5.2 Analisis Fisiologi dan Biokimia

Seluruh isolat BPF merupakan bakteri gram negatif. Kebanyakan BPF termasuk kelompok bakteri gram negatif, seperti isolat BPF *Enterobacter asburiae* strain PS2 rizosfir tanaman *Brassica compestris* (L) (Ahemad and Khan 2010) dan *Pseudomonas fluorescens*

serta *Bacillus megatherium* asal tanah (Sharma *et al.* 2007). Analisis biokimia pada 10 isolat BPF terseleksi meliputi uji fermentasi karbohidrat (glukosa, fruktosa, galaktosa, selobiosa, selulosa, sukrosa), uji oksidase, uji katalase, uji urease, uji hidrolisis pati, uji hidrolisis gelatin, uji hidrolisis kasein, uji methyl red dan uji Voges Proskauer (Tabel 7).

**Tabel 7.** Analisis biokimia bakteri pelarut fosfat

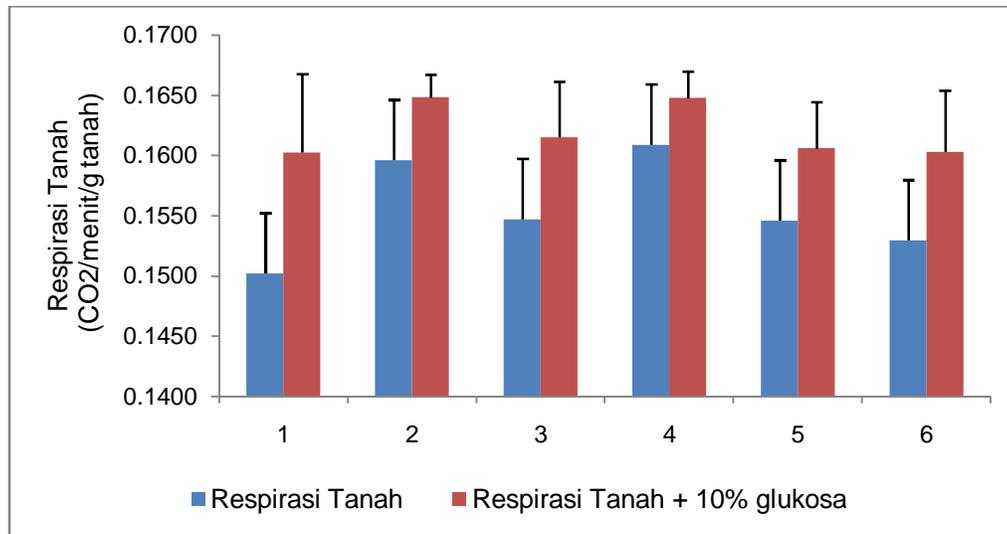
No.	Karakter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Hidrolisis Pati	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
2	Hidrolisis Gelatin	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
3	Uji Urease	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
4	Uji Katalase	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
5	Uji Oksidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Uji Methyl Red	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	Uji Voges Prokauer	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
8	Uji Kasein	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
9	Fermentasi Glukosa	+++	++++	++	+++	++	++	+++	+++	++	-
10	Fermentasi Fruktosa	++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+	+
11	Fermentasi Sukrosa	-	+++	-	-	-	+++	-	++	-	-
12	Fermentasi Selobiosa	-	++++	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Fermentasi Galaktosa	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
14	Fermentasi Selulosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: 1) E1 10<sup>-4</sup> b 3, 2) P4 10<sup>-4</sup> B 6, 3) P4 10<sup>-4</sup> B 8, 4) P 10<sup>-4</sup> B 5, 5) UK1 1, 6) P4 10<sup>-4</sup> B 2, 7) K5 10<sup>-4</sup> a 2, 8) P2 10<sup>-3</sup> 1, 9) C22 10<sup>-4</sup> a 1, 10) E3 10<sup>-3</sup> B8

## 5.6 Respirasi Tanah

Pada tahun ke III, pengukuran respirasi tanah dilakukan *ex situ* dengan alasan untuk memudahkan pekerjaan di lapangan yang sulit terjangkau. Walaupun demikian, hasil yang diperoleh tetap dapat dibandingkan antara kegiatan pengukuran pada tahun I dan II. Selain itu juga dilakukan pengkayaan tanah dengan glukosa. Hasil pengukuran laju respirasi tanah di Cagar Biosfer GSK-BB (Gambar 18) bervariasi antara 0,1502 – 0,1609 mg CO<sub>2</sub>/menit/g tanah dan 0,1603 – 0,1649 mg CO<sub>2</sub>/menit/g tanah pada tanah yang diperkaya glukosa. Laju respirasi tanah yang diperkaya glukosa rata-rata lebih tinggi dari laju respirasi tanah yang tidak diperkaya. Hasil yang diperoleh juga menunjukkan terdapat kecenderungan kenaikan laju respirasi tanah pada lokasi yang telah mengalami alih fungsi lahan. Aktivitas respirasi tanah

gambut menggambarkan apakah suatu lingkungan telah terdegradasi atau tidak yang ditandai dengan meningkatnya aktivitas mikroba tanah melalui peningkatan laju dekomposisi bahan organik tanah. Laju dekomposisi bahan organik di gambut alami akan berlangsung lambat jika dibandingkan dengan lahan gambut terbuka atau berubah menjadi lahan perkebunan. Keadaan ini berhubungan dengan kondisi aerasi tanah gambut yang berubah menjadi aerob pada lahan yang diolah (Minkkinen *et al.* 2007).



**Gambar 18.** Laju respirasi tanah di berbagai lokasi pengambilan sampel. 1. Hutan alami, 2. Hutan sekunder, 3. Kebun karet umur 10-14 tahun, 4. Kebun karet umur lebih dari 40 tahun, 5. Kebun kelapa sawit umur 14 tahun, 6. Lahan bekas terbakar (sekarang ditanami kelapa sawit umur 2 tahun)

Laju respirasi tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain ketersediaan bahan organik tanah, aerasi, suhu, kelembaban dan sistem manajemen tanah (USDA 2009). Respirasi tanah pada lokasi hutan alami menunjukkan nilai yang rendah jika dibandingkan dengan lokasi yang telah diolah. Hal ini karena hutan alami relatif belum terganggu sehingga kondisi anaerob sebagai ciri khas lahan gambut alami masih terjaga. Laju respirasi rendah juga menunjukkan laju dekomposisi lambat sehingga mineralisasi bahan organik lambat. Proses ini tidak menyebabkan pelepasan CO<sub>2</sub> yang tinggi ke atmosfer. Ketersediaan bahan organik pada lokasi ini sangat banyak akan tetapi karena kondisi alamiah gambut yang bersifat anaerob menyebabkan laju dekomposisi lambat tetapi berjalan terus menerus (Inubushi dan Hadi

2000). Hasil penelitian ini sesuai dengan Hadi *et al.* (2001) yang memperoleh laju respirasi di hutan gambut sekunder lebih rendah dari laju respirasi lahan sawah.

Secara umum, diketahui bahwa aktivitas antropogenik mempengaruhi laju respirasi tanah berupa peningkatan laju respirasi tanah. Oleh karena itu, pengukuran laju respirasi tanah dapat digunakan sebagai salah satu alternatif dalam memonitor kualitas tanah di Cagar Biosfer GSK-BB yang disebabkan oleh aktivitas antropogenik. Jika dibandingkan hasil pengukuran dengan kegiatan tahun II, dapat dijelaskan bahwa lahan yang terbakar (saat pengukuran lahan baru saja terbakar 3 bulan sebelumnya) jika kembali ditanami (untuk kasus ini telah ditanami kelapa sawit yang berumur 2 tahun saat pengukuran) akan mengalami perbaikan kualitas tanah. Hal tersebut disimpulkan berdasarkan laju respirasi tanah pada lahan tersebut yang tidak begitu berbeda dengan lokasi hutan alami.

## VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan mengenai Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik dari Cagar Biosfer GSK-BB dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Karakter morfologi, fisiologis dan biokimia yang dimiliki bakteri tanah asal Cagar Biosfer GSK-BB bervariasi, akan tetapi cenderung mengelompok berdasarkan asal isolat.
2. Indeks keanekaragaman berkisar antara 1,56 - 3,67, yang berarti keadaan ekosistem bakteri tanah gambut asal Cagar Biosfer GSK-BB dikategorikan ke dalam ekosistem sedang dan tinggi.
3. NIndeks kemerataan berkisar antara 0,87-0,98, yang berarti penyebaran bakteri tanah gambut asal Cagar Biosfer GSK-BB dikategorikan ke dalam keragaman tinggi.
4. Total isolat selulolitik yang diseleksi dari 17 sampel di Cagar Biosfer GSK-BB adalah 1346 isolat dan 31,72% dari keseluruhan isolat merupakan bakteri selulolitik yang berpotensi dalam mendegradasi selulosa.
5. Isolat yang berada dalam bentuk konsorsium memiliki aktivitas yang jauh lebih tinggi daripada isolat murni dengan rasio Z/K tertinggi mencapai 16,45.
6. Total isolat bakteri pelarut fosfat yang diseleksi adalah 244 isolat dengan aktivitas tertinggi berdasarkan rasio Z/K adalah isolat bakteri E1  $10^{-4}$  b 3 yaitu sebesar 7,48.
7. Diperoleh 10 isolat yang potensial dalam melarutkan fosfat dengan rasio Z/K besar dari 3.
8. Aktivitas bakteri pelarut fosfat bervariasi berdasarkan pH medium dan waktu inkubasi dengan pH medium 6 dan waktu inkubasi selama 7 hari.
9. Respirasi tanah merupakan indikator potensial dalam memonitor kualitas tanah gambut.
10. Penanaman kembali lahan yang terbakar akan meningkatkan kesuburan tanah gambut.

## **6.2 Saran**

Perlu dilakukan aplikasi metode mikrobiologi terpilih dalam monitoring kuliatas tanah gambut pada beberapa lokasi lain untuk menguatkan kesimpulan yang diperoleh. Selain itu, isolate-isolat indigenous yang diperoleh perlu untuk dianalisis lebih lanjut sehingga dapat digunakan lebih lanjut sebagai agen biofertilizer dan kompos.

