

Potensi Bakteri Dari Limbah Kotoran Ternak Dalam Mendegradasi Selulosa

Fahrudin¹, Nur Haedar¹, Mustika Tuwo¹

¹*Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin, Makassar 90245
E-mail: fahrudin_science@unhas.ac.id*

Abstract

Many wastes in nature made from cellulose cause problems because it is difficult to degrade, it is needs to be treated biologically by utilizing cellulase enzymes from bacteria. Some bacteria are able to degrade a cellulose compound to be used as a source of energy, there is a lot of cattle farm. The purpose of this study was to obtain bacteria that have the potential to degrade cellulose. Isolation of cellulolytic bacteria from cattle fam waste using selective carboxymethyl cellulose media, and semi-quantitative degradation of cellulose compounds was tested. The results obtained by two cellulolytic bacteria marked the formation of inhibitory zones, in BS1 is 3.2 cm and in BS2 is 2.9 cm. From the index of inhibitory values formed, these two isolates have the ability to degrade cellulose in the average category.

Keywords: cellulolytic, cellulase, degradation, cattle manure, carboxymethyl cellulose

PENDAHULUAN

Bahan organik merupakan material yang bersumber dari jasad hidup seperti hewan atau tanaman, di alam akan mengalami proses penguraian. Tanaman mengandung banyak bahan organik berupa selulosa dan lignin, disamping bahan kandungan organik lainnya, seperti protein dan asam nukleat dan beberapa mineral. Dekomposisi bahan organik tersebut terjadi di dalam tanah yang pada akhirnya akan meninggalkan materi organik yang lebih sederhana disebut humus (Klemm *et al.*, 2006). Namun demikian, material selulosa yang ada di alam sulit mengalami degradasi sehingga kadang kehadirannya menimbulkan masalah padalingkungan secara estetik. Seperti adanya limbah – limbah pertanian yang menumpuk, begitu pula keberadaan sampah dedaunan yang ada perkotaan (Adawiyah *et al.*, 2017). Selulosa adalah bahan organik dengan struktur molekular sebuah polisakarida komponen utama yang menyusun bagian dinding sel tanaman hijau bersama dengan hemiselulosa dan pektin, terdiri dari rantai linier dari beberapa ratus hingga lebih dari sepuluh ribu ikatan β (1 \rightarrow 4) unit D-glukosa (Milala *et al.*, 2005; Klemm *et al.*, 2006). Selulosa lebih sulit dirombak dan memiliki bentuk atau struktur pada tanaman, sulit terlarut dalam air panas, sulit untuk dicerna oleh manusia, tetapi dapat diurai menjadi satuan-satuan glukosa oleh enzim yang dihasilkan oleh organisme maupun mikroorganisme tertentu (Irfan *et al.*, 2012).

Degradasi selulosa melalui proses secara enzimatik oleh bantuan jasad mikroorganisme, dikenal dengan mikroorganisme selulolitik. Salah satu mikroorganisme yang mampu mendegradasi selulosa adalah bakteri terdapat banyak melimpah di alam (Gupta *et al.*, 2012). Salah satu enzim yang berperan dalam merombak selulosa adalah enzim selulose yaitu dapat menghidrolisis ikatan β (1-4).

Enzim selulase berperan penting dalam proses konversi limbah bahan organik yang mengandung selulosa menjadi glukosa, protein, makanan ternak, etanol dan lain-lain (Hidayah dan Hazmi, 2017).

Enzim selulase adalah mengkatalisis pemecahan selulosa menjadi gulukosa atau dikenal sebagai gula sederhana, dengan melibatkan aktivitas enzim endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase, dan β -glukosidase dalam selobiosa, selodektrin, selulosa, serta turunan selulosa lainnya (Milala *et al.*, 2005). Bakteri pengurai selulosa dikenal sebagai bakteri selulolitik yang menghasilkan selulase dan menghidrolisis selulosa. Jenis bakteri selulolitik terdapat melimpah dalam rumen ternak sapi yang memproduksi enzim selulase untuk mengurai senyawa selulosa kompleks dari pakan ternak yang bersumber dari tanaman hijau menjadi senyawa glukosa. Lambung ruminansia pada ternak dikatakan sebagai rumen adalah tempat terjadinya pencernaan sejumlah makanan yang dikonsumsi melalui proses fermentasi dengan bantuan berbagai macam mikroorganisme seperti bakteri, protozoa, dan fungi (Saratale, 2012; Hidayah dan Hazmi, 2017).

Adanya kemampuan hewan ruminansia mencerna selulosa dari pakan hijauan dengan bantuan enzim selulase yang ada pada bagian rumennya, maka diharapkan pada limbah kotoran ruminansia dapat diperoleh bakteri selulolitik yang mampu mengasilkan enzim selulase (Irfan *et al.*, 2012). Kotoran ternak herbivora ternak terdiri dari material tanaman yang terurai melalui mekanisme pencernaan yang di dalamnya terkandung selulosa mengunyahnya dan mempertemukannya pada enzim dan asam dalam rumen ternak. Ada sekitar 40 persen material di dalam feses ternak tertentu berupa selulosa yang kemudian bercampur dengan enzim dan asam menjadi kotoran (Vaz-Moreira *et al.*, 2010). Berdasarkan hal ini, dilakukan penelitian untuk mengetahui isolasi dan mengetahui potensi selulolitik pada bakteri dari kotoran ternak.

METODE PENELITIAN

Sampel

Sampel kotoran ternak diambil dari kandang Peternakan Hewan Tamangapa Antang, Makassar. Dimasukan pada wadah steril untuk selanjutnya dilakukan analisis mikrobiologi.

Pembuatan media CMC Agar

Sebanyak 2 gram CMC (*Carboxymethylcellulose agar*), 0,05 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,5 gram Na_2HPO_4 , 0,23 gram NaCl, 0,2 gram yeast, 0,5% *congo red*, 2 gram agar yang dibuat dalam larutan 100 ml aquadest, selanjutnya dipanaskan hingga media menjadi larut. Media disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Isolasi Bakteri Selulolitik

Sampel kotoran ternak ditimbang 1 gram, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest. Sampel kemudian diencerkan hingga 10^{-7} menggunakan aquadest steril. Hasil pengenceran kemudian ditumbuhkan pada media CMC dengan teknik tuang. Diinkubasi selama 1x24 jam. Indikator adanya pertumbuhan bakteri yang mampu mengurai substrat selulosa yaitu adanya adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri.

Pemurnian Bakteri Selulolitik

Tahapan pemurnian bakteri selulolitik adalah dengan melakukan pemilihan pada koloni bakteri yang menunjukkan adanya pembentukan zona bening di sekitarnya dan memperlihatkan ciri morfologi yang berbeda dengan menginokulasikannya pada media CMC agar, dengan metode gores menggunakan ose. Selanjutnya dilakukan inkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37 °C. Untuk lebih meyakinkan telah mendapatkan koloni yang benar adalah murni, maka tahapan pemurnian ini dapat dilakukan 2-3 kali.

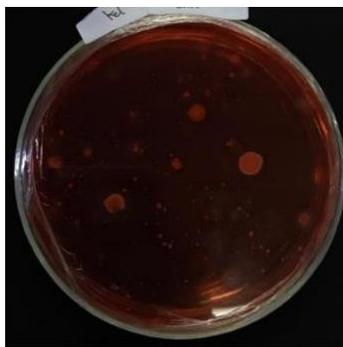
Uji Degradasi Senyawa Selulosa secara Semi-Kuantitatif

Uji degradasi selulosa secara semi-kuantitatif, pengujian dilakukan dengan membandingkan besarnya diameter zona bening yang dihasilkan dengan besarnya diameter koloni bakteri. Sebanyak 1 ose dari masing-masing isolat ditumbuhkan pada media CMC agar dengan metode titik. Setelah diinkubasi 1×24 jam dilakukan pengukuran diameter pada zona bening yang terbentuk dan mengukur diameter koloni bakteri yang tumbuh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Selulolitik

Sampel kotoran sapi yang diperoleh dari kandang ternak sapi Tamangapa Antang, Makassar, dengan pertimbangan lokasi kandang sudah terkordinasi dengan baik walaupun masih dilakukan belum secara intensif oleh peternak. Isolasi bakteri selulolitik penghasil enzim selulase dapat diperoleh dari kotoran ternak yang bersumber dari rumen yang kaya dengan bakteri pendegradasi selulosa. dilakukan dengan memanfaatkan limbah kotoran ternak seperti ruminansia. Dari hasil isolasi menggunakan media selektif SMC agar, menunjukkan ada pertumbuhan koloni seperti diperlihatkan pada Gambar 1.

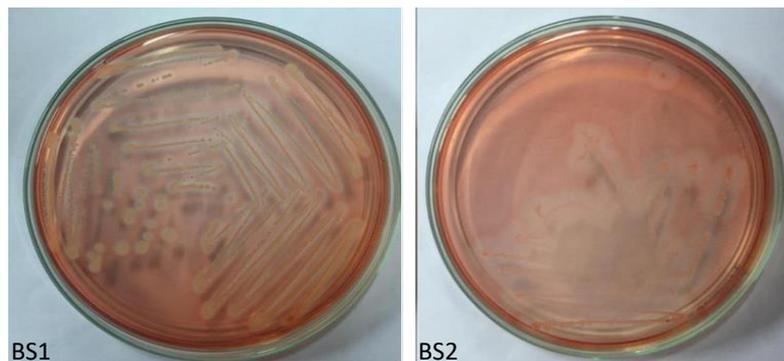


Gambar 1. Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media CMC

Adanya zona bening disekitar koloni bakteri yang terbentuk pada media CMS agar, sebagai indikasi bahwa bahwa bakteri tersebut mampu mendegradasi selulosa yang terkandung dalam media CMC dikatalisis oleh enzim selulose. Hal ini menunjukkan isolat koloni bakteri yang tumbuh memiliki enzim selulase merombak subtrak selulosa dalam bentuk *carboxymethylcellulose*. Menurut Meryandini *et al.* (2009) bahwa terjadi aktivitas enzim selulase pada substrat CMC berupa enzim endo-1,4- β -glukanase. Selanjutnya menurut Arifin *et al.* (2019) bahwa zona bening yang dihasilkan pada media CMC disebabkan oleh reaksi natrium benzidindiazo- bis-1-naftilamin- 4-sulfonat atau *congo red* yang berinteraksi kuat dengan ikatan β -1,4-glikosidik dalam CMC. Selain itu, dinyatakan oleh Nofa *et al.* (2014) medium CMC memiliki struktur rantai yang lebih pendek pada selulosanya sehingga bakteri selulolitik mudah mendegradasi selulosa tersebut dan ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media CMC.

Kultur Bakteri Selulolitik

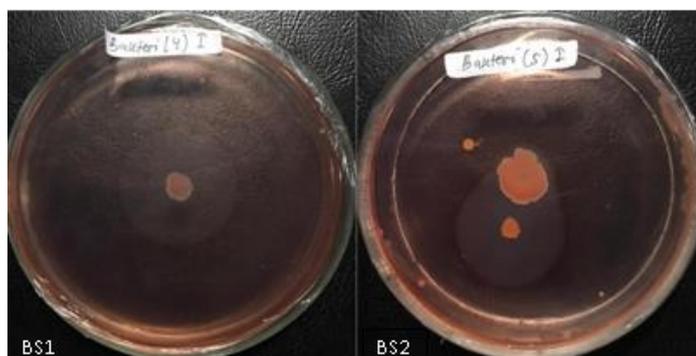
Bakteri selulolitik yang berhasil diisolasi selanjutnya dimurnikan untuk memperoleh isolat yang benar-benar murni dengan cara menumbuhkan kembali bakteri hasil isolasi pada media CMC dengan metode gores. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan bakteri selulolitik yang tidak kontaminasi dengan isolat lainnya, dengan tujuan mendapatkan stok isolat murni untuk dikulturkan. Berdasarkan hasil pengamatan dari pemurnian bakteri selulolitik didapatkan ada dua jenis koloni bakteri yang berbeda seperti diperlihatkan pada Gambar 2. Kedua koloni tersebut diberikan kode isolat BS1 dan isolat BS2. Setelah dilakukan pemurnian pada kedua isolat bakteri tersebut selanjutnya dilakukan uji degradasi senyawa selulosa secara semi-kuantitatif, untuk melihat kemampuan degradasi selulosa dari kedua isolat tersebut.



Gambar 2. Hasil pemurnian bakteri selulolitik pada media CMC dari isolat BS1 dan BS2

Potensi Isolat dalam Degradasi Selulosa

Untuk mengetahui potensi isolat dalam mendegradasi selulosa, maka dilakukan pengujian dengan membandingkan besarnya diameter zona bening yang dihasilkan dengan besarnya diameter koloni bakteri. Sebanyak satu ose dari masing-masing isolat ditumbuhkan pada media CMC agar dengan metode titik. Pengukuran ini menghasilkan indeks aktifitas selulolitik, hasilnya seperti ditampilkan pada Tabel 1.



Gambar 3. Uji degradasi selulosa isolat bakteri selulolitik pada media CMC

Tabel 1. Indeks Aktivitas Selulolitik

Kode Isolat	Luas Zona (cm)	Kategori Degradasi Selulosa
A	3.2	Sedang
B	2.9	Sedang

Kedua isolat BS1 dan BS2 yang menunjukkan luas zona bening yang berbeda, zona bening pada isolat BS1 menunjukkan luas zona 3.2 cm lebih luas dibandingkan isolat BS2 dengan luas zona 2.9 cm. Perbedaan zona hambat yang terbentuk adalah terkait dengan kemampuan pada setiap isolat bakteri dalam memproduksi enzim selulase.

Pada isolat bakteri yang mempunyai nilai aktivitas senyawa enzim selulase yang tinggi, dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan menunjukkan zona bening yang besar disekitar koloni (Rahayu *et al.*, 2014), sedangkan menurut Meryandini *et al.* (2009) bahwa bakteri yang mampu mengurai selulosa akan menghasilkan enzim selulase kompleks yang berbeda-beda dengan bakteri selulolitik yang lainnya, hal ini tergantung dari agen yang ada serta substrat karbon yang digunakan. Menurut Dar *et al* (2015), zona bening yang terbentuk dari hasil uji selulolitik pada bakteri yang ditandai dengan zona yang berukuran diameter di atas 4 cm adalah masuk dalam kategori tingkat

degradasi yang tinggi, sedangkan degradasi yang dengan kisaran zona yang terbentuk adalah 2.0-3.9 cm dimasukkan dalam kategori tingkat degradasi sedang, dan tingkat degradasi yang masuk dalam kisaran 0.5-1.9 cm adalah kategori tingkat degradasi yang rendah. Berdasarkan hasil uji degradasi selulosa pada kedua isolat, zona bening yang diperoleh dapat dikategorikan tingkat degradasi yang sedang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri selulolitik penghasil enzim selulase dapat diisolasi dari limbah kotoran ternak dan diperoleh dua isolat yang mampu mendegradasi senyawa selulosa dengan kategori degradasi yang tergolong sedang. Hal menunjukkan bahwa dalam kotoran ternak sapi terdapat bakteri selulolitik dapat digunakan dalam mendegradasi substrat selulosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R.S., Fahrudin, Mustari, K., 2017. *Aplikasi Isolat Bakteri dari TPA Tamangapa Makassar dalam Proses Pengomposan Sampah Organik Rumah Tangga*. Celebes Biodiversitas: 1: 40-44.
- Andriany, Fahrudin, Abdullah, A., 2018. *Pengaruh Jenis Bioaktivator Terhadap Laju Dekomposisi Seresah Daun Jati *Tectona Grandis* L.F., Di Wilayah Kampus Unhas Tamalanrea*. Bioma. Jurnal Biologi Makassar. 3(2): 31-42.
- Arifin, Z., Ida, B.W.G., Nyoman, S.A., Yohanes. S., 2019. *Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa Dari Kompos*. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 7(1): 39-37.
- Dar, M.A., Pawar, K.D., Jadhav J.P., and Pandit R.S. 2015. *Isolation of Cellulolytic Bacteria from the Gastro-intestinal Tract of *Achatina Fulica* (Gastropoda: Pulmonata) and their Evaluation for Cellulose Biodegradation*. International Biodeterioration & Biodegradation. 98: 73–80.
- Gupta, P., Samant, K., and Sahu, A., 2012. *Isolation of Cellulose-Degrading Bacteria and Determination of Their Cellulolytic Potential*. International Journal of Microbiology. 2:1–5.
- Hidayah, M., Hazmi, M., 2017. *Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah*. Agritrop. 15(2): 293 – 308.
- Irfan, M., Safdar, A., Syed, Q., and Nadeem, M. 2012. *Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity*. Turkish Journal of Biochemistry-Turk Journal Biochem. 37(3): 287–293.
- Klemm, D., Schuman, D., Kramer, F., Hebler, N., Hornung, M., Schmauder, H.P., and Marsch, S., 2006. *Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application*. Adv Polym Sci. Springer Berlin Heidelberg. 205. 49-96.
- Meryandini, A., Wahyu, Besty, W., Titi, M., Nisa, C.S., Hasrul, R., 2009. *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*. Jurnal Makara Sains. 13(1): 33-38.
- Milala, M.A., Shugaba, A., Gidado, A., Ene. A.C., Wafar, J.A., 2005. *Studies On The Use Of Agricultural Wastes For Cellulase Enzyme Production By *Aspergillus niger**. J Agric Biol Sci. 1: 325-328.
- Nofa, K., Siti, K., Irwan, L., 2014. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Ampas Tebu Kuning (Bagasse)*. Jurnal Protobiont. 3(1): 25-33.
- Rahayu, A.G., Yuli, H., Fifi, P., 2014. *Uji Aktivitas Selulolitik Dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus*.sp.* Jurnal Jom Fmipa. 1(2): 33-36.
- Saratale, G.D., Saratale, R.G., Oh, S.E., 2012. *Production and Characterization of Multiple Cellulolytic Enzymes By Isolated *Streptomyces* sp. MDS*. Biomass and Bioenergy. 47: 302 -315.
- Vaz-Moreira, I. Figueira, V. Lopes, A.R. and Rudiger, P. 2010. *Paenibacillus Residui sp. Nov. Isolated from Urban Waste Compost*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 60: 2415–2419.