

ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM SELULASE DARI SUMBER AIR PANAS MENERUDA KABUPATEN NGADA

Amor T. Karyawati, Maria T.L.Ruma, Alfred O.M. Dima, Maria S. Bate

Program Studi Biologi FST Undana

ABSTRAK

Selulase merupakan kelompok enzim yang dapat mengkatalis hidrolisis ikatan β -1.4-glikosidik dalam selulosa, selodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri penghasil enzim selulase dan besar indeks selulolitik yang diisolasi dari sumber mata air panas Mengeruda Kabupaten Ngada, Provinsi Nusa Tenggara Timur. Dengan tahapan pengukuran suhu dan pH, pengambilan sampel, sterilisasi alat, pembuatan media, isolasi bakteri penghasil selulase, dan pengujian aktifitas selulolitik. Kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan selulase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri setelah ditetesi *congo red*. Pada penelitian ini berhasil mendapatkan 19 isolat bakteri penghasil enzim selulase dari sumber air panas Mengeruda, yaitu APa1 a, APa1 b, APa2, APa2 a, APa2 b, APb2, APb3, APb b, APb6, APc1, APc1 b, APc2, APc2 b, APc3, APc5, APc5 b, APc10, APc11 dan APc16. Pada isolat APc5b menunjukkan indeks selulolitik tertinggi yakni 5,51 dan yang terendah terlihat pada isolat APc5 yakni 0,95.

Kata kunci : *Bakteri, congo red, enzim selulase, isolasi*

Enzim adalah protein yang khusus disintesis oleh sel hidup untuk mengkatalisis reaksi yang berlangsung di dalamnya (Martoharsono, 2006). Enzim dikenal memiliki dua tipe yaitu enzim ekstraseluler (berfungsi diluar sel) dan enzim intraseluler (berfungsi di dalam sel). (Pelczar dan Chan, 2010). Selulase merupakan salah satu enzim ekstraseluler (Meryandini, 2009).

Kegunaan utama enzim bagi organisme adalah sebagai katalis hayati. Enzim yang mempunyai kemampuan unik untuk mempercepat berlangsungnya reaksi kimiawi tanpa enzim itu sendiri dikonsumsi atau berubah setelah reaksi selesai (Pelczar dan Chan, 2010).

Industri-industri yang memanfaatkan selulase umumnya beroperasi pada suhu tinggi sehingga dibutuhkan enzim yang memiliki stabilitas dan aktivitas yang tinggi pada kondisi suhu tersebut. Pemanfaatan enzim termostabil dalam bidang industri sangat menguntungkan karena laju reaksi lebih cepat, mengurangi resiko kontaminasi, mengurangi biaya pendinginan pada proses fermentasi skala besar, kelarutan substrat yang tinggi, dan menurunkan viskositas media tumbuh (Edwards, 1990 ; Hartanti, 2010).

Isolasi bakteri penghasil selulase sangat penting untuk dilakukan, mengingat besarnya potensi selulase pada industri antara lain industri makanan dan minuman, industri pulp dan kertas, industri tekstil, industri deterjen, industri pakan ternak dan pertanian (Bhat, 2000). Bakteri penghasil selulase dapat diisolasi dari berbagai sumber, antara lain lambung sapi (Bai, 2012).

Kompos pertanian (Baharuddin, 2010), sumber air panas (Aminin, 2007). Organisme ini mampu hidup di alam pada tempat-tempat seperti sumber air panas atau tumpukan sampah-sampah yang membusuk (Volk dan Wheeler, 1988).

Isolasi bakteri penghasil enzim sudah banyak dilakukan diantaranya : Noviani (2020) berhasil mengisolasi 9 isolat dari sumber mata air panas Mengeruda yang mampu menghasilkan amilase pada suhu inkubasi 50⁰. Rakhmawati (2014) menemukan bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim selulase sebanyak 255 isolat. Nurmiati (2012) berhasil mendapatkan 28 isolat selulolitik dengan indeks selulolitik (IS) tertinggi sebesar 5,40.

Indonesia kaya akan sumber air panas sebagai media untuk pertumbuhan bakteri penghasil enzim yang dikenal mampu menghasilkan enzim yang bernilai ekonomis (Dewi, 2008). Pulau Flores telah ditetapkan sebagai pulau panas bumi (*Flores Geothermal Island*) (Keputusan Menteri ESDM no. 2268 K/30/MEM/2017) pada tanggal 19 Juni 2017. Sumber panas bumi yang terdapat di pulau Flores berasal dari sumber-sumber mata air panas dan sumber *geothermal*. Kabupaten Ngada sebagai salah satu wilayah yang memiliki sumber *geothermal*, mempunyai kandungan mineral yang bermanfaat untuk masyarakat setempat.

Salah satu sumber air panas tersebut adalah mata air panas yang berada di Desa Mengeruda Kecamatan So'a yang memiliki suhu 40⁰C sehingga berpotensi memiliki bakteri selulolitik.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian kuantitatif dengan penghitungan aktivitas enzim selulase berdasarkan indeks selulolitiknya, dengan tahap prosedur kerja yaitu pengukuran suhu dan pH, pengambilan sampel, sterilisasi alat, pembuatan media, isolasi bakteri penghasil selulase, dan pengujian aktifitas selulolitik. Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan gambar dan dianalisis secara kuantitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

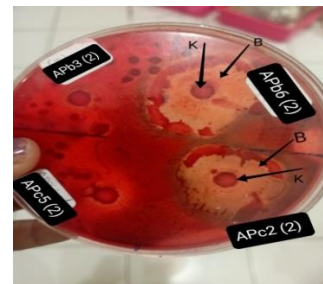
Isolasi dan Penghitungan Koloni Bakteri Penghasil Enzim Selulase.

Isolasi bakteri penghasil enzim selulase yang diperoleh dari penelitian ini berasal dari sampel sumber air panas yang diambil dari tiga kolam yang berbeda. Hasil isolasi menunjukkan bahwa bakteri penghasil enzim selulase dapat tumbuh dengan baik dalam media *Carboxymethyl cellulose* karena media tersebut mengandung selulosa sebagai sumber nutrisi atau bakteri penghasil enzim selulase. Dari 3 kolam sumber air panas diperoleh jumlah isolat yang beragam yaitu, kolam (a) sebanyak 4 isolat, kolam (b) sebanyak 4 isolat, dan kolam (c) sebanyak 6 isolat. Pada sampel pertama atau pada titik (b) terdapat jumlah bakteri yang tinggi yakni $1,34 \times 10^6$ CFU/ml hal ini dikarenakan isolat ini memiliki kepadatan atau kerapatan yang tinggi, begitupun sebaliknya pada sampel pertama atau titik (c) memiliki rata-rata bakteri sebesar $9,3 \times 10^2$ CFU/ml disebabkan kepadatan atau kepadatan pertumbuhan koloni tidak terlalu tinggi.

Uji Bakteri Penghasil Selulase

Pengujian adanya aktivitas selulolitik ditunjukkan dengan adanya zona bening pada media CMC agar setelah diberi pewarnaan *congo red*. *Congo red* berinteraksi kuat dengan ikatan β -1,4-glikosidik dalam CMC. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat dengan pencucian menggunakan NaCl 1 M. Dengan demikian, zona bening yang terbentuk akan tampak jelas. Menurut Kasana *et al.* (2008), indeks selulolitik (IS) diperoleh dengan menggunakan rumus :

$$\text{Indeks selulolitik} = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}}$$



Gambar 1. Hasil seleksi bakteri pada media *Carboxy Metyl Cellulose* (isolat APb3,APb6,APc2,APc5)

Tabel 1. Rata-rata kemampuan aktivitas selulolitik bakteri penghasil enzim selulase

Sampel	Kode isolat	D ZB (n=3) (mm)	IS	Ket
(a)	APa1 a	23,72	3,77	T
	APa1 b	27,53	4,46	T
	APa2	22,12	3,42	T
	APa2 a	28,44	4,68	T
	APa2 b	23,07	3,61	T
(b)	APb2	22,13	3,42	T
	APb3	15,84	2,16	T
	APb b	20,89	3,17	T
	APb6	21,95	3,38	T
(c)	APc1	18,12	2,62	T
	APc1 b	11,29	1,59	S
	APc2	16,13	2,22	T
	APc2 b	18,79	2,75	T
	APc3	24,79	3,95	T
	APc5	9,84	0,95	R
	APc5 b	14,19	5,51	T
	APc10	20,29	3,05	T
	APc11	23,08	3,61	T
	APc16	10,59	1,11	S

Keterangan : (a) Sumber air panas titik pertama, (b) Sumber air panas titik kedua, (c) Sumber air panas titik ketiga , APa (Air Panas titik a), APb (Air Panas titik b), APc (Air Panas titik c), T : Tinggi, S: Sedang R : Rendah, D : Diameter, ZB : Zona Bening

Pada tabel 1. menunjukkan isolat-isolat yang menghasilkan bakteri penghasil enzim selulase. Berdasarkan hasil penghitungan indeks selulolitik selulolitik pada titik (a) memiliki indeks selulolitik tinggi yakni APa2a (4,68), APa1b (4,46), APa1 a (3,77), APa2 b (3,61), APa2 (3,42). Pada titik (b) menghasilkan indeks selulolitik tinggi yakni APb2 (3,42), APb3 (2,16), APb b (3,17), APb6 (3,38). Sedangkan pada titik (c) hasil penghitungan indeks selulolitik tinggi berturut-turut yakni APc5b (5,51), APc3 (3,95), APc11 (3,61), APc10 (3,05), APc1 (2,62), APc2b (2,75) APc2 (2,22),

isolat bakteri yang memiliki indeks selulolitik sedang adalah APc1b (1,59), APc16 (1,11) dan satu isolat yang memiliki indeks selulolitik rendah yakni APc5 (0,95).

Bakteri penghasil enzim selulase mampu memanfaatkan selulosa pada media CMC sebagai satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhannya. Zona bening yang dihasilkan oleh setiap bakteri selulolitik bervariasi, karena setiap bakteri menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan (Meryandi *et al.*, 2009).

PENUTUP

Simpulan

1. Terdapat bakteri penghasil enzim selulase pada sumber air panas Mengeruda. Diperoleh 19 isolat bakteri penghasil enzim selulase dari sumber air panas Mengeruda.
2. Diperoleh besar indeks selulolitik isolat bakteri penghasil enzim selulase dari sumber air panas Mengeruda, dengan rentang : 0,95 – 5,51.

Saran

1. Perlu dilakukan karakterisasi bakteri penghasil enzim selulase. Karakterisasi yang dilakukan meliputi karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia.
2. Perlu dilakukan identifikasi bakteri penghasil enzim selulase.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminin, A.L.N., Madayanti, F., Aditiawati, P., dan Akhmaloka. (2007). *16S Ribosomal RNA-Based Analysis of Thermophilic Bacteria in Gedongsongo Hot Spring*, Microbiology Indonesia, Vol. 1, No.1, ISSN 1978-3477
- Baharuddin, A.S., Razak, M.N.A., Hock, L.S., Ahmad M.N., Aziz, S.A., Rahman, N.A.A dan Shah, U.K.M. (2010) Isolation and Characterization of Thermophilic Cellulase-Producing Bacteria from Empty Fruit Bunches Palm Oil Mill Effluent Compost, *American Journal of Applied Sciences*, 7: 56-62.
- Bai, S., Kumar, R.M., Kumar, D.J., Mukesh, Balashanmugam P, Kumaran. Bala M.D., dan Kalaichelvan P.T. (2012). *Cellulase Production by Bacillus subtilis isolated from Cow Dung*, Department of Biotechnology, KSR College of Arts and Science, Tiruchengode, TN, India.
- Bhat, M.K. (2000), *Cellulases and related enzymes in biotechnology*, Biotechnol Adv., 18, 355–383
- Dewi, I.M. (2008). Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun Sumatera Utara. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Edwards, C. (1990). *Microbiology of Extreme Environments*. New York: Mc GrawHill Publishing Company
- Hartanti. (2010). *Isolasi Dan Seleksi Bakteri Selulolitik Termofilik Dari Kawah Air Panas Gunung Pancar, Bogor. Skripsi*. Bogor : Departemen Biokimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Kasana, S. C., S. Richa, D. Hena, D. Som, and G. Arvind. (2008). *A Rapid And Easy Method for The Detection of Microbial Cellulase On Agar Plates Using Gram's Iodine*. Curr Microbio, 57(5): 503-507.
- Martoharsono, Soeharsono. (2006). Biokimia I. UGM. Yogyakarta.
- Mentri ESDM no. 2268 K/30/MEM/2017. Penetapan Pulau Flores Sebagai Pulau Panas Bumi. Jakarta

- Meryandini, A, Wahyu W, Besty M., Titi C.S., Nisa R, dan Hasrul S. (2009). *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*. Makara, Sains.
- Noviani, M.Y. (2020). Isolasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air panas Mengeruda So'a dan Malanage Jerebu'u, *Skripsi*, Tidak dipublikasikan, Universitas Nusa Cendana. Kupang
- Nurmiati. (2012). Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik Sumber Air Panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas Padang.
- Pelczar, M.J. dan Chan. (2010). Dasar-dasar mikrobiologi. UI. Jakarta.
- Rakhmawati, A. (2014). Isolasi Bakteri Termofilik Selulolitik Pasca Erupsi Merapi. Universitas Negeri Yogyakarta, Vol. X No. 2, Oktober 2014/1435: 92-102
- Volk, W. A dan wheeler, M. F. (1998). Mikrobiologi Dasar, Jilid 1, Edisi Kelima. Alih Bahasa oleh Soenarto Adisoemarto, Ph. D. Erlangga. Jakarta.