

Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak

Emma Khairiah¹, Siti Khotimah¹, Ahmad Mulyadi²

¹Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi,
²Program Studi Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Tanjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi
Pontianak, email: andra_gruz@yahoo.com

Abstrak

Selulosa merupakan salah satu bahan organik yang sukar untuk dirombak pada tanah gambut. Bakteri pendegradasi selulosa memiliki peranan dalam proses dekomposisi selulosa secara enzimatik dengan memutuskan ikatan rantai 1,4- β -glukosida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang dapat mendegradasi selulosa dan mengetahui kepadatan bakteri pendegradasi selulosa pada tanah gambut. Sampel diambil di Desa Parit Banjar Kecamatan Mempawah Hilir Kabupaten Pontianak. Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran cawan tuang dan cawan gores menggunakan media *Carboxymethylcellulose* (CMC) dan kepadatan bakteri dihitung dengan metode *Total Plate Count*. Pengamatan dan identifikasi dilakukan secara makroskopis, mikroskopis dan melalui rangkaian uji biokimia. Hasil isolasi diperoleh enam genera bakteri yaitu *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Acidomonas*, *Pseudomonas* dan *Cellvibrio*. Kepadatan bakteri pendegradasi selulosa yang ada di lokasi penelitian berkisar antara $23,126 \times 10^7$ sampai $24,942 \times 10^7$ CFU/gr.

Kata kunci : selulosa, selulase, gambut, degradasi

PENDAHULUAN

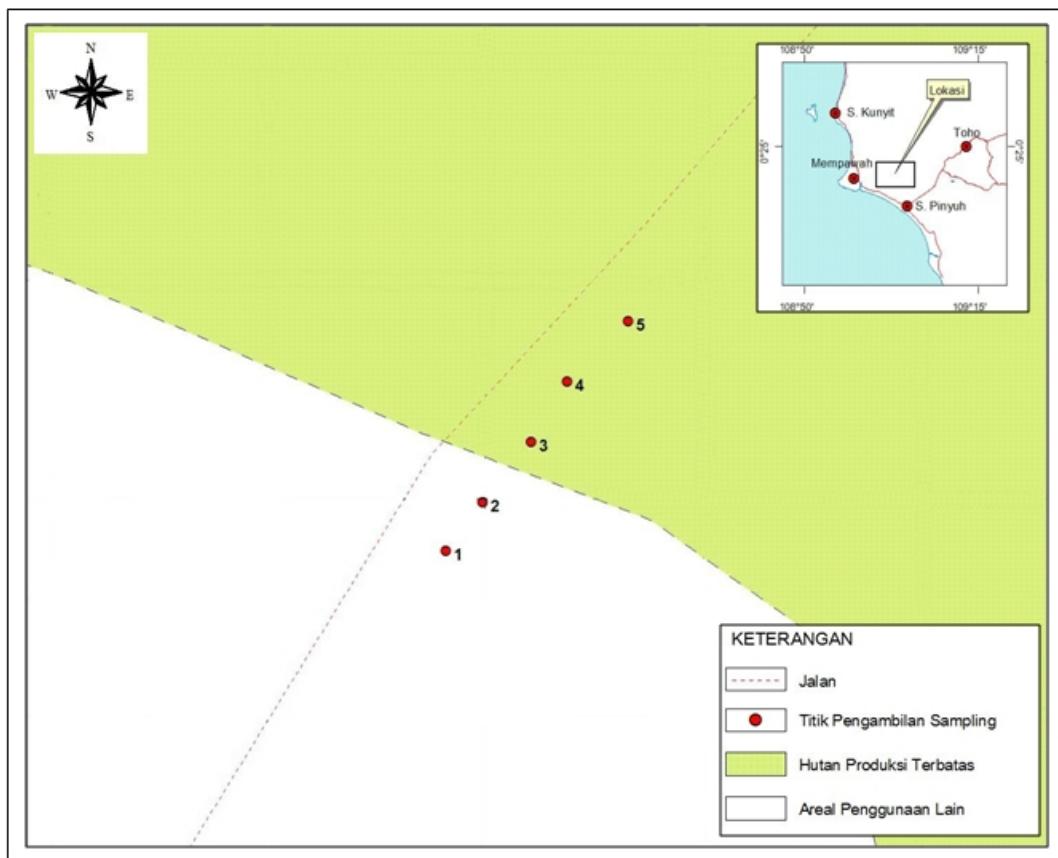
Gambut dibentuk oleh akumulasi residu vegetasi tropis yang kaya kandungan lignin dan selulosa (Brady, 1997 dalam Murdiyarsa, et al., 2004). Gambut mengandung bahan organik yang tidak bisa langsung dimanfaatkan karena masih dalam bentuk senyawa kompleks, salah satunya selulosa. Selulosa adalah sebuah polimer linier yang lebih besar dari 1000 subunit glukosa panjang dengan ikatan 1,4- β (Waluyo, 2008).

Pemecahan senyawa selulosa ini dapat dilakukan dengan bantuan bakteri pendegradasi selulosa. Bakteri pendegradasi selulosa merupakan salah satu mikroorganisme pendegradasi bahan organik dan memiliki peranan penting dalam biosfir dengan mendaur-ulang selulosa (Leschine, 1995; Saraswati, et al., 2006). Mikroorganisme jenis ini juga penting dalam beberapa proses fermentasi dalam industri, terutama dalam penghancuran limbah selulosa secara anaerob, sehingga menghasilkan lignoselulosa dengan persentase hingga 70% (Cailliez, et al., 1993).

Bakteri pendegradasi selulosa pada tanah gambut dapat menjadi degradator bahan organik dan membantu tersedianya unsur hara dalam tanah. Peningkatan unsur hara dari degradasi bahan organik dapat menjadi salah satu cara meningkatkan kesuburan tanah gambut, termasuk Desa Parit Banjar. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan genus bakteri pendegradasi selulosa yang ada pada tanah gambut dan mengetahui kepadatan populasinya di tanah gambut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober 2011 hingga bulan Maret 2012 di Desa Parit Banjar Kecamatan Mempawah Timur Kabupaten Pontianak dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Pengambilan sampel dilakukan di Dusun Parit Banjar Kecamatan Mempawah Timur Kabupaten Pontianak (Gambar 1). Tanah diambil pada masing-masing berdasarkan metode *stratified random sampling*. Pengambilan dilakukan pada 5 titik yang ditentukan secara acak (*random*) dengan 3 kali ulangan.



Gambar 1. Peta Titik Pengambilan Sampel Pada Lokasi Penelitian

Tanah gambut diambil menggunakan bor *Eijkenkamp*. Sampel tanah diberi label lalu dibawa ke laboratorium untuk dianalisis. Analisis kandungan sampel tanah gambut dilakukan di Laboratorium Fisika dan Konservasi Tanah dan Laboratorium Kimia Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura meliputi penetapan kadar serat, analisis kadar air, pemeriksaan kadar N total dan C organik.

Pengisolasian dan penghitungan kepadatan bakteri dilakukan dengan metode tuang (*pour plate method*) (Waluyo, 2008). Penghitungan kepadatan dilakukan pada tingkat pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-7} , dengan mengambil 1 ml suspensi dari masing-masing pengenceran kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri secara aseptis. Setelah itu, dituangkan media CMC (*carboxymethylcellulose*) lalu diratakan dengan memutar media searah angka delapan agar media homogen. Bakteri diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Jumlah koloni yang tumbuh pada media dihitung menggunakan *colony counter*

dengan ketetapan *standard plate count*. Kepadatan bakteri dihitung menggunakan metode Penghitungan Cawan (*Plate Count*). Morfologi koloni bakteri yang tumbuh diamati. Pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi bentuk, elevasi, tepian, warna koloni dan zona bening disekitar koloni untuk mengetahui aktivitas enzim selulase (Krairithichai dan Thongwai, 2005). Uji biokimia bakteri meliputi uji hidrolisa selulosa, pewarnaan gram, uji enzim katalase, uji oksidatif-fermentatif, uji sitrat, uji motilitas, uji gelatin, uji urea, uji dekarboksilase, uji gula-gula dan uji KIA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil isolasi bakteri dari tanah gambut didapatkan 9 isolat bakteri yang memiliki perbedaan koloni (Tabel 1). Isolat ini dikarakterisasi dengan melakukan uji biokimia memiliki perbedaan ciri pada Tabel 2.

Tabel 1. Morfologi Koloni Bakteri Pendegradasi Selulosa

| Isolat | Morfologi Koloni | | | | |
|--------|------------------|--------|---------|--------------|------------|
| | Bentuk | Tepian | Elevasi | Warna | |
| G1PS | Bulat | Licin | Cembung | Putih | |
| G2PS | Bulat | Licin | Cembung | Putih | Kekuningan |
| G3PS | Bulat | Licin | Kasap | Putih | |
| G4PS | Ireguler | Lobale | Datar | Putih | |
| G5PS | Bulat | Licin | Cekung | Putih | |
| G6PS | Bulat | Licin | Cembung | Putih Tulang | |
| G7PS | Bulat | Licin | Cembung | Orange | |
| G8PS | Bulat | Licin | Datar | Putih | |
| G9PS | Bulat | Licin | Cembung | Kuning | |

Tabel 2. Karakter Biokimia Bakteri Pendegradasi Selulosa

| Karakter | Isolat | | | | | | | | |
|----------|--------------------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------------------|
| | G1PS | G2PS | G3PS | G4PS | G5PS | G6PS | G7PS | G8PS | G9PS |
| Gram | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sel | Basil | Basil | Basil | Basil | Basil | Basil | Basil | Basil | Basil |
| Glu | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Lak | + | - | + | - | - | + | - | - | - |
| Man | - | + | + | - | - | + | + | - | - |
| Mal | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Suk | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Lis | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Arg | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Orn | - | - | - | w | - | - | - | - | w |
| OF | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Mot | - | - | + | - | - | + | - | + | - |
| Kat | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Urea | w | + | + | - | + | + | + | + | - |
| Sit | + | + | + | + | - | + | + | + | + |
| Gel | - | - | - | + | + | - | - | - | + |
| KIA | K/A | K/K | K/K | K/K | K/A | K/K | K/K | K/A | K/K |
| Genus | <i>Aceto-</i> <i>bacter</i> | <i>Acinetobacter</i> | <i>Azoto-</i> <i>bacter</i> | <i>Pseudo-</i> <i>monas</i> | <i>Acido-</i> <i>monas</i> | <i>Azoto-</i> <i>bacter</i> | <i>Cellvibrio</i> | <i>Acinetobacter</i> | <i>Pseudo-</i> <i>monas</i> |

Keterangan: + (positif), - (negatif), w (reaksi lemah), K (kalis), A (asam)

Tabel 3. Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa

| Kedalaman (cm) | Titik ($\times 10^7$ CFU/gr) | | | | | Rata-rata ($\times 10^7$ CFU/gr) |
|-------------------|-------------------------------|-----|------|------|-----|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 0-50 | 4,8 | 1,8 | 0,11 | 45 | 73 | 24,942 |
| 50-100 | 71 | 38 | 1,05 | 0,48 | 5,1 | 23,126 |

Perbedaan nilai kepadatan bakteri pada setiap titik pengambilan sampel (Tabel 3) juga sebanding dengan nilai kandungan serat utuh. Kandungan kimia dan sifat fisika tanah gambut serta parameter fisika kimianya tertera pada Tabel 4 dan Tabel 5.

Tabel 4. Kandungan Kimia dan Sifat Fisik Tanah Gambut di Titik Lokasi Penelitian

| Titik | Kandungan Kimia dan Sifat Fisik Gambut | | | |
|-------|--|-----------------|---------------|-------------------|
| | Serat Utuh (%) | C (%) | N (%) | Air Tanah (%) |
| 1 | 26,67-33,33 | 57,24- 57,28 | 1,02- 1,23 | 456,11- 532,92 |

Lanjutan Tabel 4

| Titik | Kandungan Kimia dan Sifat Fisik Gambut | | | |
|-------|--|-----------------|---------------|-------------------|
| | Serat Utuh (%) | C (%) | N (%) | Air Tanah (%) |
| 2 | 23,53-37,5 | 57,37- 57,55 | 1,48- 1,63 | 532,7- 785,59 |
| 3 | 28,13-38,24 | 57,56- 57,63 | 0,83- 1,44 | 622,5- 1142,59 |
| 4 | 23,53-31,25 | 57,49- 57,51 | 0,94- 1,42 | 615,71- 632,25 |
| 5 | 24,71-35,71 | 57,39- 57,56 | 1,11- 1,30 | 567,22- 775,65 |
| Total | 23,53-38,24 | 57,37- 57,63 | 0,83- 1,63 | 532,7- 1142,59 |

Tabel 5. Parameter Fisika Kimia Tanah Gambut Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak

| Titik | Parameter | | |
|-------|--------------------|--------------------|-----|
| | Suhu udara (°C) | Suhu tanah (°C) | pH |
| 1 | 34 | 29 | 3,5 |
| 2 | 33 | 31 | 4 |
| 3 | 33 | 29 | 4 |
| 4 | 30 | 29 | 4 |
| 5 | 30 | 30 | 4 |

Pembahasan

Komposisi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa

Isolasi bakteri pendegradasi selulosa pada lokasi penelitian didapatkan 9 isolat (Tabel 1). Setiap isolat diujikan pada serangkaian media untuk melihat aktivitas biokimia. Aktivitas biokimia setiap jenis bakteri berbeda dikarenakan setiap bakteri mempunyai aktivitas enzimatik yang berbeda (Barrow dan Feltham, 1993). Berdasarkan hasil identifikasi diperoleh 6 genera bakteri yaitu *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Azotobacter*, *Acidomonas*, *Cellvibrio* dan *Pseudomonas*.

Genus *Acetobacter* (isolat G1BPS) memiliki sel berbentuk batang dan termasuk ke dalam golongan bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat non motil dan menghasilkan enzim katalase. Isolat ini tidak mampu melakukan hidrolisis gelatin tapi mampu memanfaatkan beberapa senyawa gula seperti glukosa, laktosa, maltosa dan sukrosa. Beberapa anggota genus *Acetobacter* bersifat motil adapula non motil. Genus *Acetobacter* tidak membentuk endospora, hidup bersifat aerob obligat, tidak melakukan fermentasi alkohol, berbentuk bulat lonjong sampai batang pendek. Metabolisme bakteri ini menghasilkan enzim katalase (Holt, et al., 1994; Nainggolan, 2009).

Genus *Acinetobacter* (isolat G2BPS, G8BPS) memiliki bentuk *cocobacil* dan merupakan golongan bakteri gram negatif. Bakteri ini bersifat aerob dan memiliki enzim katalase. *Acinetobacter* dapat memanfaatkan glukosa, manitol, maltosa dan sukrosa. Bakteri genus ini memanfaatkan gula dengan oksidasi (Barrow dan Feltham, 1993). Sel tidak membentuk spora dan tidak motil. Genus *Acinetobacter* dapat tumbuh dalam rentang suhu 20°-30°C, namun sebagian besar dapat tumbuh optimal pada suhu 33°-35°C (Pelczar dan Chan, 2005.).

Genus *Azotobacter* (isolat G3BPS, G6BPS) memiliki bentuk sel batang dan termasuk bakteri gram negatif. Bakteri bersifat motil dan mampu menghasilkan enzim sitrase. Beberapa strain ada bersifat motil ada pula yang non motil. Bakteri ini bersifat aerobik namun dapat pula hidup pada kondisi oksigen yang rendah. *Azotobacter* bersifat kemoautotrof untuk mengolah sumber energi untuk pertumbuhan (Holt, et al, 1994).

Genus *Pseudomonas* (isolat G4BPS, G9BPS) memiliki sel berbentuk batang dan gram negatif, hasil uji biokimianya adalah katalase positif, motilitas positif atau negatif, ornithin positif, simmon citrate positif, hidrolisis gelatin positif, terdapat gas, dan tidak mengandung H₂S (Holt et al., 1994). Barrow dan Feltham (1993) menambahkan bakteri *Pseudomonas* termasuk ke dalam bakteri gram negatif, berbentuk batang, bersifat aerob, dan menghasilkan enzim katalase.

Genus *Acidomonas* (isolat G5BPS) memiliki koloni berbentuk bulat, tepian halus, elevasi cembung dan warna krem (Holt, et al., 1994). Secara mikroskopis sel bakteri ini berbentuk batang dan termasuk ke dalam golongan bakteri gram negatif. Karakter uji biokimia genus *Acidomonas* adalah katalase positif, tidak bersifat motil, indol negatif, ornitin negatif, Simon Citrate negatif, hidrolisis gelatin positif dan tidak mengandung H₂S.

Genus *Cellvibrio* (isolat G7BPS) dapat memanfaatkan karbohidrat seperti glukosa, laktosa, maltosa dan sukrosa. Pada uji motilitas, katalase, urease dan sitrat didapatkan hasil positif. *Cellvibrio* dapat menghidrolisis selulosa. Holt, et al. (1994) menyatakan bakteri *Cellvibrio* merupakan golongan bakteri yang bersifat gram negatif. Sel bakteri berbentuk batang dan motil. Bakteri ini hidup dalam kondisi aerob dan menghasilkan enzim katalase.

Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa

Serat mengandung senyawa selulosa yang merupakan bahan yang dimanfaatkan oleh bakteri sehingga kepadatan bakteri dapat berpengaruh pada kadar serat pada gambut. Nilai kepadatan bakteri pada lokasi penelitian berkisar antara $23,126 \times 10^7$ - $24,942 \times 10^7$ CFU/ml (Tabel 3). Malatova (2005) mengemukakan bakteri pendegradasi memiliki kemampuan menggunakan atau merombak senyawa organik untuk pertumbuhan dan sumber energi bagi bakteri. Keberadaan bakteri ini memiliki peran dalam membantu proses degradasi selulosa pada serat. Organisme dapat mendegradasi selulosa dan menjadikan selulosa sebagai sumber karbon tunggal yang secara ekologi menjadi sangat penting (Levin et al., 2009 dalam Ambriyanto, 2010).

Kepadatan bakteri ini belum mampu menurunkan nilai karbon pada lokasi penelitian. Kondisi ini ditunjukkan dengan tingginya nilai C yaitu 57,24%-57,63% dan nilai N 0,83%-1,63% (Tabel

4). Semakin tinggi nilai C, maka proses penguraian juga akan semakin lama karena aktivitas bakteri yang berbeda-beda. Kecepatan dan tingkat aktivitas pada bakteri pendegradasi tidak sama dan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, kondisi bahan yang didegradasi atau kompleks enzim yang dihasilkan bakteri itu sendiri (Nurmayani, 2009; Meryandini, *et al.*, 2009).

Kandungan air tanah dapat mempengaruhi aktivitas bakteri. Kandungan air tanah yang tinggi yaitu 532,7-1142,59% (Tabel 4) membuat kondisi lingkungan tanah menjadi kurang oksigen yang digunakan oleh bakteri. Bakteri yang ditemukan bersifat aerob dan anaerob fakultatif yang memerlukan oksigen dalam aktivitasnya. Menurut Levin *et al.*, (2009) dalam Ambriyanto (2010) sebagian besar proses degradasi selulosa terjadi dalam keadaan aerob sehingga kurangnya oksigen dapat menghambat aktivitas bakteri.

Aktivitas bakteri pendegradasi selulosa juga dipengaruhi oleh pH tanah dan suhu. Nilai pH pada lokasi penelitian berkisar antar 3,5 sampai 4 (Tabel 5). Kemasaman tanah dapat menyebabkan bakteri tanah dapat menghambat aktivitas enzim pada bakteri. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, perubahan pH atau pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim berubah (Girindra, 1993 dalam Meryandini, *et al.*, 2009). Bakteri memiliki rentang nilai pH yang beragam. Bakteri pendegradasi selulosa yang diisolasi pada daerah yang masam dapat menghasilkan enzim aviselase yang merupakan salah satu enzim dari sistem enzim selulase dan memiliki pH optimum 4,5 dan 5 dengan rentang pH 4-9 (Walter, 1996).

Nilai kadar serat dapat digunakan sebagai penentu kematangan tanah gambut (Mudiyarso, *et al.*, 2004). Kadar serat pada lokasi ini dapat dikategorikan memiliki kematangan saprik hingga hemik karena kadar seratnya mulai dari dibawah 33% hingga 66%. Gambut memiliki tingkat kematangan fibrik bila kadar serat >66%, hemik bila kadar serat antara 33%-66% dan saprik bila kadar serat <33%.

DAFTAR PUSTAKA

Ambriyanto, K. S., 2010, Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum* Schum), Jurusan Biologi Fakultas

- Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Barrow, G.I., R.K.A. Feltham, 1993, Cowan and Steel's Manual For The Identification of Medical Bacteria, Cambridge University Press, United Kingdom.
- Brady, M.A, 1997,Organic Matter Dynamic of Coastal Peat Deposit in Sumatera,Indonesia,*Phd thesis*, The University of British Columbia.
- Cailliez, C. C., Benoit, L., Gelhaye, E., Petitdemange, H., and Raval, G. 1993. Solubilization of cellulose by mesophilic cellulolytic clostridia isolated from a municipal solid-waste digester. *Bioresource Technology*, 43:77-83.
- Girindra, A, 1993, Biokimia I, PT Gramedia Pustaka, Jakarta, p. 91-113
- Holt, J. G.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H. A.; Staley, J. T dan Williams, S. T., 1994, Bergeys Manual Determinative Bacteriology, Edisi Ke 9, Lippincott Williams dan Wilki N. S, Amerika.
- Krairiththichai, S. dan Thongwai, N., 2005, Isolation And Screening For Cellulase Producing Bacteria, In *34th Congress On Science And Technology Of Thailand*.
- Leschine, S.B.,1995, Cellulose degradation in Anaerobic Environments, *Annu. Rev. Microbiol*, vol. 49: 399-426.
- Levin, D. B., Carere C. R., Cicek R., Sparling R., 2009, Challenges for biohydrogen production via direct lignocellulose fermentation, *International journal of hydrogen energy*, 34:7390–7403.
- Malatova, K, 2005, Isolation And Characterization Of Hydrocarbon Degrading Bacteria From Environmental Habitats In Western New York State, *Thesis*, Department of Chemistry Rochester Institute of Technology Rochester, New York.
- Meryandini, A; W. Widosari; B. Maranatha; T. C. Sunarti; N. Rachmania; H. Satria, 2009, Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya, *Makara*, Sains, Vol. 13, No. 1, April 2009: 33-38.
- Mudiyarso, D.; Rosalina, U.; Hairiah, K.; Muslihat, L.; Suryadiputra, I.N.N.; Jaya, A., 2004, Petunjuk Lapangan: Pendugaan Cadangan Karbon Pada Lahan Gambut, Proyek Climate Change, Forests and Peatlands in Indonesia, Wetlands International – Indonesia Programme dan Wildlife Habitat Canada, Bogor, Indonesia.
- Nainggolan, Jusman, 2009, Kajian Pertumbuhan Bakteri Acetobacter sp. Dalam Kombucha-Rosela Merah (*Hibiscus sabdarifa*) Pada Kadar Gula dan Lama Fermentasi Yang Berbeda, *Tesis*, Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Nurmayani, D, 2009, Isolasi dan Uji Potensi Mikroorganisme Selulolitik Asal Tanah Gambut dan Kayu Sedang Melapuk Dalam Mendekomposisikan Kayu, *Skripsi*, Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan.

Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan, 2005, Dasar-Dasar Mikrobiologi 2, UI Press, Jakarta.

Saraswati, R; Simanungkalit, R.D.M.; Suriadikarta, D. A.; Setyorini, D; dan Hartatik, W, 2006, Pupuk Organik Dan Pupuk hayati: Organic Fertilizer And Biofertilizer, Balai Besar Penelitian dan

Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian, Bogor, Indonesia.

Walter, S dan Schrempf, H. J., 1996, Applied and Environ Microbiol. 62 (1996) 1065

Waluyo, L, 2008, Teknik Dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi, Universitas Muhammadiyah Malam Press, Malang