



PAPER – OPEN ACCESS

Isolasi dan karakteristik bakteri lignoselulolitik rumen kerbau sebagai pendegradasi komponen serat

Author : D.R. Purba
DOI : 10.32734/st.v1i2.287
Electronic ISSN : 2654-7082
Print ISSN : 2654-7074

Volume 1 Issue 2 – 2018 TALENTA Conference Series: Science & Technology (ST)



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Published under licence by TALENTA Publisher, Universitas Sumatera Utara



Isolasi dan karakteristik bakteri lignoselulolitik rumen kerbau sebagai pendegradasi komponen serat

N.D.Hanafi^a, M.Tafsin^a, D.R.Purba^a

^a*Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia*

dianrizki_purba@yahoo.com

Abstract

Meningkatkan pencernaan komponen serat dalam rumen dapat melalui penambahan bakteri lignoselulolitik yang berasal dari rumen kerbau dalam ransum berserat pada ternak ruminansia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri lignoselulolitik rumen kerbau sehingga akan memperoleh isolat bakteri yang mempunyai kemampuan degradasi komponen serat yang tinggi. Penelitian ini menggunakan metode isolasi Hungate yaitu menggunakan medium selektif yang ditumbuhkan pada media roll tube. Medium selektif yang digunakan yaitu Carboxy Methyl Cellulosa/CMC sebagai substrat bakteri selulolitik, xylan sebagai substrat bakteri silanolitik dan asam tanat sebagai substrat bakteri lignolitik. Dari hasil penelitian ini diperoleh 14 isolat lignoselulolitik yaitu 5 isolat selulolitik, 5 isolat silanolitik dan 4 isolat lignolitik. Berdasarkan uji semikuantitatif diperoleh zona bening dan zona difusi warna coklat yang memiliki diameter terluas antara lain isolat CMC1 (bakteri selulolitik), XY5 (bakteri silanolitik) dan AT4 (bakteri lignolitik) sehingga ketiga isolat tersebut yang memiliki kemampuan mencerna serat terbaik.

1. Pendahuluan

Populasi mikroba rumen kerbau lebih tinggi jika dibandingkan mikroba rumen sapi, hal ini disebabkan kerbau sering digembalakan dan mengkonsumsi hijauan yang berkualitas rendah, rumput lapangan, limbah pertanian yang struktur dasarnya mengandung lignoselulosa tinggi sebagai sumber energi utamanya sehingga mikroba yang tumbuh pada rumen kerbau lebih bervariasi daripada cairan rumen sapi. Namun sesungguhnya konversi serat kasar pakan menjadi produk pada ruminansia yang dipelihara intensif belumlah optimal, karena hanya 10-35% energi dari serat kasar yang dapat dimanfaatkan. Kondisi ini terjadi karena 20% sampai 70% selulosa tidak tercerna dan keluar bersama feses hal ini mengacu pada Varga dan Kovler [1]. Dalam meningkatkan pencernaan komponen serat dapat melalui penambahan bakteri lignoselulolitik yang berasal dari rumen kerbau dalam ransum berserat pada sapi. Bakteri lignoselulolitik diperoleh dengan cara mengisolasi dari cairan rumen kerbau. Isolasi merupakan proses pemurniaan bakteri dari sekelompok yang terdapat dalam habitat yang sama sehingga mendapatkan bakteri murni yang hanya terdiri dari satu spesies saja, dalam hal ini yang akan diperoleh adalah bakteri lignoselulolitik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri lignoselulolitik rumen kerbau sehingga akan memperoleh isolat yang mempunyai kemampuan degradasi komponen serat yang tinggi.

2. Bahan dan Metode

2.1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Ternak Program Studi Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara Medan, Indonesia.

2.2. Metode

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan mulai bulan April sampai Juni 2017. Bahan penelitian meliputi sampel segar cairan rumen kerbau digunakan sebagai sumber mikrobia. Larutan pengencer dan medium selektif bakteri digunakan sebagai medium isolasi. Selulosa, silan dan asam tanat digunakan sebagai substrat dalam medium selektif. Medium selektif bakteri yang digunakan mengacu pada Hungate [2] dan Ogimoto dan Imai [3].

Metode penelitian dilakukan dengan tahapan seperti dibawah ini :

Pembuatan larutan mineral : mineral berupa formula larutan No.32 sesuai petunjuk Bryant and Burkey yang mengacu pada Ogimoto and Imai [3]. Setelah pembuatan larutan mineral maka dilanjutkan dengan pembuatan larutan pengencer dengan komposisi larutan merupakan medium No.18 sesuai petunjuk Bryant and Burkey yang mengacu pada Ogimoto and Imai[3].

Sampel yang berasal dari rumen kerbau diencerkan sampai 10⁹ sebagai sumber mikrobia. Untuk mendapatkan hasil yang baik diinokulasikan 0,5 ml dari tabung pengenceran 10⁵ ke dalam medium selektif bakteri. Setelah melakukan pengenceran sumber mikrobia maka dilakukan isolasi bakteri lignoselulolitik dengan mengkulturkan sumber mikrobia pada medium selektif padat yang mengacu pada metode Hungate[2].

Seleksi koloni bakteri lignoselulolitik secara semikuantitatif : koloni bakteri lignoselulolitik yang tumbuh dalam medium roll tube secara individual dipilih dan dipindahkan ke dalam medium padat cawan petri secara anaerob. Komposisi medium padat sama dengan medium selektif dengan menambahkan 2 g ekstrak yeast sebagai pengkaya nutrien. Koloni bakteri yang tumbuh diidentifikasi secara semikuantitatif dengan mencatat warna, diameter dan zona difusi koloni serta zona bening (clear zone) disekitar koloni.

3. Hasil

3.1. Isolasi Bakteri Rumen Kerbau

Setelah dilakukan isolasi bakteri lignoselulolitik maka dihasilkan 14 isolat yaitu 5 isolat pendegradasi selulosa (CMC), 5 isolat pendegradasi silan (XY) dan 4 isolat pendegradasi lignin (AT). Hasil pengamatan karakteristik isolat secara makroskopik tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik isolat secara makroskopik

ISOL AT	KARAKTERISTIK					
	Substart	Bentuk	Warna	Struktur	Tepi	Elevasi
CMC1	<i>Carboxy Methyl Cellulosa/CMC</i>	Rhizoid	Pinggiran putih, tengah bening	Lendir	Berambut	Timbul datar
CMC2	<i>Carboxy Methyl Cellulosa/CMC</i>	Rhizoid	Putih	Lendir	Berambut	Timbul datar
CMC3	<i>Carboxy Methyl Cellulosa/CMC</i>	Sirkuler	Putih	Lendir	bergelombang	Rata

CMC4	<i>Carboxy Methyl Cellulosa/CMC</i>	Ireguler	Putih	Lendir	Berambut	Rata
CMC5	<i>Carboxy Methyl Cellulosa/CMC</i>	Ireguler	Putih kekuningan	Lendir	Berambut	Timbul datar
XY1	<i>Xylan</i>	Sirkuler	Kuning kekuningan	Lendir	Berambut	Timbul datar
XY2	<i>Xylan</i>	Rhizoid	Kuning kekuningan	Lendir	bergelombang	Rata
XY3	<i>Xylan</i>	Sirkuler	Kuningkehijauhijauan	Lendir	bergelombang	Rata
XY4	<i>Xylan</i>	Rhizoid	Hijau muda	Lendir	Berambut	Rata
XY5	<i>Xylan</i>	Ireguler	Kuningkehijauhijauan	Lendir	bergelombang	Timbul datar
AT1	Asam tanat	Rhizoid	Abu kehijauan	Halus	Bergelombang	Membukit
AT2	Asam tanat	Sirkuler	Abu gelap	Halus	Bergelombang	Membukit
AT3	Asam tanat	Ireguler	Abu gelap	Halus	Bergelombang	Membukit
AT4	Asam tanat	Rhizoid	Abu kehijauan	Halus	Bergelombang	Membukit

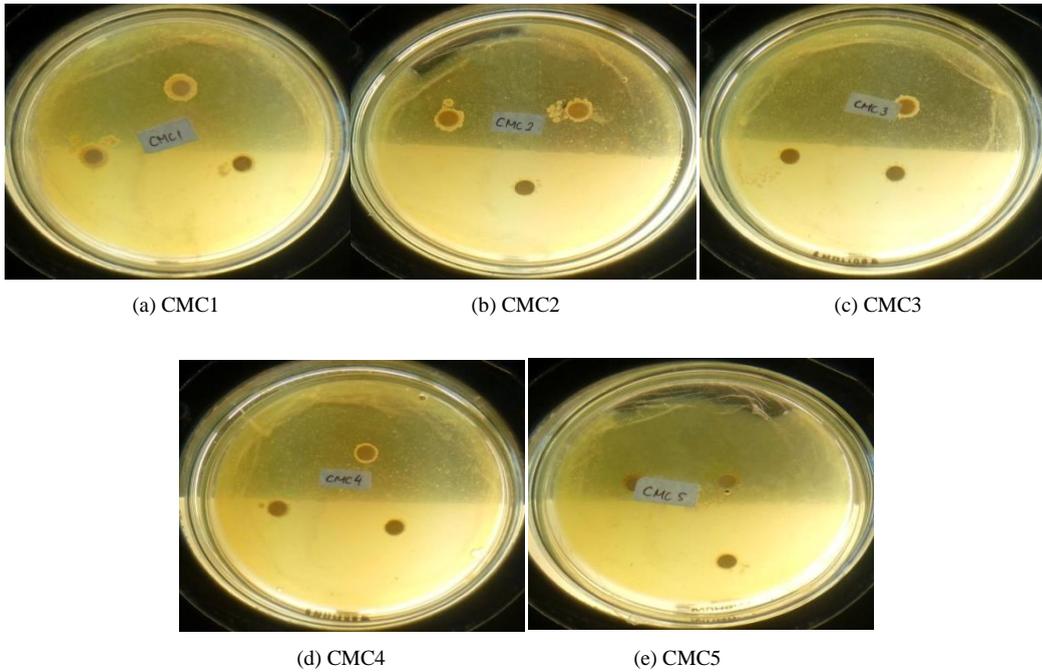
3.2. Pengukuran Aktivitas Semikuantitatif Bakteri

3.2.1. Pengukuran Zona Bening Bakteri Selulolitik

Kemampuan isolat mendegradasi substrat ditentukan dari diameter zona bening yang terbentuk pada medium yang mengandung substrat *Carboxy Methyl Cellulosa/CMC*. Semakin luas zona bening yang terbentuk maka semakin tinggi juga kemampuan isolat dalam mendegradasi selulosa. Hasil pengukuran zona bening pada tiap isolat tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan zona bening (mm) isolat pendegrasi selulosa

Isolat	Rataan \pm SD
CMC1	12,33 \pm 2,96
CMC2	11,46 \pm 1,95
CMC3	10,56 \pm 0,51
CMC4	9,36 \pm 2,30
CMC5	9,80 \pm 1,99



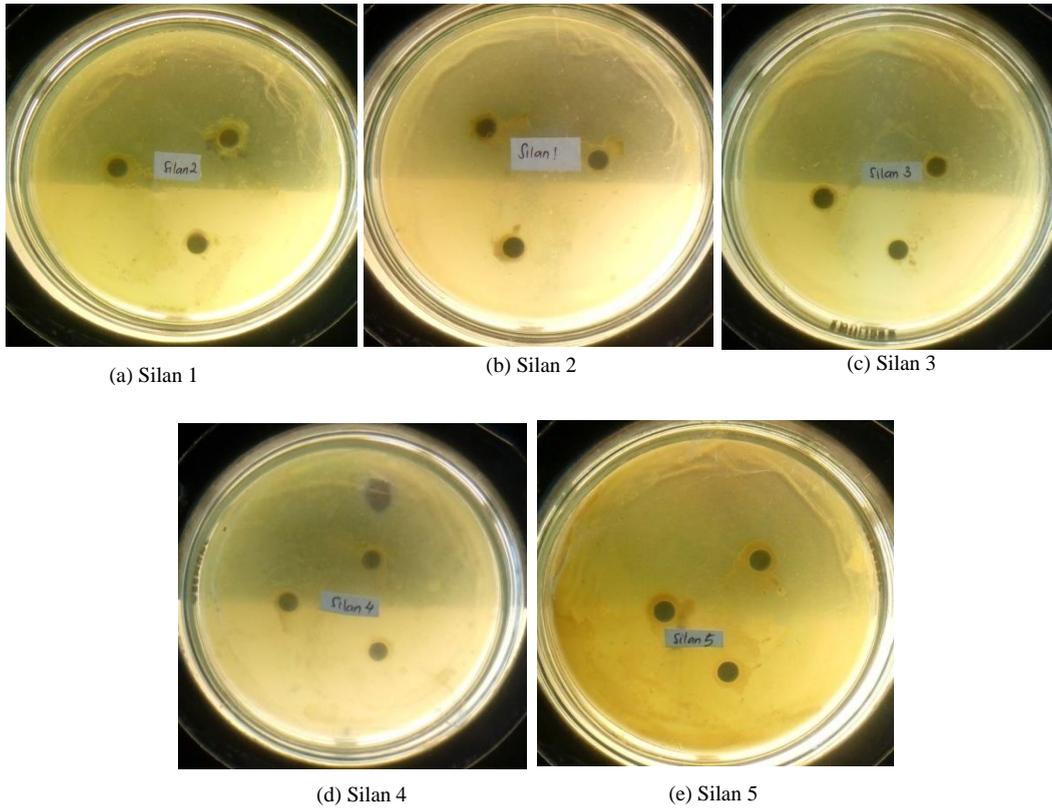
Gambar 1. Zona bening bakteri selulolitik

3.3. Pengukuran Zona Bening Bakteri Silanolitik

Hasil pengukuran zona bening pada tiap isolat tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan zona bening (mm) isolat perombak silan

Isolat	Rataan \pm SD
XY1	13,56 \pm 1,88
XY2	12,30 \pm 1,04
XY3	10,26 \pm 0,35
XY4	10,76 \pm 0,76
XY5	14,16 \pm 1,32



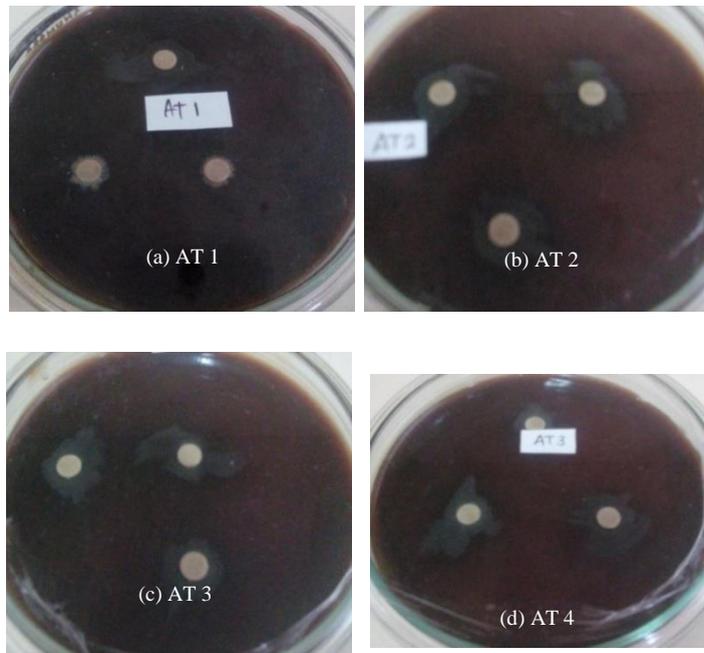
Gambar 2. Zona bening bakteri silanolitik

3.4. Pengukuran Zona Coklat Bakteri Lignolitik

Hasil pengukuran zona bening pada tiap isolat tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan zona bening (mm) isolat perombak lignin

Isolat	Rataan \pm SD
AT1	17,23 \pm 1,26
AT2	18,66 \pm 1,05
AT3	18,30 \pm 2,21
AT4	20,06 \pm 1,55



Gambar 3. Zona bening bakteri lignoselulolitik

4. PEMBAHASAN

4.1. Isolasi Bakteri Rumen Kerbau

Pada penelitian ini, metode isolasi rumen kerbau yang digunakan adalah metode Medium selektif bakteri yang digunakan mengacu pada Hungate^[2] dan Ogimoto dan Imai^[3] yaitu menggunakan medium selektif yang ditumbuhkan pada medium roll tube. Koloni bakteri selulolitik yang tumbuh dalam medium roll tube secara individual dipilih dengan mengamati pertumbuhan dan kerapatan tumbuh bakteri lignoselulolitik. Koloni yang tumbuh secara makroskopis mempunyai ciri-ciri : koloni tumbuh seperti bintang-bintang oval di sekeliling media dan berwarna putih. Hal ini sesuai dengan pernyataan Siti *et al*^[4] yang menyatakan Koloni mulai terlihat pada hari ketiga inkubasi pada temperatur 39°C dalam media *agar roll tube*. Hasil pengamatan secara morfologis menunjukkan bahwa bakteri selulolitik yang diisolasi dari rumen kerbau mempunyai bentuk oval berwarna putih/krem. Koloni bakteri yang tumbuh diamati morfologinya dan dimurnikan dengan metode *streak quadrant* pada medium pertumbuhan selektif pada cawan petri. Kegiatan dilakukan berulang sampai isolat bakteri yang dihasilkan merupakan kultur tunggal. Setelah menemukan isolat murni maka akan dilakukan pengamatan karakteristik isolat dan pengukuran aktivitas semikuantitatif bakteri.

4.1. Pengukuran Aktivitas Semikuantitatif Bakteri

4.1.1. Pengukuran Zona Bening Bakteri Selulolitik

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa kelima isolat bakteri selulolitik menunjukkan aktivitas selulolitik dengan menunjukkan zona bening dengan diameter yang berbeda-beda. Kemampuan bakteri dalam membentuk zona bening menunjukkan bahwa bakteri dapat memproduksi enzim selulase menjadikannya mampu menghidrolisis selulosa yang terdapat pada substratnya menjadi glukosa yang dapat dijadikan sumber karbon bagi pertumbuhannya. Kemampuan

isolat mendegradasi komponen serat dapat meningkat apabila produksi enzim pemecah serat dapat ditingkatkan hal ini mengacu pada Adriani *et al* [5].

Isolat bakteri selulolitik CMC1 menunjukkan aktivitas selulolitik yang paling tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya. Lebih jelasnya tersaji pada tabel 2. Isolat bakteri selulolitik CMC1 yang mempunyai kemampuan paling besar dalam mencerna serat. Terlihat bahwa isolat bakteri selulolitik CMC 1 mempunyai zona bening yang paling luas, sedangkan isolat bakteri selulolitik CMC4 memiliki zona bening paling sedikit. Hal ini berarti bahwa isolat bakteri selulolitik CMC1 mempunyai kemampuan dalam mencerna serat kasar paling tinggi dibandingkan isolat lainnya.

Isolat CMC1 merupakan isolat terbaik mendegradasi selulosa ditandai dengan luas zona bening 12,33 mm sedangkan pada penelitian Siti *et al*^[4] menyatakan bahwa hasil penelitian isolasi bakteri selulolitik rumen kerbau sebagai probiotik untuk meningkatkan pencernaan ampas tahu pada pengukuran zona bening isolat diperoleh isolat bakteri selulolitik B-6 yang mempunyai kemampuan paling besar dalam mencerna serat yaitu mempunyai zona bening yang paling lebar 4,19 mm.

4.1.2. Pengukuran Zona Bening Bakteri Silanolitik

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa kelima isolat bakteri silanolitik menunjukkan aktivitas silanolitik dengan menunjukkan zona bening dengan diameter yang berbeda-beda. Besar kecilnya zona bening dan jelas tidaknya zona bening, merupakan indikator kemampuan mikroba tersebut untuk merombak selulosa, demikian juga cepat dan lambatnya timbul zona bening tersebut hal ini memacu pada Ullrey *et al*[6].

Dari kelima isolat, isolat bakteri silanolitik XY5 menunjukkan aktivitas silanolitik yang paling tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya. Lebih jelasnya tersaji pada tabel 3. Isolat bakteri silanolitik XY5 yang mempunyai kemampuan paling besar dalam mencerna hemiselulosa. Terlihat bahwa isolat bakteri silanolitik XY5 mempunyai zona bening yang paling lebar, sedangkan isolat bakteri silanolitik XY3 memiliki zona bening paling sedikit. Hal ini berarti bahwa isolat bakteri silanolitik XY5 mempunyai kemampuan dalam mencerna hemiselulosa paling tinggi dibandingkan isolat lainnya.

4.1.3. Pengukuran Zona Coklat Bakteri Lignolitik

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa keempat isolat bakteri lignolitik menunjukkan aktivitas lignolitik dengan menunjukkan zona difusi warna coklat dengan diameter yang berbeda-beda. Isolat bakteri selulolitik AT4 menunjukkan aktivitas lignolitik yang paling tinggi dibandingkan dengan isolate lainnya. Lebih jelasnya tersaji pada tabel 3. Isolat bakteri lignolitik AT4 yang mempunyai kemampuan paling besar dalam mencerna lignin. Terlihat bahwa isolat bakteri lignolitik AT4 mempunyai zona difusi warna coklat yang paling lebar, sedangkan isolat bakteri lignolitik AT1 memiliki zona difusi warna coklat paling sedikit. Hal ini berarti bahwa isolat bakteri lignolitik AT4 mempunyai kemampuan dalam mencerna serat lignin paling tinggi dibandingkan isolat lainnya.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri lignolitik mempunyai kualitas yang baik dalam mencerna lignin. Hal ini dibuktikan dengan hasil pengukuran zona difusi warna coklat yang nilainya diatas 10 mm. Berdasarkan klasifikasi Subba Rao^[7] dan Martani^[8] keempat isolat bakteri lignolitik termasuk ke kelas 5. Kemampuan lignolitik bakteri ditentukan berdasarkan klasifikasi Subba Rao^[7] dan Martani^[8] adalah : Kelas 0 : negatif, tidak ada warna dibawah atau di sekeliling koloni, Kelas 1 : terjadi pertumbuhan warna di bawah atau di sekeliling koloni, Kelas 2 : terjadi difusi warna coklat muda sampai coklat tua di bagian bawah koloni, Kelas 3 : terjadi difusi warna coklat muda sampai coklat tua di bagian bawah koloni dengan jarak perluasan difusi warna 1 – 5 mm, Kelas 4 : terjadi difusi warna coklat muda sampai coklat tua di bagian bawah koloni dengan jarak perluasan 6 – 10mm, Kelas 5 : terjadi difusi warna coklat tua dengan jarak perluasan difusi lebih dari 10 mm.

5. Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian ini diperoleh 14 isolat lignoselulolitik yaitu 5 isolat selulolitik, 5 isolat silanolitik dan 4 isolat lignolitik. Berdasarkan uji semikuantitatif diperoleh zona bening dan zona difusi warna coklat yang memiliki diameter terluas antara lain isolat CMC1 (bakteri selulolitik), XY5 (bakteri silanolitik) dan AT4 (bakteri lignolitik) sehingga ketiga isolat tersebut yang memiliki kemampuan mencerna serat terbaik. Disarankan untuk melakukan uji lanjutan ke pakan sumber serat secara invitro maupun invivo agar lebih mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi serat.

4.1 UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada sponsor (penyandang dana) yaitu Kemenristekdikti yang telah membantu dalam pendaan penelitian ini.

Referensi

- [1] Varga, G. A. and E. S. Kovler. 1997. Microbial and animal limitation to fiber digestion and utilization. *J. Nutr.* 127 (5) : 819-823
- [2] Hungate, R. E. 1966. *The Rumen and Its Microbes*. Academic Press. New York
- [3] Ogimoto, K. and S. Imai. 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. JapanScientific Societies Press. Tokyo
- [4] Isolasi Bakteri Selulolitik Rumen Kerbau sebagai Probiotok untuk Meningkatkan Kecernaan Ampas Tahu 2010 Published on the Internet <http://erepo.unud.ac.id/1762/1/50648998231fdccbe308d6ce499c699c.pdf>
- [5] Isolasi dan Identifikasi Mikroba Selulolitik sebagai Biodegradator Serat Kasar dalam Bahan Pakan dari Limbah Pertanian 2012 Published on the Internet <http://jurnal.unpad.ac.id/ijas/article/view/2742>
- [6] Ullrey, D. E., S. D. Crissey, and H. F. Hintz. 1997. *Elephants : Nutrition and Dietary Husbandry*, Michigan State University
- [7] Subba Rao, N.S. 2001. *Soil Microbiology*, 4thed. Science Publishers Inc. New Hampshire 03748
- [8] Martani, E., N. Haedar dan S. Margino. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri pendegradasi lignin dari beberapa substrat alami. *Gama Sains*