

PUBLIKASI ILMIAH

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SELULOLITIK SALURAN
PENCERNAAN ANGSA (*Cygnus olor*) UNTUK MENDUKUNG
DEGRADASI PAKAN SERAT**



OLEH:

**MUHAMMAD SUBHAN BAHRUDIN ROSYIDI
B1D 019 182**

**Program Sarjana (S-1)
Program Studi Peternakan**

**F A K U L T A S P E T E R N A K A N
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023**

HALAMAN PENGESAHAN
ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SELULOLITIK SALURAN
PENCERNAAN ANGSA (*Cygnus olor*) UNTUK MENDUKUNG
DEGRADASI PAKAN SERAT

PUBLIKASI ILMIAH



Oleh:

Muhammad Subhan Bahrudin Rosyidi
BID 019 182

Menyetujui:
Pembimbing Utama

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'A' followed by a long horizontal stroke that curves upwards at the end.

Prof. Muhamad Ali, S.Pt., M.Si., Ph.D
NIP: 19720727 199903 1002

F A K U L T A S P E T E R N A K A N
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI SELULOLITIK SALURAN
PENCERNAAN ANGSA (*Cygnus Olor*) UNTUK Mendukung DEGRADASI
PAKAN SERAT**

*(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF GOOS (*Cygnus Olor*) DIGESTIVE TRACT
CELLULOLOTIC BACTERIA TO SUPPORT FIBER FEED DEGRADATION)*

Muhammad Subhan Bahrudin Rosyidi¹, Muhamad Ali², Wayan Wariata³

¹Mahasiswa Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram,

²Dosen Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram,

³Dosen Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram,

*Email: subhanrosidi0506@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri selulolitik merupakan bakteri penghasil enzim selulase yang mampu mendegradasi substrat selulosa. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi serta mengukur aktivitas enzim selulase bakteri selulolitik yang diisolasi dari saluran pencernaan angsa (*Cygnus olor*) di Mataram. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan media selektif *de man rogosa sharpe* (MRS) dengan metode *spread plate*. Kemudian dilanjutkan uji aktivitas enzim ekstraseluler yang dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat murni terpilih pada media *Carboxy Methyl Cellulose* 1% (CMC 1%) kemudian dituangkan cairan *congo red* 0,1% dan dibilas dengan larutan NaCl 1M untuk mengetahui adanya aktivitas selulolitik (potensi selulolitik ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni) serta dilanjutkan pengukuran indeks selulolitik. Hasil isolasi bakteri diperoleh 4 isolat yang berpotensi untuk mendukung degradasi serat pada pakan ternak. Indeks selulolitik tertinggi dihasilkan oleh isolat dengan kode S₁ yang mencapai 34,5 mm. sedangkan indeks selulolitik terendah dihasilkan oleh 2 isolat dengan kode J₁ dan I₂ mencapai 18,8 mm. **Kata kunci:** Selulolitik, enzim selulase, degradasi serat, angsa.

ABSTRACT

Cellulolytic bacteria are bacteria that produce cellulase enzymes which are capable of degrading cellulose substrates. This study aims to isolate and identify and measure the cellulase enzyme activity of cellulolytic bacteria isolated from the digestive tract of goose (*cygnus olor*) in Mataram. Bacterial isolation was carried out using selective media *de man rogosa sharpe* (MRS) by method *spread plate*. Then the extracellular enzyme activity test was carried out by growing selected pure isolates on the media *Carboxy Methyl Cellulose* 1% (CMC 1%) then poured liquid *congo red* 0.1% and rinsed with 1M NaCl solution to determine the presence of cellulolytic activity (cellulolytic potential is indicated by the appearance of clear zones around the colonies) and continued to measure the cellulolytic index. The results of bacterial isolation obtained 4 isolates that have the potential to support fiber degradation in animal feed. The highest cellulolytic index was produced by isolate with S code₁ which reaches 34.5 mm. while the lowest cellulolytic index was produced by 2 isolates with code J₁ and I₂ up to 18.8mm.

Keywords: Cellulolytic, cellulase enzyme, fiber degradation, goose.

PENDAHULUAN

Industri peternakan merupakan salah satu usaha strategis untuk memenuhi kebutuhan pangan di Indonesia. Terutama industri ternak unggas yang mengalami pertumbuhan pesat sehingga menjadi ujung tombak dalam pemenuhan kebutuhan konsumsi daging nasional (Ditjen PKH, 2017) hal ini diperkuat oleh Dimiyati (2018) yang menjelaskan bahwa tingkat konsumsi daging ayam pada tahun 2017 mencapai sebesar 12,5 kg/kapita/tahun dengan peningkatan hampir 11% setiap tahunnya. Peningkatan konsumsi daging tersebut berkorelasi terhadap peningkatan produktivitas ternak serta efisiensi pakan ternak.

Pakan merupakan salah satu kunci utama penentu keberhasilan suatu usaha bidang peternakan (Reski *et al.*, 2021). Pemberian pakan yang berkualitas dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup ternak yang dibudidayakan. Tingginya harga pakan komersial yang kaya akan protein menjadi kendala utama dalam mengembangkan usaha peternakan, sehingga banyak peternak yang memanfaatkan pakan lokal sebagai bahan pengganti pakan komersial.

Pemanfaatan bahan baku limbah pertanian sebagai pakan ternak merupakan solusi alternatif saat ini. Selain itu, dapat menekan biaya produksi. Bahan baku limbah pertanian diantaranya seperti; dedak jagung, dedak padi, kulit kopi, tongkol jagung dan limbah pertanian lainnya. Namun demikian bahan-bahan tersebut memiliki kandungan protein yang rendah dan kandungan serat kasar yang tinggi. Serat kasar terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin yang sebagian besar tidak dapat dicerna oleh unggas dan bersifat sebagai pengganjal atau *bulky* (Raharjo dan

Isnawati, 2022; Purnamasari *et al.*, 2020; Wardah dan Panjaitan 2019; Wahju, 2004).

Kadar selulosa yang tinggi pada bahan pakan dapat dihidrolisa dengan menggunakan enzim selulase karena enzim ini memiliki kemampuan untuk menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa (Seprianto, 2017; Saratale, 2012). Enzim selulase dapat diproduksi dari mikroba selulolitik baik kapang maupun bakteri. Beberapa genus bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik adalah *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Clostridium*, *Cellivibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Poliangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula* (Rao 1994), *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* dan *Aeromonas* (Anand *et al.*, 2009).

Kandungan serat yang tinggi pada pakan lokal dapat didegradasi menggunakan teknologi yang tepat, salah satunya memanfaatkan bakteri yang memiliki kemampuan memproduksi enzim selulase. Bakteri tersebut dapat ditemukan melalui teknik isolasi pada habitatnya, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri pada saluran pencernaan angsa (*Cygnus olor*) dengan tujuan untuk menemukan bakteri yang memiliki kemampuan memproduksi enzim selulase yang dapat mendukung degradasi serat kasar pada pakan ternak.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram pada bulan April – Juli 2023.

Alat dan Bahan

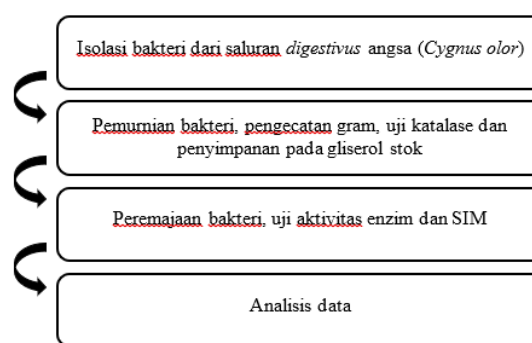
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat – alat bedah, *autoclave*, anaerobic jar, cawan petri, *centrifuge*, cover glass, elektroforator, erlenmeyer, *freezer -20° C*, *freezer -80° C*, gelas ukur, gunting, *hot plate stirrer*, *incubator*, jarum ose, jembatan pengecatan, kaca objek, laminar air flow, lampu bunsen, magnetic stirrer, *microcentrifuge tube* 1,5 mL, mikroskop, *microtube* 0,5 mL, mikro pipet, mikro tip dengan ukuran (2 μ L, 10 μ L, 20 μ L, 200 μ L, 1 ml), oven, penggaris, petridish, pH meter, pipet volum, rak tabung reaksi, spektrofotometri, *spreader*, tabung reaksi, timangan analitik, tube PCR 0,2 mL, UV transilluminator dan *vortex*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain aluminium foil, air fuchsin, air, alkohol 70%, aquades steril, etanol, kapas, kain kasa, kertas label, paper disk, larutan gentamin violet, larutan lugol, larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*), larutan reagen kovacs, *immersion oil*, media LB (*Lysogeny broth*), media CMC (*Carboxy Methyl Celulose*), media MRS (*de man Rogosa Sharpe*), Media SIM (*Sulfide Indol Motility*), *plastic wrap*, 1x buffer TAE, bahan cat Gram (karbon gentian violet, lugol, etanol 96 %, air fuchsin, *immersion oil*, media uji fermentasi gula, media uji selulase, NaOH 1, dan usus angsa umur 1 tahun 2 bulan.

Desain Penelitian

Penelitian ini diawali dengan melakukan isolasi bakteri dari saluran *digestivus* angsa (*Cygnus olor*) yang sudah berumur lebih dari 1,2 tahun pada bagian *proventriculus*, *duodenum*, *jejenum*, *ileum*, *caecum*, dan *kolon*. Dilanjutkan dengan isolasi bakteri untuk mendapatkan isolat

yang murni tunggal (*Single colony*) kemudian diidentifikasi dengan melihat morfologi koloni, pengecatan Gram, uji katalase, uji aktivitas enzim setelah didapatkan koloni bakteri yang memiliki gram (+), katalase (+) dan aktivitas selulolitik (+) kemudian distok menggunakan gliserol lalu disimpan pada *freezer*. Selanjutnya dilanjutkan uji biokimia melalui *Sulfit Indol Motility* (SIM). Diagram alur penelitian ini dapat dilihat pada **Gambar 1**. dibawah ini:



Gambar 1. Diagram alur penelitian

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah saluran pencernaan angsa berusia 1,2 tahun yang terdiri dari *proventriculus*, usus halus (*duodenum*, *jejenum* dan *ileum*), *caecum* dan *colon*. Sampel dipotong masing-masing bagian sebesar (1 – 2 cm) kemudian dilarutkan pada aquades steril dengan teknik pengenceran berseri hingga 10^{-4} dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang di dalamnya terdapat cairan aquades steril.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan media selektif *de Man Rogosa Sharpe* (MRS) agar dengan teknik *spread plate* dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Bakteri yang tumbuh dipilih koloni yang berbeda untuk ditumbuhkan kembali pada media MRS Broth padat dengan teknik *streak* (gores)

untuk mendapatkan biakan murni (*single colony*). Kemudian bakteri ditumbuhkan pada media MRS Broth cair.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan dua cara yaitu secara morfologi dan fisiologi. Identifikasi morfologi meliputi pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan melihat bentuk koloni, warna koloni, permukaan koloni dan margin yang tumbuh pada media agar sedangkan pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan melihat bentuk sel bakteri setelah dilakukan pengecatan gram (Ibrahim *et al.*, 2015). Identifikasi secara fisiologi dilakukan melalui uji katalase, uji produksi H₂S, pembentukan indol dan motilitas pada media SIM (*Sulfide Indol Motility*) serta uji aktivitas enzim selulolitik yang dihasilkan.

Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan 3% hydrogen peroksida (H₂O₂) di atas koloni bakteri yang ditumbuhkan di media padat. Setelah ditetesi akan muncul gelembung oksigen yang menandakan bahwa bakteri positif katalase. Enzim katalase bekerja dengan cara memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ dimana enzim mampu memecah pengaruh H₂O₂.

Pengecatan Gram

Pengecatan gram pada bakteri dilakukan bertujuan untuk melihat bentuk sel dan tingkat kemurnian dari bakteri yang didapatkan. bakteri diambil menggunakan mikro pipet dengan volume 10 µl diletakkan pada kaca objek. Kemudian dilanjutkan ke tahap fiksasi di atas bunsen. Setelah itu, diberikan pewarna pertama

karbol gentian violet dan didiamkan selama 2 menit. Preparat kemudian dibilas dengan air yang mengalir dengan volume debit air kecil. Kemudian ditetesi lugol sebagai pewarna yang kedua dan dibiarkan selama 1 menit dan dibilas menggunakan air dengan volume yang sama. Selanjutnya ditetesi etanol 96% sampai merata selama 15 – 30 detik dan dibilas menggunakan air dengan volume yang sama. Tahap akhir preparate ditetesi menggunakan air fuchsun/safranin dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas menggunakan air dengan volume yang sama dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sebelum dilakukan pengamatan sel. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 100x dimana sebelumnya ditetesi immersion oil. Apabila didapatkan hasil gram (+) dan murni maka di ambil 400 µl isolat bakteri untuk disimpan menggunakan 100 µl gliserol pada kulkas dengan suhu -80 °C sebelum dilakukan uji lanjut.

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dapat dilakukan dengan dua cara yaitu ditumbuhkan di media padat dan cair. Peremajaan di media padat dilakukan dengan cara menggoreskan bakteri menggunakan ose kemudian diinkubasi pada 37 °C selama (24-48 jam). Peremajaan di media cair dilakukan dengan mengambil bakteri menggunakan mikro pipet sebanyak 20 µl kemudian dituang pada media yang telah disiapkan di tabung reaksi. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada shaker dengan kecepatan 120 rpm. Bakteri yang tumbuh siap diuji selanjutnya.

Uji SIM (*Sulfide Indol Motility*)

Uji produksi gas H₂S, pembentukan indol dan motilitas bakteri dilakukan

pengujian menggunakan media semi-solid SIM (*sulfide, indole and motility*). Masing-masing isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose kemudian ditusukkan pada media SIM, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat produksi gas H₂S ditandai dengan adanya endapan hitam di dasar tabung karena terjadinya reaksi antara H₂S dengan *ferrous ammonium sulfat*. Pada pembentukan indol dapat diamati dengan pembentukan cincin warna merah yang menandakan positif indol sedangkan yang tidak ada terbentuknya cincin warna merah pada garis pemisah yang menandakan negatif indol dengan meneteskan larutan reagen kovacs. Hasil positif menunjukkan bahwa bakteri mengandung enzim triptofanase yang merupakan katalis pengurai gugus indol yang terkandung dalam asam amino triptofan. Uji motilitas dilakukan bertujuan untuk melihat sifat motil dari bakteri tersebut. Motilitas bakteri ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri diluar bekas tusukan ose atau adanya penyebaran pertumbuhan bakteri dalam media SIM.

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Pengujian aktivitas enzim selulase dilakukan dengan melihat produksi enzim dan penyiapan enzim. Bakteri ditumbuhkan pada LB dengan cara mengambil 100 µl bakteri dari masing-masing stok, Inokulan yang tumbuh kemudian disentrifugasi 13.000 rpm untuk mendapatkan sel bakteri. Sel bakteri yang didapatkan dilarutkan dengan PBS pH 7,2 dengan absorbansi (OD₆₀₀) 0,25 ± 0,05 untuk standar jumlah bakteri (10⁷ -10⁸ CFU/ml) (Tuo *et al.*, 2013).

Setelah mendapatkan sel bakteri dilanjutkan dengan uji aktivitas

enzim sesuai seperti metode yang dilakukan oleh Bariagi *et al* (2002) dengan sedikit perubahan. Media yang digunakan dalam uji enzim selulase terdiri dari 1 g sodium klorida, 1 g *tryptone*, 1,5 g agar, 0,5 g ekstrak khamir, 1 g carboxymethyl cellulose (CMC). Media disiapkan pada petri dish dengan volume (20 – 25 ml) dan diletakkan kertas cakram sesuai dengan jumlah inokulan yang diuji. 20 µl suspensi bakteri (OD₆₀₀: 0,25 ± 0,05) ditetesi di atas kertas cakram dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Identifikasi aktivitas enzim dilakukan dengan perendaman media CMC agar menggunakan larutan 0,1 % *red congo* selama 15 menit dan dibilas menggunakan larutan NaCl 1 M. Adanya aktivitas enzim ditandai dengan terdapatnya zona bening disekitar pertumbuhan koloni bakteri. Kemudian nilai indeks selulolitik (IS) dihitung dengan cara diameter zona bening (DB) dikurangi diameter koloni (DK) kemudian dibagi dengan diameter koloni (DK) yang dapat dilihat pada **Gambar 2**. Daya degradasi selulosa diklasifikasikan berdasarkan nilai indeks selulolitik apabila nilai IS ≤ 1 termasuk kategori rendah, apabila nilai IS 1 – 2 termasuk kategori sedang dan apabila nilai IS ≥ 2 termasuk kategori tinggi (Choi *et al.*, 2005).

$$\text{Indeks Selulolitik (IS)} = \frac{DB - DK}{DK}$$

Gambar 2. Rumus indeks selulolitik (Choi *et al.*, 2005)

Keterangan:

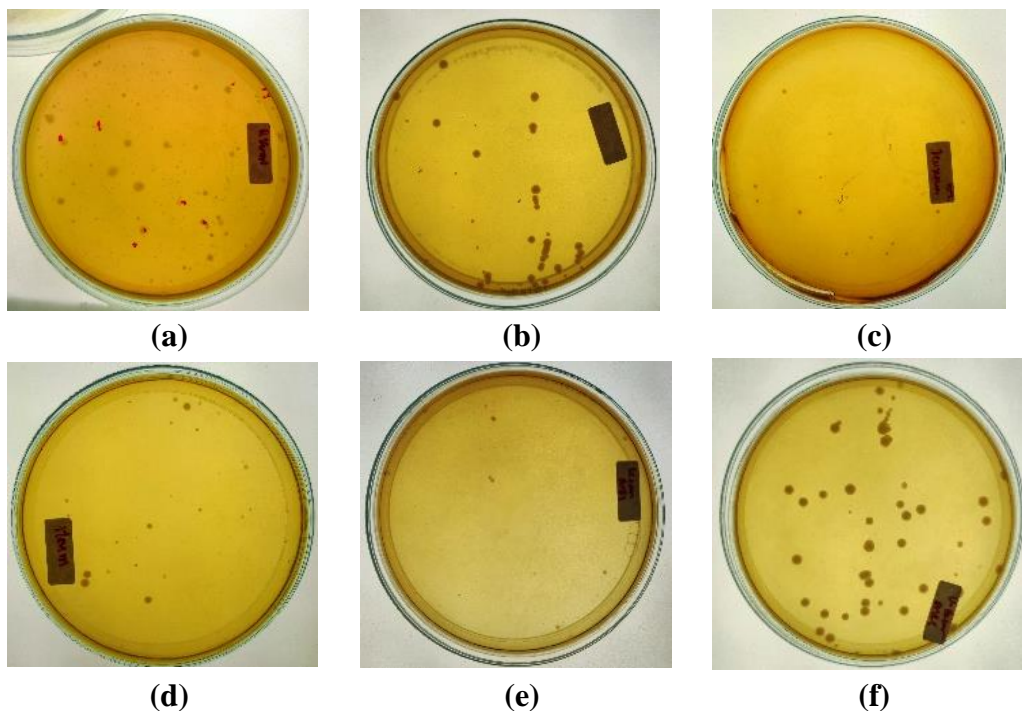
DB : Diameter zona bening
DK : Diameter zona koloni

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik

Isolasi bakteri merupakan tahapan penting untuk mendapatkan isolate bakteri murni (*single colony*) sesuai yang diharapkan. Ibrahim *et al.* (2015) menjelaskan bahwa isolasi bakteri merupakan sebuah teknik untuk

mendapatkan koloni tunggal suatu bakteri dari lingkungannya di alam dan dibiakkan pada medium buatan sesuai tujuan isolasi. Isolasi bakteri dapat dilakukan dengan metode *spread plate* melalui pengenceran bertingkat. Bakteri yang diisolasi berasal dari saluran pencernaan angsa (*Cygnus olor*) yaitu; proventrikulus, usus halus (duodenum, jejunum, ilium), *caecum* dan *colon*. Hasil isolasi bakteri pada media MRS padat dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Hasil kultur koloni bakteri yang berasal dari saluran pencernaan angsa dengan pengenceran 10^{-4} , dari beberapa bagian saluran pencernaan (a) proventrikulus, (b) duodenum, (c) jejunum, (d) ileum, (e) *caecum*, (f) *colon*.

Biakan bakteri yang tumbuh kemudian dipisah berdasarkan perbedaan koloninya dan ditumbuhkan kembali dengan teknik gores (*strike kuadran*) pada media agar untuk dimurnikan. Biakan murni (*single colony*) merupakan biakan yang hanya mengandung satu jenis koloni bakteri (Lay, 1994). Bakteri yang sudah murni diidentifikasi secara morfologi dan fisiologinya.

Identifikasi morfologi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu

pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Parameter yang diamati secara makroskopis diantaranya melihat bentuk koloni, warna koloni, margin (permukaan), ukuran koloni yang tumbuh pada media agar (Sabdaningsih *et al.* 2013; Ibrahim *et al.* 2015). Parameter yang diamati secara mikroskopis untuk mengetahui morfologi sel dapat dilihat berdasarkan warna gram dan bentuk sel bakteri melalui pengamatan mikroskop. Proses ini merupakan langkah awal untuk mendapatkan biakan murni (*single colony*).

Perbedaan morfologi pada masing-masing spesies menjadi salah satu cara untuk identifikasi dan karakterisasi beberapa bakteri. Pengecatan Gram dapat menunjukkan perbedaan bakteri gram positif dan negatif yang disebabkan perbedaan struktur dinding selnya. Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu dari zat warna *karbol gentanin violet* yang dapat diserap dan dipertahankan bakteri walaupun diberikan larutan etanol 96%. Sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah karena kompleks tersebut larut oleh etanol sehingga yang diserap warna merah dari *safraamin* atau *air fuchsin* (Lay, 1994).

Warna ungu yang mampu dipertahankan bakteri Gram positif karena memiliki struktur dinding sel yang mengandung 10% asam tekoat dan 90% peptidoglikan (Hadioetomo, 1993; Dheta, 2019). Sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Fitri dan

Yasmin, 2011). Penelitian yang dilakukan Suryadi *et al.* (2023) menunjukkan karakteristik morfologi bakteri asam laktat yang diisolasi dari saluran pencernaan kalkun memiliki bentuk bulat dan tidak teratur, permukaan cembung, ukuran kecil, warna krim putih, Gram (+) dan bentuk sel basil.

Hasil isolasi bakteri yang bersumber dari saluran pencernaan angsa pada media MRS padat diperoleh sebanyak 8 jenis bakteri murni. Adapun jenis bakteri yang diperoleh diantaranya isolat bakteri S₁, S₃, J, J₁, J²₁, J₂, I₂, dan UB₁. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa dari 8 isolat bakteri yang diuji terdapat 7 isolat merupakan Gram (+) dan 1 isolat merupakan Gram (-). Hasil isolasi dan identifikasi morfologi bakteri yang bersumber dari saluran pencernaan angsa akan ditampilkan pada **Tabel 1** dan **Gambar 4**.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Morfologi Bakteri Saluran Pencernaan Angsa

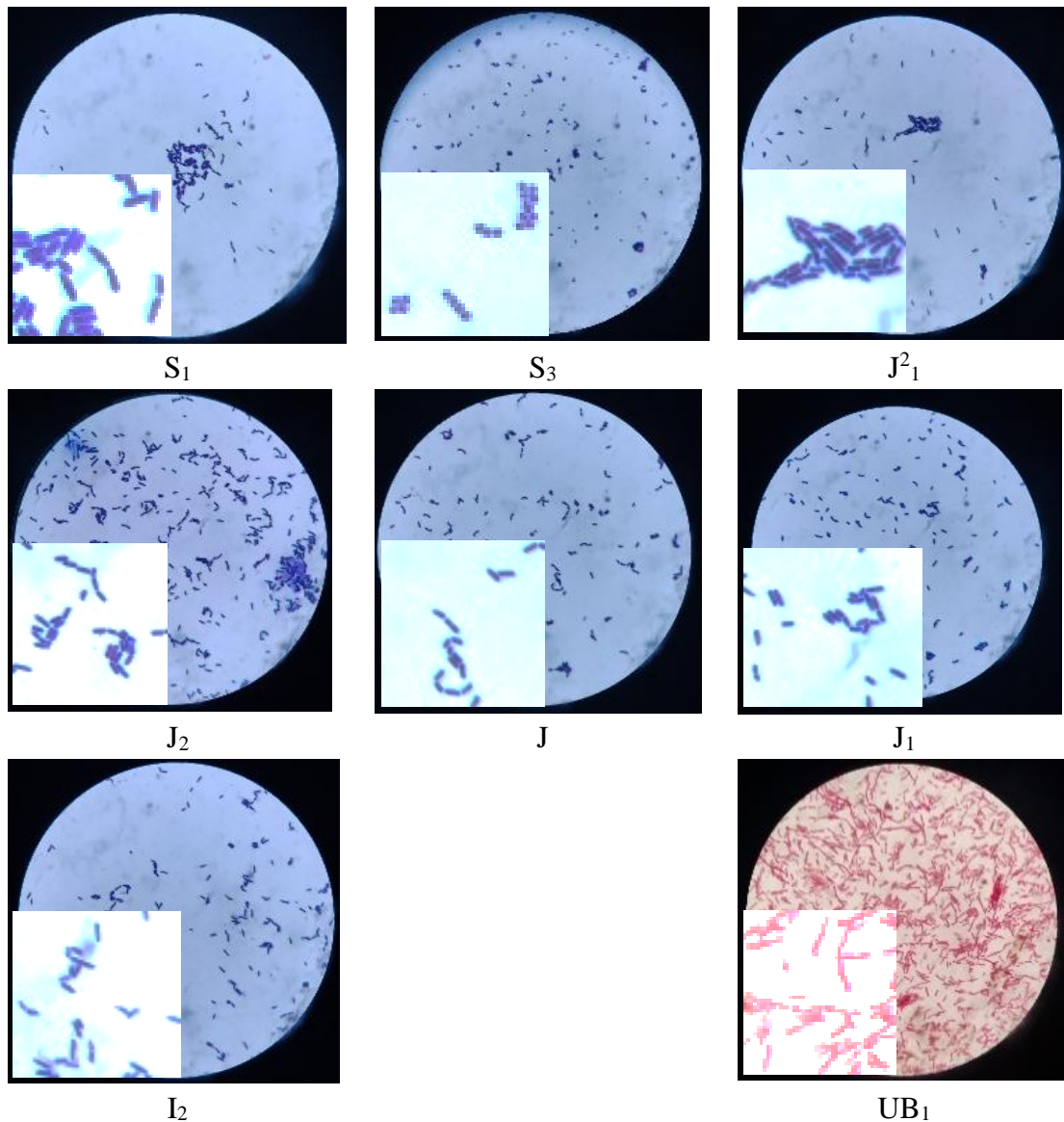
No. Isolat	Sumber Isolat	Morfologi Koloni			Morfologi Sel			
		Bentuk Koloni	Margin	Warna	Permukaan	Gram	Bentuk Sel	
1	S ₁	Sekum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Basil
2	S ₃	Sekum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Kokus
3	J	Jejunum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Basil
4	J ₁	Jejunum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Basil
5	J ² ₁	Jejunum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Basil
6	J ₂	Jejunum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Basil
7	I ₂	Ileum	Bulat	Halus	Krim Putih	Cembung	+	Basil
8	UB ₁	Usus Besar	Bulat	Halus	Putih	Datar	-	Basil

Identifikasi secara fisiologis meliputi uji katalase, uji indol, motilitas, dan uji kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat (Yulvizar, 2013; Laily *et al.*, 2013). Uji katalase dilakukan dengan

penambahan larutan H₂O₂ sebanyak 3% pada preparat bakteri di atas kaca objek. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida merupakan

senyawa bersifat toksin yang dihasilkan bakteri pada saat metabolisme aerob dan dapat merusak

sistem metabolisme bakteri (Dewi, 2013; Pulungan dan Tumangger, 2018).



Gambar 4. Hasil identifikasi morfologi sel bakteri saluran pencernaan angsa terdapat 7 isolat bakteri dengan Gram positif (+) dan 1 isolat bakteri dengan Gram negatif (-) serta terdapat 7 bentuk sel basil dan 1 sel berbentuk kokus.

Menurut Hamidah *et al.*, (2019) bakteri akan mengalami kematian apabila tidak dapat memecah senyawa hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi senyawa lain dalam bentuk H_2O dan O_2 . Pemecahan tersebut dapat dilakukan apabila bakteri dapat memproduksi enzim katalase. Produksi enzim katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung

oksigen setelah penambahan H_2O_2 3% (Hadioetomo, 1990). Sebagian besar BAL memiliki katalase negatif berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh (Risna *et al.*, 2020).

Hasil uji katalase pada penelitian ini menunjukkan seluruh bakteri merupakan bakteri negatif katalase. Hasil uji katalase isolat bakteri ini dapat dilihat pada **Tabel 2.**

Hal ini sama seperti penelitian yang dilakukan oleh Alkalbani *et al.*, (2019) dan Anindita, (2022) menunjukkan beberapa bakteri asam laktat yang tidak mampu memproduksi katalase diantaranya *Lactobasillus spp.*, *Pediococcus pentosaceus* dan *Enterococcus spp.* Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang paling banyak digunakan sebagai kandidat probiotik bersifat anaerob dan tidak mampu mensintesis enzim katalase (Zubaidah *et al.*, 2022).

Identifikasi secara fisiologis dilanjutkan dengan uji pada media SIM (*Sulfide Indol Motility*). Kegunaan media ini adalah untuk mengetahui sifat bakteri dalam memproduksi H₂S, pembentukan indol dan pergerakan bakteri (motilitas). Langkah kerja uji ini, bakteri diambil pada media koleksi menggunakan ose steril lalu ditusuk secara tegak lurus pada media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Parameter yang diamati diantaranya meliputi produksi H₂S ditandai dengan adanya endapan hitam di dasar tabung karena terjadinya reaksi antara H₂S dengan *ferrous ammonium sulfat*, produksi indol dapat dilihat setelah ditetesi dengan reagen kovac sebanyak 3-5 tetes kedalam media,

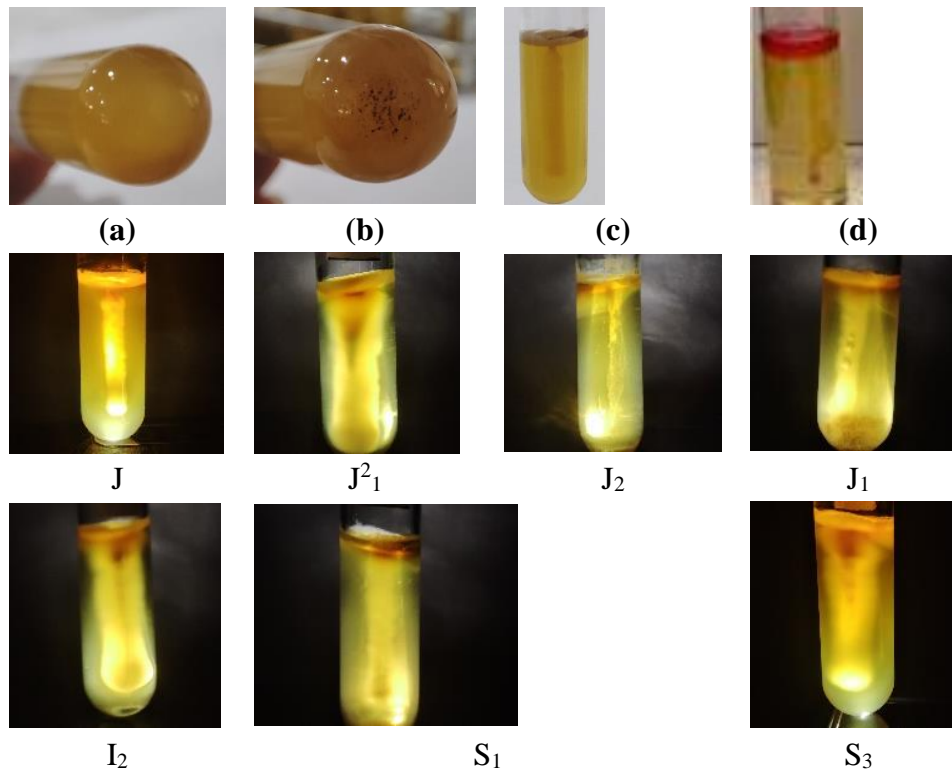
apabila indol positif maka terbentuk cincin merah pada permukaan media, serta motilitas dapat dilihat apabila terjadi kekaburan media ditempat tusukan ose.

Hasil uji biokimia pada media SIM pada 7 isolat bakteri menunjukkan terdapat 2 jenis bakteri (J dan I₂) tidak dapat memproduksi gas H₂S, sedangkan 5 jenis bakteri lainnya merupakan bakteri yang dapat memproduksi gas H₂S (J²₁, J₂, J₁, S₁ dan S₃). Kemudian pada uji produksi indol didapatkan hasil seluruh bakteri tidak dapat membentuk cincin merah pada permukaan media yang menunjukkan negatif indol. Dan pada uji motilitas didapatkan hasil seluruh bakteri terdapat kekaburan media ditempat tusukan ose yang menunjukkan bakteri merupakan positif motil. Berdasarkan hasil uji tersebut diperkirakan bahwa bakteri merupakan golongan dari bakteri asam laktat. Hal ini sesuai pendapat yang dikemukakan oleh Okfrianti *et al.*, (2018) yang menyatakan bakteri yang memiliki ciri-ciri sifat gram positif, katalase negatif, non-motil dan berbentuk coccus atau basil dapat diperkirakan sebagai golongan dari BAL. Hasil uji biokimia pada media SIM dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **Gambar 5** dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Identifikasi Fisiologi Bakteri saluran Pencernaan Angsa

No.	Kode Isolat	Katalase	Produksi H ₂ S	Indol	Motilitas
1	S ₁	-	+	-	+
2	S ₃	-	+	-	-
3	J	-	-	-	+
4	J ₁	-	+	-	+
5	J ² ₁	-	+	-	+
6	J ₂	-	+	-	+
7	I ₂	-	-	-	+

Sumber: Data primer diolah pada tahun 2023



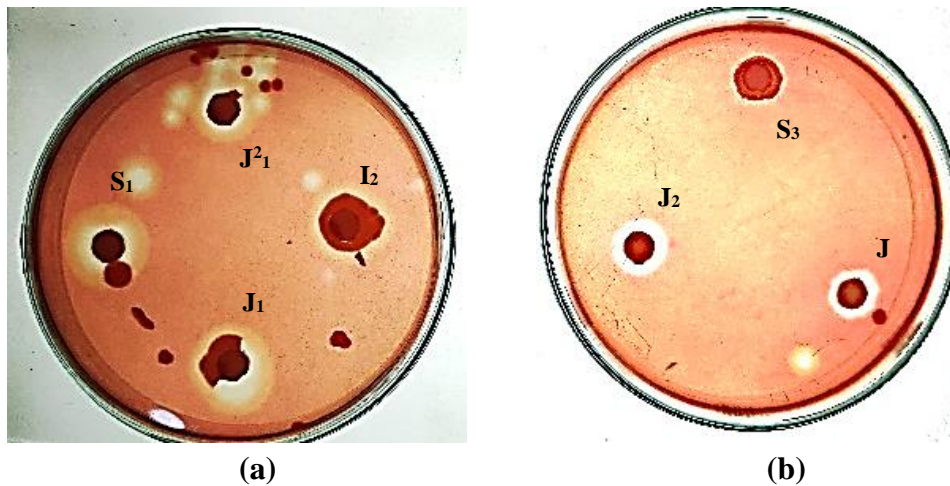
Gambar 5. Uji Biokimia. Gambar (a) negatif produksi H₂S, (b) positif H₂S, dan (c) hasil negatif indol merupakan data primer sedangkan gambar (d) contoh positif indol merupakan data sekunder dari (Surjana *et al.*, 2017). Dan gambar hasil motilitas bakteri (J, J²₁, J₂, J₁, I₂, S₁, S₃) merupakan data primer.

Uji Aktivitas Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan enzim yang mampu mempercepat proses hidrolisis selulosa atau substrat pada ikatan beta yang terdapat pada selulosa sehingga dapat menghidrolisis polimer secara acak dan menghasilkan molekul selulosa sederhana. Enzim selulase ini sangat jarang dieksresikan pada saluran pencernaan ternak unggas (monogastrik) sehingga kandungan serat yang tinggi pada bahan pakan tidak dapat dicerna secara maksimal bahkan tidak jarang dikeluarkan langsung melalui ekstreta yang dapat menjadi sumber ammonia dan polusi bagi lingkungan. Sepianto (2017) menjelaskan enzim

selulase biasa digunakan sebagai bahan memperhalus bubuk kertas yang tinggi kadar serat sehingga dapat meningkatkan kualitas industri pangan dan sebagai degradasi serat pada pakan yang dapat meningkatkan kandungan nutrisi pada pakan.

Uji aktivitas enzim ekstraseluler pada beberapa bakteri yang telah diisolasi dari saluran pencernaan angsa (*Cygnus olor*) dilakukan menggunakan media *Carboxy methyl cellulose* (CMC) sesuai prosedur yang dilakukan oleh (Suryadi *et al.*, 2023). Hasil uji aktivitas enzim selulase pada masing-masing bakteri disajikan pada **Gambar 7**.



Gambar 6. Hasil Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Media CMC. Gambar (a) adanya aktivitas enzim selulase yang ditandai dengan adanya zona bening, sedangkan gambar (b) tidak ada aktivitas enzim selulase (-).

Hasil uji aktivitas enzim selulase menunjukkan bahwa dari ke-7 isolat bakteri yang diuji, terdapat 4 isolat bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekeliling koloni bakteri setelah direndam larutan *red congo* 0,1% dan dicuci dengan cairan NaCl. Beberapa isolat yang dimaksud diantaranya (S₁, J₁, J₂¹, dan I₂). Sedangkan 3 sisanya tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim selulase yang terdiri dari kode isolat (S₃, J, dan J₂) dan dimungkinkan

merupakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim lainya, akan tetapi memerlukan pengujian lebih lanjut untuk memastikan bahwa ketiga bakteri tersebut merupakan golongan bakteri penghasil enzim selain selulase. Dari masing-masing bakteri yang (+) selulase dapat disimpulkan memiliki kemampuan menghasilkan enzim yang berbeda-beda, dapat dilihat melalui diameter zona bening yang dihasilkan. Luas zona bening dari uji aktivitas enzim tersebut disajikan pada **Tabel 3** dibawah ini.

Tabel 3. Luas Zona Bening Hasil Uji Aktivitas Enzim Selulase

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	Diameter Koloni (mm)	Indeks Selulolitik
1	S ₁	27	16	0,69
2	J ₁	24	16	0,5
3	I ₂	19	13	0,46
4	J ₂ ¹	20	14	0,43

Sumber: Data primer diolah pada tahun 2023

Berdasarkan data di atas menunjukkan bakteri dengan kode isolat S₁

memiliki kemampuan terbaik dalam memproduksi enzim selulase dengan nilai

indeks selulolitik mencapai 0,69, kemudian bakteri dengan kode isolat J₁ memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase dengan nilai indeks selulolitik 0,5, bakteri dengan kode isolat I₂ memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase dengan nilai indeks selulolitik mencapai 0,46, dan bakteri dengan kode isolat J₂¹ memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase terendah dengan nilai indeks selulolitik mencapai 0,43. Seluruh bakteri yang didapatkan pada penelitian ini tergolong kategori rendah karena memiliki nilai indeks selulolitik ≤ 1 dan diprediksi adanya bakteri selulolitik pada saluran pencernaan angsa karena pengaruh pakan yang dikonsumsi angsa mengandung serat seperti, sayuran, dedak, dan rerumputan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Melalui Penelitian ini diperoleh 4 isolat bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik dengan kemampuan yang berbeda-beda. Bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik tertinggi adalah isolat dengan kode S₁ (sumber *caecum*) yang memiliki indeks selulolitik mencapai 0,69. Sedangkan kemampuan aktivitas selulolitik terendah merupakan kandidat bakteri dengan kode isolat J₂¹ (sumber jejunum) dengan indeks selulolitik hingga 18,8.

Saran

Hasil dari penelitian ini masih belum bisa diaplikasikan sebagai probiotik karena belum memenuhi persyaratan sebagai bakteri probiotik. Untuk memastikan kemampuan bakteri tersebut sebagai probiotik, diperlukan penelitian lanjutan menyangkut uji fermentasi karbohidrat, uji viabilitas, uji antagonistik atau antimikroba

hingga identifikasi bakteri secara molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- AlKalbani, N. S., Turner, M. S., dan Ayyash, M. M. (2019). Isolation, Identification, and Potential Probiotic Characterization of Isolated Lactic Acid Bacteria and In Vitro Investigation of the Cytotoxicity, Antioxidant, and Antidiabetic Activities in Fermented Sausage. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 1-12.
- Anand, V., Sankar, P., Vasani, R., Geoffrey, dan Vendan. 2009. Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut of Bombyx Mori that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *J of Insect Science*, 10(107), 1-20.
- Anindita, N. S. (2022). Isolasi dan Identifikasi Fenotipik Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenous Asal Air Susu Ibu (ASI). *Jurnal Teknologi Pangan*, 5(1), 18-23.
- Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K., dan Ray, A. K. 2002. Enzyme Producing Bacterial Flora Isolated from Fish Digestive Tracts. *Aquaculture international*, 10, 109-121.
- Choi, Y. W., Hodgkiss, I. J., dan Hyde, K. D. (2005). Enzyme Production by Endophytes of Brucea Javanica. *J Agric Technol*, 1, 55-66.
- Detha, A., 2019. Karakteristik Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumba. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), pp.85-92.

- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus Aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 138-150.
- Dimiyati, F. 2018. *Kabar Bisnis Pakan Unggas*. poultryindonesia.com. URL: <https://www.poultryindonesia.com/kabarbisnis-pakanunggas/>. Diakses pada 15 Mei 2023.
- Direktorat Jendral Peternakan dan Kesehatan Hewan, "Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2017/ Livestock and Animal Health Statistics 2017," 2017.
- Fitri, L dan Y. Yasmin. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*, 3(2): 20-25.
- Hadioetomo, R. S. (1990). Mikrobiologi dasar dalam praktek: teknik dan prosedur dasar laboratorium.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasaar dalam Praktek (Teknik dan prosedur dasar laboratorium)*. Jakarta (ID): PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., dan Romadhon, R. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A. dan Delvia, F. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari buah manga (*Mengifera indica L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2), 159-163.
- Laily, I. N., Utami, R., dan Widowati, E. (2013). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, 2(4).
- Lay, W. B. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Okfrianti, Yenni, Darwis, dan Ayu Pravita. 2018. Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* C410LI dan *Lactobacillus rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan*. 6(1). 2338-9109.
- Pulungan, A. S. S., dan Tumangger, D. E. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase dari Daun Buasbuas (*Premna pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 5(1), 71-80.
- Purnamasari, D. K., Syamsuhaidi, S., Erwan, E., Wiryawan, I. K. G., Sumiati, S., Pardi, P., dan Binetra, T. S. (2020). Peningkatan Produktivitas Ternak Unggas Melalui Pemberian Pakan Fermentasi di Desa Apitaik Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Abdi Insani*, 7(1), 61–65. <https://doi.org/10.29303/abdiinsani.v7i1.305>
- Raharjo, A. P., dan Isnawati. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik pada Pakan Fermentasi Eceng Gondok, Tongkol Jagung,

- dan Bekatul Padi Isolation and Characterization Cellulolytic Bacteria from Fermentation Feed of Water Hyacinth, Corncob, and Rice Bran. *Lentera Bio*, 11(1), 44–51.
<https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index44>
- Rao, S. N. S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. UI-Pres. Universitas Indonesia.
- Reski S., Suhartati L., dan Mahata M.E. 2021. Improving Nutritional Quality of Turbinaria Murayana Seaweed with Fermentation Technology using Local Microorganisms as Poultry Feed. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 9(2): 120-129.
- Risna, Y. K., Harimurti, S., Wihandoyo dan Widodo. 2020. Screening for Probiotic of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Digestive Tract of a Native Aceh Duck (*Anas platyrhynchos*). *Biodiversitas*. 21(7): 3001-3007
- Sabdaningsih, A. Budiharjo, A. dan Kusdiyantini, E. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) dari Perairan Kutuh Bali. *Jurnal Akademika Biologi*. 2(2): pp. 11-17
- Saratale, G.D., Saratale, R.G., dan Oh, S.E. 2012. Production and Characterization of Multiple Cellulolytic Enzymes by Isolated *Streptomyces* sp. MDS. *Biomass and Bioenergy*. 47: 302-315.
- Seprianto. (2017). Isolasi Dan Penapisan Bakteri Selulolitik Dari Berbagai Jenis Tanah Sebagai Penghasil Enzim Selulase. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 1(2), 67–73.
- Suarjana, I. G. K., Besung, I. N. K., Mahtami, H. dan PG, T.K. 2017. *Modul Isolasi dan Identifikasi Bakteri*. Universitas Udayana, 22-25.
- Suryadi, M. A. F. F., Mursyid, M. H., Anwar, K., Ali, M., dan Kisworo, D. (2023). Isolation of Cellulolytic Bacteria from Kalkun (*Meleagris gallopavo*) Gastro-Intestinal Tract as a Candidate Probiotics for Poultry. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(5), 3981-3985.
- Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B., dan Chen, W. 2013. Aggregation and Adhesion Properties of 22 *Lactobacillus* Strains. *Journal of dairy science*, 96(7), 4252-4257.
- Wahju, J. 2004. *Ilmu Nutrisi Unggas*. Cetakan ke-5. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wardah, A., dan Panjaitan, T. W. S. (2019). Substitusi Butiran Kering Destilat Pada Formulasi Pakan Puyuh Terhadap Kandungan Kimia Feses. *STIGMA: Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Unipa*, 12(02), 54-65.
- Yulvizar, C. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *biospecies*, 6(2).
- Zubaidah, E., Effendi, F. D., dan Afgani, C. A. (2022). *Kombucha: Mikrobiologi, Teknologi, dan Manfaat Kesehatan*. Universitas Brawijaya Press.