**ISOLASI DAN SELEKSI ENZIMATIS BAKTERI SELULOLITIK DARI LIMBAH MEDIA TANAM JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) BERBAHAN SERBUK GERGAJI KAYU KARET (*Hevea brasiliensis*Muell. Arg)**

**(*Isolation and Enzymatic Selection of Cellulolytic Bacteria from Waste as Growth Medium of White Oyster Mushroom* (*Pleurotus ostreatus*) *Made from Rubber Sawdust* (*Hevea brasiliensisMuell. Arg*))**

Marlina Kamelia, Bambang Sri Anggoro, dan Deffi Novitasari

Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Tarbiyah dan Keguruan, UIN Raden Intan Lampung

Jl. Letkol H. Endro Suratmin Sukarame Bandar Lampung Telp. (0721) 703260

e-mail: marlinakamelia@radenintan.ac.id

**Abstrak**. Jamur tiram putih termasuk dalam kelas *Basidiomycetes* yang banyak dibudidaya di Indonesia. Konsumsi terhadap jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) makin meningkat dikalangan masyarakat, sehingga menyisakan limbah berupa media bekas penanaman jamur. Media sisa budidaya jamur tiram sejauh ini belum banyak dimanfaakan dengan baik. Media pertumbuhan jamur disebut juga baglog akan berbahaya bagi lingkungan jika dibuang begitu saja. Pemanfaatan media sisa penanaman jamur tiram ini dapat digunakan untuk memproduksi gula pereduksi yang dihasilkan oleh aktivitas mikroorganisme yang melibatkan enzim selulase. Tujuan penelitian ini yakni melakukan isolasi dan seleksi secara enzimatis dari limbah media tanam jamur tiram putih berbahan serbuk gergaji kayu karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). Dari hasil isolasi diperoleh 60 isolat bakteri yang berasal dari tiga jenis usia baglog yakni, 0, 2 dan 4 bulan. Isolat tersebut selanjutnya dikarakterisasi dengan *screening* pada media differensial CMC guna melihat aktivitas degradasi terhadap selulosa. Hasil *screening* diperoleh 23 isolat yang merupakan positif selulolitik ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk pada media CMC. Zona bening yang terbentuk merupakan indikasi aktivitas bakteri yang dapat mengunakan sumber karbon pada CMC dan mendegradasi komponen selulosa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa limbah media tanam jamur tiram putih berbahan kayu karet memiliki potensi selulolitik. Isolat yang mendominasi hasil pada penelitian ini memiliki bentuk *undulate* dengan tepi *irreguler* berwarna putih serta tekstur makrokopisnya yang licin. Sedangkan, hasil pengamatan mikrokopis menunjukkan bahwa bentuk sel *coccus* dengan jenis *G*rampositif mendominasi isolat bakteri.

***Kata kunci:****Selulosa, Selulolitik, CMC, Media Tanam Jamur (Baglog), Zona Bening, Undulate, Coccus*

**Abstract**. White oyster mushrooms are included in the *Basidiomycetes* class which is widely cultivated in Indonesia. Consumption of white oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) is increasing among the community, thus leaving waste in the form of media used to plant mushrooms. The remaining media of oyster mushroom cultivation has so far not been well utilized. Mushroom growth media also called baglog will be harmful to the environment if thrown away. Utilization of residual media of oyster mushroom planting can be used to produce reducing sugars produced by the activity of microorganisms involving cellulase enzymes. The purpose of this research is to isolate and enzymatically select from the waste of planting media of white oyster mushroom from rubber sawdust (*Hevea brasiliensis* Muell, Arg). From the isolation result, 60 bacteria isolates were obtained from three types of baglog age ie 0, 2 and 4 months. The isolates were then characterized by *screening* on CMC differentiation media to see degradation activity against cellulose. *Screening* results obtained 23 isolates which is a positive cellulolitik characterized by a clear zone formed on CMC media. The clear zone formed is an indication of the activity of bacteria that can use carbon sources in CMC and degrade cellulose components. The results of this study indicate that waste media planting white oyster mushroom rubber wood has the potential cellulolitik. The isolate that dominates the results in this study has an *undulate* shape with a white *irregular* edge and a slick macrocoptic texture. Meanwhile, the results of microcyst observation showed that the form of *coccus* cells with Gram-positive species dominate bacterial isolates.

**Keywords:***Cellulose, Cellulolytics, CMC, Mushroom Cultivation Media (Baglog), Zone Bening, Undulate, Coccus*

**PENDAHULUAN**

Jamur tiram atau *hiratake* (*Pleurotus* sp.) termasuk ke dalam golongan jamur kayu. Jamur merupakan tumbuhan saprofit yang hidup pada kayu-kayu lapuk dan memperoleh bahan makanan dengan memanfaatkan sisa-sisa bahan organik di habitat alaminya (Susilawati dan Raharjo, 2010).

Jamur tiram adalah jenis jamur kayu yang memiliki kandungan nutrisi lebih tinggi dibandingkan dengan jenis jamur lainnya. Jamur tiram mengandung protein, lemak, fosfor, besi, biotin, niasin, thiamin (vitamin B1), dan riboflavin (vitamin B2). Terdapat 20 asam amino menyerupai derivat protein pada daging hewan yang dibutuhkan manusia namun tidak mengandung kolestrol antaralain lysine, methionine, tryphtofan, theonin, valin, leusin, isoleusin, histidin, dan fenilalanin (Maulana, 2012).

Jamur tiram pada habitat alaminya hanya dijumpai pada musim tertentu dengan jumlah terbatas. Tumpukan kayu dan tunggul-tunggul pohon yang relatif lunak seperti sengon, karet, kapuk randu, dadap, kayu duren, dan kidamar pada musim penghujan akan banyak ditumbuhi jamur tiram. Serbuk gergaji adalah bahan sisa yang kurang dimanfaatkan, namun menjadi bahan utama pada budidaya jamur tiram. Bekatul (dedak) dan tepung jagung juga ditambahkan sebagai sumber karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan mineral. Kapur (Calsium carbonat) sebagai sumber mineral dan pengatur keasaman media tanam (pH), serta air agar miselia jamur dapat tumbuh dan menyerap makanannya (Maulana, 2012).

Serbuk gergaji pohon yang umum digunakan sebagai media tanam jamur tiram di Lampung adalah pohon karet (Tumpal dan Suhendri, 2013). Industri banyak menggunakan kayu ini sehingga limbah berupa serbuk kayu juga melimpah. Kayu karet merupakan jenis kayu yang mudah untuk di gergaji karena memiliki permukaan yang halus, sehingga baik untuk pertumbuhan jamur. Budidaya jamur tiram tidak hanya memberi aspek positif terhadap bidang pangan, ekonomi dan kesehatan. Aspek negatif pun timbul seperti meningkatnya jumlah limbah pasca panen jamur tiram berupa baglog.Baglog yaitu media tanam yang dimasukkan ke dalam plastik lalu dibentuk menyerupai potongan kayu gelondongan. Baglog jamur terdiri dari komposisi serbuk gergaji 68,5%, dedak halus 13,5%, gypsum (CaSO4) 0,5%, kapur (CaCO3) 3,5%, TSP 0,5%, pupuk kandang 13,5%, dan air (Rahmah dkk, 2015)

Limbah media tanam jamur tiram terbentuk akibat bahan yang tidak habis terpakai saat memproduksi jamur tiram, sehingga meninggalkan sisa-sisa tidak efektif untuk pertumbuhan jamur tiram. Serbuk gergaji sebagai komposisi utama budidaya jamur tiram merupakan salah satu substrat yang kaya akan selulosa.

Selulosa merupakan polimer linier terdiri dari D-glukosa yang terikat pada 1,4-glikosidik serta sangat erat berasosiasi dengan hemiselulosa dan lignin. Selulosa, hemiselulosa dan lignin membentuk komponen lignoselulosa yang berfungsi sebagai unsur struktural kekuatan fisik pada dinding sel tumbuhan tingkat tinggi. Tumbuhan berkayu merupakan tempat yang paling banyak ditemukannya selulosa. Selulosa dengan struktur yang demikian kompleks membuat konversinya menjadi glukosa membutuhkan biaya cukup besar. Biaya produksi untuk konversi selulosa menjadi glukosa dapat diminimalisir dengan pemanfaatan enzim. Enzim tersebut diperoleh dengan mencari mikroorganisme yang efisien mengkonversi selulosa. Mikroorganisme yang dimaksud salah satunya adalah bakteri selulolitik (Ambriyanto, 2010)

Bakteri selulolitik merupakan mikroorganisme yang mampu mendegradasi selulosa. Kelompok bakteri selulolitik menjadikan komponen selulosa tersebut sebagai sumber karbon utama bagi pertumbuhannya. Bakteri selulolitik secara konvensional dapat dimanfaatkan menjadi produk yang memiliki nilai tambah, seperti bahan bakar nabati (*biofuel*), bahan kimia organik dan sumber nutris berkualitas baik untuk pakan ternak ataupun sumber pangan (Agustini dkk, 2016). Bakteri selulolitik pada limbah, mulai banyak diteliti dan dikembangkan. Lingkungan dapat terjaga ekosistemnya dengan pengelolaan lebih lanjut bakteri ini. Bakteri ini makin memberi manfaat dalam segala bidang baik dalam segi lingkungan ataupun ekonomi, sehingga penelitiannya terus dikembangkan.

Masalah-masalah yang telah diuraikan di atas melatar belakangi penulis melakukan penelitian mengenai isolasi dan seleksi enzimatis bakteri selulolitik dari limbah media tanam jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) berbahan serbuk gergaji kayu karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg).

**METODE PENELITIAN**

Sampel limbah media tanam jamur tiram putih akan diambil di Kecamatan Karanganyar, Kabupaten Lampung Selatan. Sampel akan diolah di Laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Raden Intan Lampung untuk pengamatan seleksi dan seleksi bakteri selulolitik pada limbah media jamur tiram putih.

**Alat**

Blender, oven, timbang analitik, pipet tetes, spluid (alat suntik), cawan petri, autoclave, kompor, dandang, labu erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung raksi, mikroskop, object glass, rak pewarnaan, pembakar spirtus, nampan, inkubator, spatula, dan kawat ose.

**Bahan**

NA (*Nutrent Agar*), alkohol 70%, CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*)-agar media, *congo red* 0,5%, aquades, pewarna Gram (Gentian violet, Lugol, Etil Alkohol 96%, dan Safrarin), oil imersi, spirtus, plastik sampel, dan kartu label. CMC-agar perlu ditambahkan dengan bahan lain seperti KH2SO4, MgSO4.7H2O, yeast ekstrak, dan agar bubuk.

**PROSEDUR PENELITIAN**

**Persiapan dan Pengambilan Sampel**

Survei lokasi dilakukan pada usaha budidaya jamur tiram yang berada di Kecamatan Karanganyar Kabupaten Lampung Selatan. Limbah baglog disortir terlebih dahulu dengan memisahkan baglog hasil gagal tumbuh dan baglog pasca panen. Sampel baglog diambil dari berbagai usia pasca panen antara lain nol bulan, dua bulan, dan empat bulan. Usia limbah baglog yang berbeda mengindikasikan tinggi rendahnya kandungan selulosa dalam proses degradasi oleh bakteri (Hadrawi, 2014).

Limbah baglog jamur tiram putih (*P. ostreatu*s) kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari ataupun dapat dikeringkan menggunakan oven selama 3 hari pada suhu 75ºC. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan atau digiling menggunakan blender hingga di peroleh serasah halus (serbuk). Sampel serbuk dimasukkan pada plastik sampel dan diberi label.

**Pengenceran dan Inokulasi Isolat Bakteri**

Sampel serasah halus dari masing-masing sampel kemudian dilakukan isolasi dan seleksi bakteri dengan melakukan purifikasi (seri pengenceran). Isolasi dilakukan dengan mensuspensikan 1 gram sampel ke dalam 9 ml aquades steril lalu dikocok dan diperoleh pengenceran 10-1. Pengenceran ini dibuat hingga seri ke-10-5, ini bertujuan untuk mengurangi padatan koloni bakteri uji.

Tabung reaksi pada pengenceran 10-3 10-4 dan 10-5 diambil sebanyak 1 ml dan diinokulasi ke dalam tiga cawan petri berbeda yang berisi 9 ml media NA (*Nutrient Agar*), kemudian diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu 37ºC.Seri pengenceran ini juga digunakan untuk mengetahui kerapatan mikroba yang tumbuh pada cawan petri yang berisi media agar. Cawan yang digunakan untuk menghitung kerapatan koloni bakteri, hanya cawan petri yang ditumbuhi 30-300 koloni bakteri. Cawan dengan jumlah koloni bakteri kurang dari 30 ataupun yang melebihi 300 koloni akan diabaikan. (Agustini dkk, 2016)

Koloni bakteri yang tumbuh kemudian diseleksi dan diisolasi ke media baru. Isolat tersebut ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*) selama 2 × 24 jam pada suhu 37ºC dengan metode goresan, untuk memperoleh koloni murni (Isdaryanti dkk, 2015).

**Uji *Screening Enzimatis***

**Persiapan media CMC-agar (*Carboxy Methyl Cellulose*)**

Pembuatan media CMC agar dilakukan dengan cara mencampurkan *Carboxy Methyl Cellulose* 0,5 gram, K2HPO4 0,1 gram, MgSO4.7H2O 0,5 gram ekstrak yeast 0,2 gram, dan agar-agar 1,5 gram. Bahan yang telah tercampur selanjutnya disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121ºC selama 15 menit (Fatichah, 2011).

**Uji Enzim Selulase**

Isolat bakteri diinokulasikan pada media CMC-agar yang telah diperkaya dengan diinkubasi selama tiga hari pada suhu 37ºC. Hari keempat isolat bakteri pada CMC dibanjiri dengan larutan congo red 0,1% dan inkubasi kembali selama 5 hari. Terbentuknya zona transparan (bening) mengindikasikan adanya aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri. Zona transparan (bening) inilah yang menjadi indikator bahwa isolat bakteri yang diinokulasikan mampu menggunakan selulosa sebagai sumber karbon. Zona transparan (*cleared zone*) ini terbentuk akibat hidrolisis selulosa menjadi glukosa dalam media padat CMC (Agustini dkk, 2016).

**Pewarnaan *Gram***

Pengamatan morfologi sel dilakukan dengan teknik pewarnaan *gram*. Pewarnaan menggunakan empat cat yaitu Gentian violet, Lugol, Etil Alkohol 96%, dan Safrarin. (Agustini dkk, 2016). Cat tersebut masing-masing secara berurutan diteteskan pada preparat ulasan bakteri. Objek pengamatan diletakkan pada wadah dengan dialasi tissue guna menyerap sisa air agar mudah mengering. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x dan sebelumnya objek ditetesi minyak emersi. Hasil pewarnaan apabila menunjukkan sel bakteri berwarna merah maka itu yang disebut dengan *Gram* negatif. Sedangkan, bakteri dengan hasil pewarnaan adalah ungu disebut *Gram* positif (Fitri, 2011).

**Teknik Pengumpulan Data**

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu observasi dan dokumentasi. Data yang diambil dalam penelitian ini dilakukan dengan cara menghitung kelimpahan koloni yang tumbuh, serta karakterisasi koloni bakteri dengan *screening enzimatis*.

**Analisis Data**

Analisis data dilakukan dengan membandingkan secara deskriptif tingkat kelimpahan bakteri yang diperoleh dari sampel limbah baglog pada media *NA*. Kelimpahan tersebut dibedakan berdasarkan usia limbah baglog yang nantinya hasil tersebut dipaparkan dengan hasil *screening*. Data morfologi koloni nantinya ditampilkan dalam bentuk gambar dan tabel (Fitri, 2011).

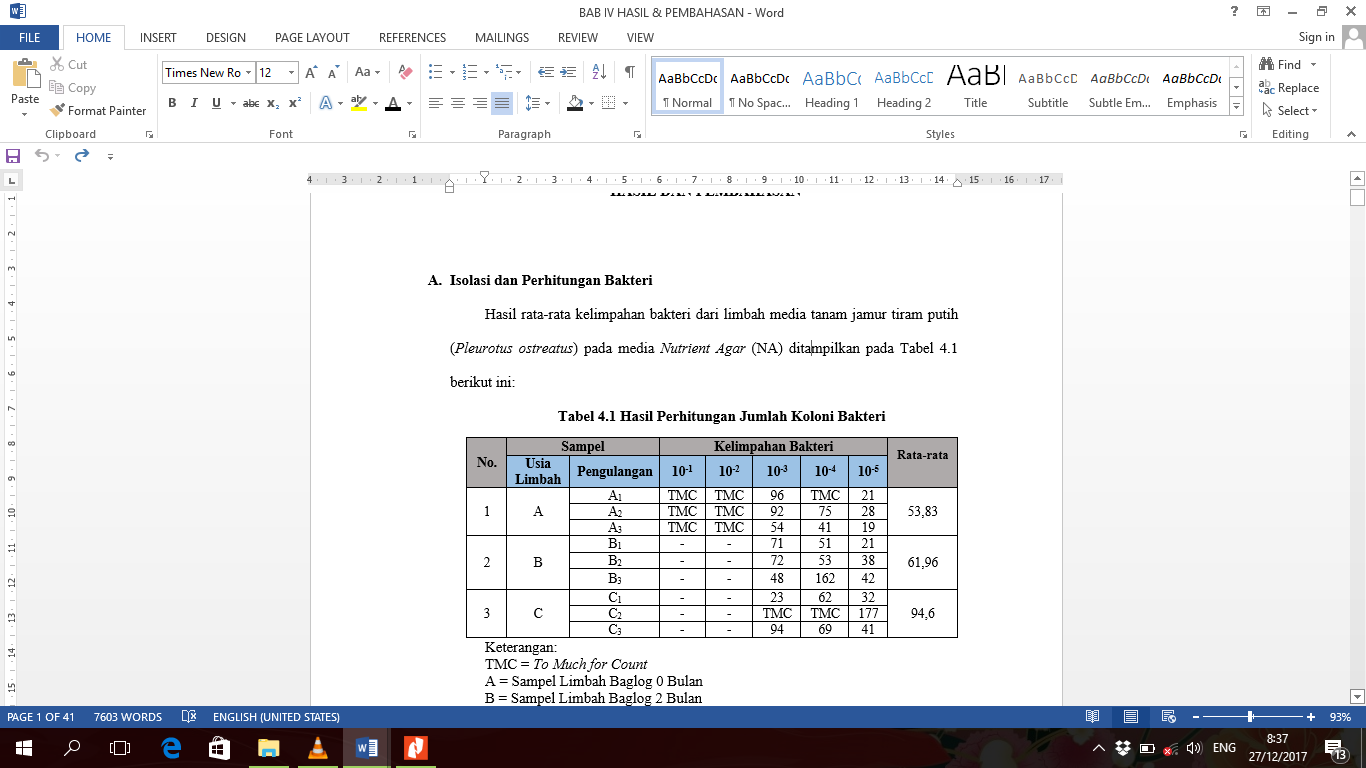
Hasil *screening* dilakukan pada media CMC guna melihat kemampuan isolat bakteri terpilih mendegradasi selulosa. Data yang diperoleh dideskripsikan sesuai dengan kemampuan setiap isolat positif bersifat selulolitik. Sehingga, dapat diperoleh analisis bahwa limbah baglog pada penelitian ini memberi peluang terhadap kelimpahan bakteri selulolitik.

**HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

**Isolasi dan Perhitungan Bakteri**

Hasil rata-rata kelimpahan bakteri dari limbah media tanam jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) pada media *Nutrient Agar* (NA) ditampilkan pada Tabel berikut ini:

**Tabel 1 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri**



Kelimpahan bakteri pada masing-masing sampel diberikan kode berbeda agar memudahkan dalam pembacaan. Sampel A merupakan limbah usia 0 bulan denganrata-rata kelimpahan bakteri mencapai 53, 83. Sampel B adalah limbah usia 2 bulan dengan kelimpahan 61, 96. Sedangkan, angka rata-rata tertinggi ditunjukkan oleh sampel C yakni mencapai 94, 6.

***Screening* Isolat Bakteri**

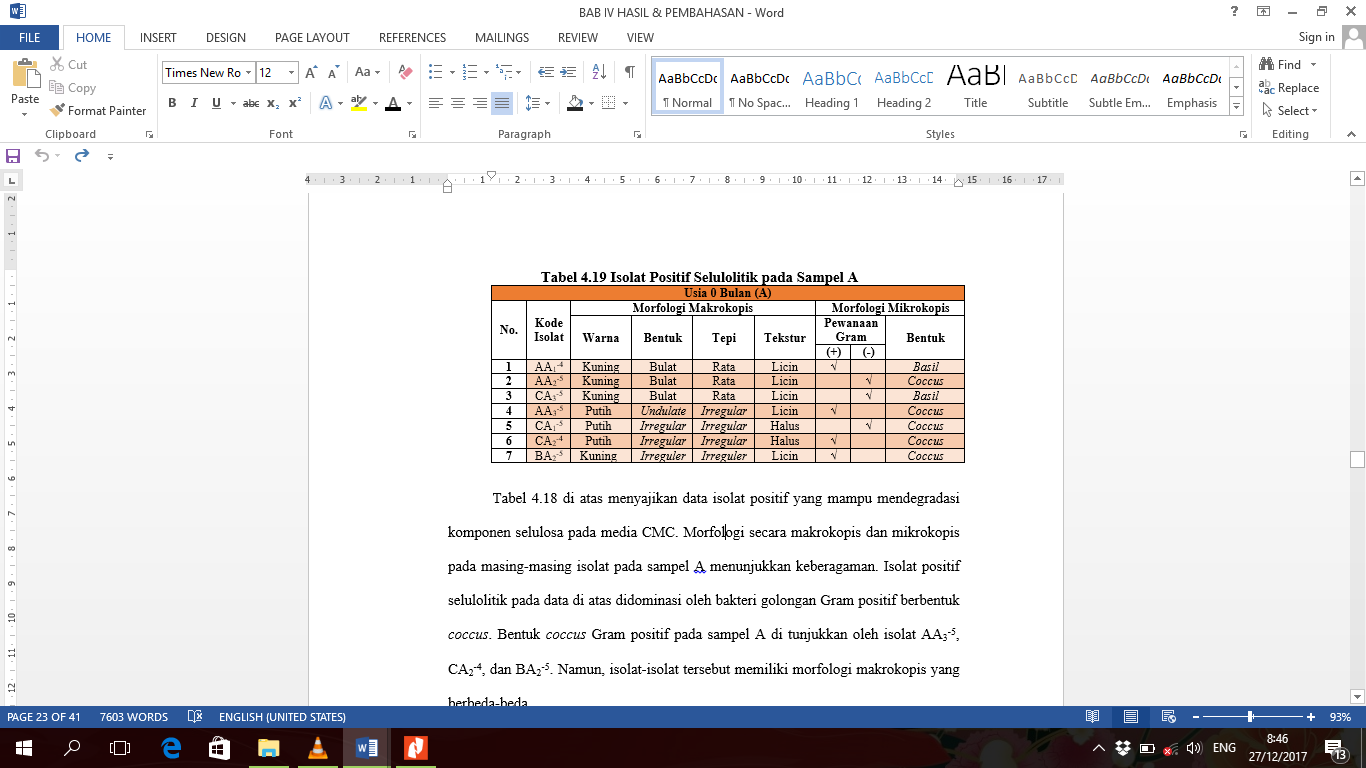
Karakterisasi isolat bakteri meliputi uji selulolitik (screening) dan pewarnaan Gram. Uji selulolitik dilakukan dengan mengkarakterisasi isolat menggunakan media pertumbuhan differensial yakni CMC (*Carboxyl Methyl Cellulose*). Isolat bakteri dikatakan sebagai pendegradasi selulosa apabila dapat membentuk zona bening pada media CMC tersebut. Isolat positif terhadap selulosa selanjutnya dikarakterisasi dengan pewarnaan Gram.

Data pengamatan makrokopis sebelumnya diketahui bahwa terdapat 7 isolat dengan morfologi berbeda pada warna, bentuk, tepi serta tekstur koloni bakteri.

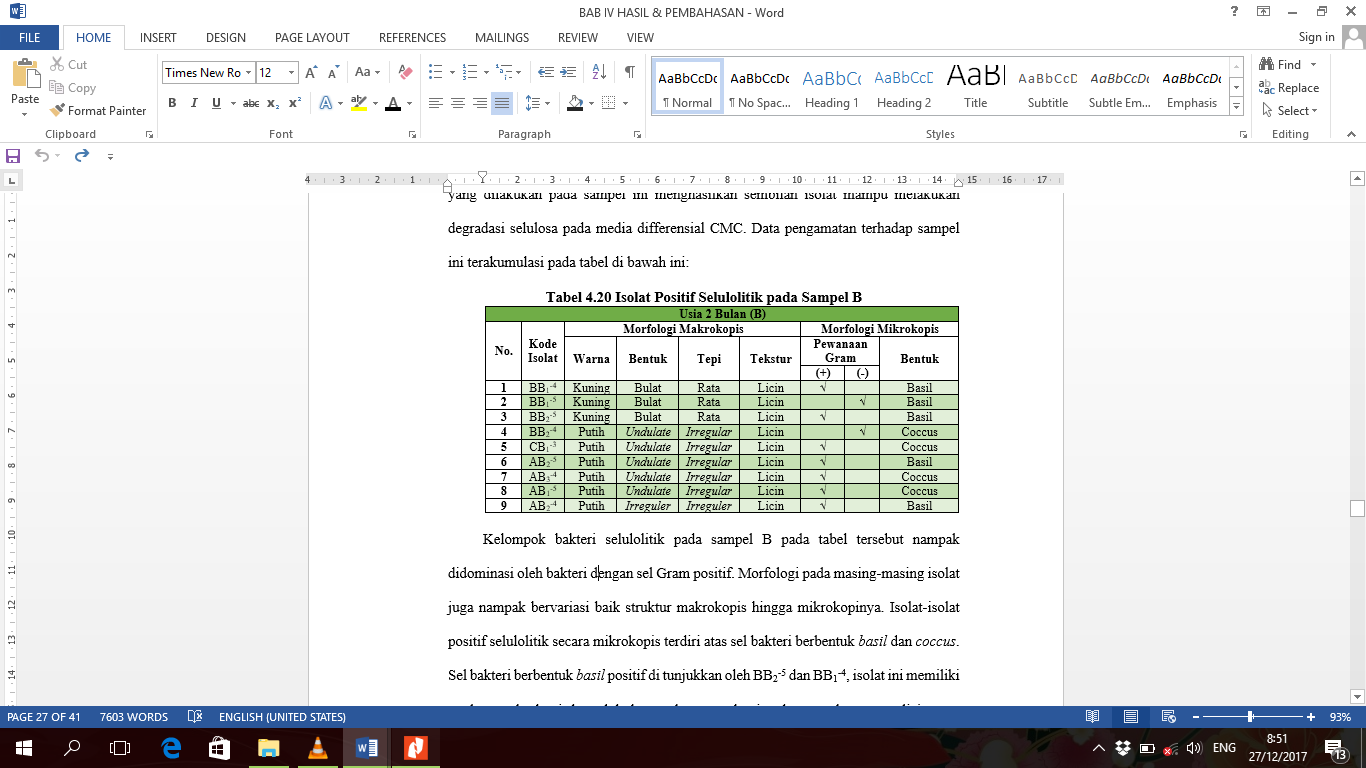
Tabel 4.16 mengakumulasi data hasil pengamatan tersebut. Hasil pengamatan secara makrokopis tersebut kemudian dijadikan dasar melakukan screening terhadap 60 isolat. Karakterisasi pada 60 isolat tersebut menunjukkan terdapat 23 isolat yang positif terhadap selulosa.

Tabel di bawah ini mengakumulasi data isolat positif mendegradasi selulosa pada CMC. Data pada pengamatan screening disajikan dengan membedakan usia sampel berupa limbah baglog. Hasil pengamatan tersebut dapat di lihat pada data tabel sebagai berikut:

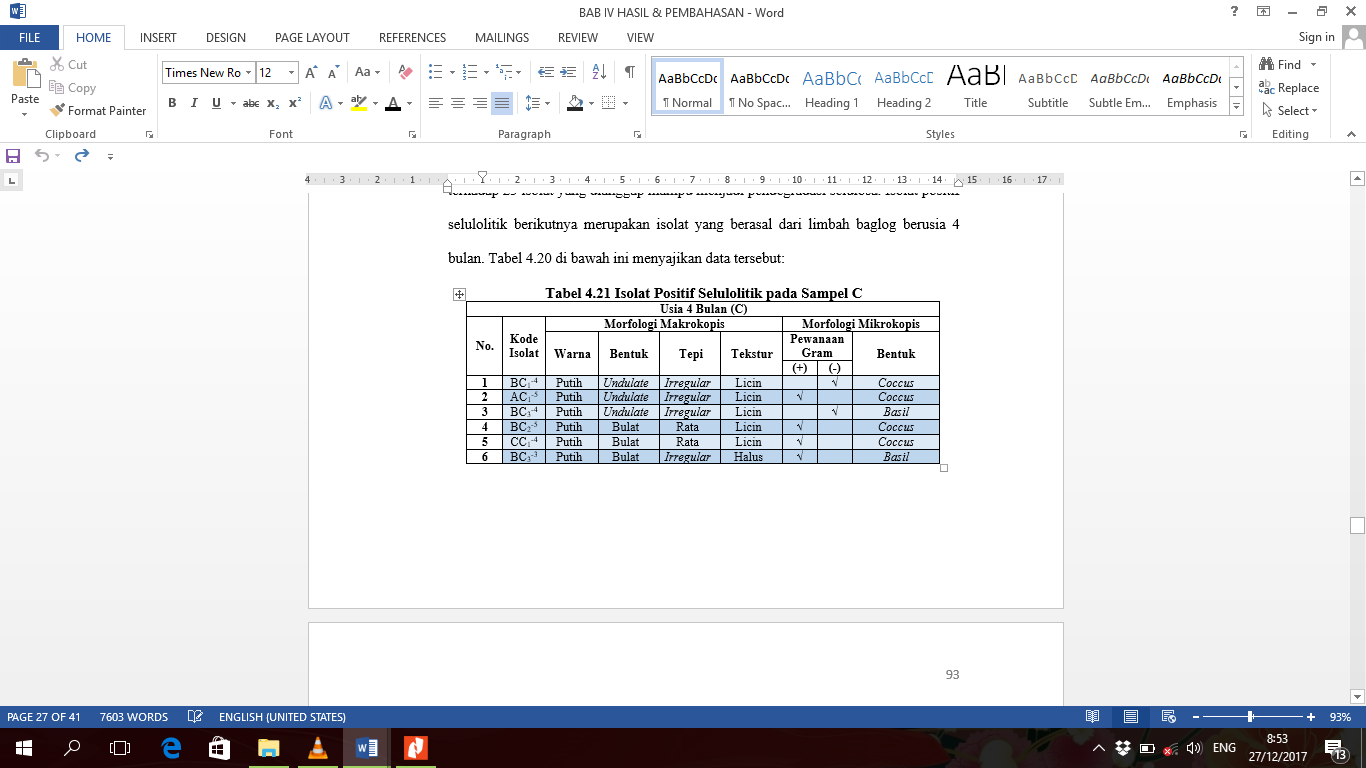
**Tabel 2 Isolat Positif Selulolitik pada Sampel A**



**Tabel 3 Isolat Positif Selulolitik pada Sampel B**



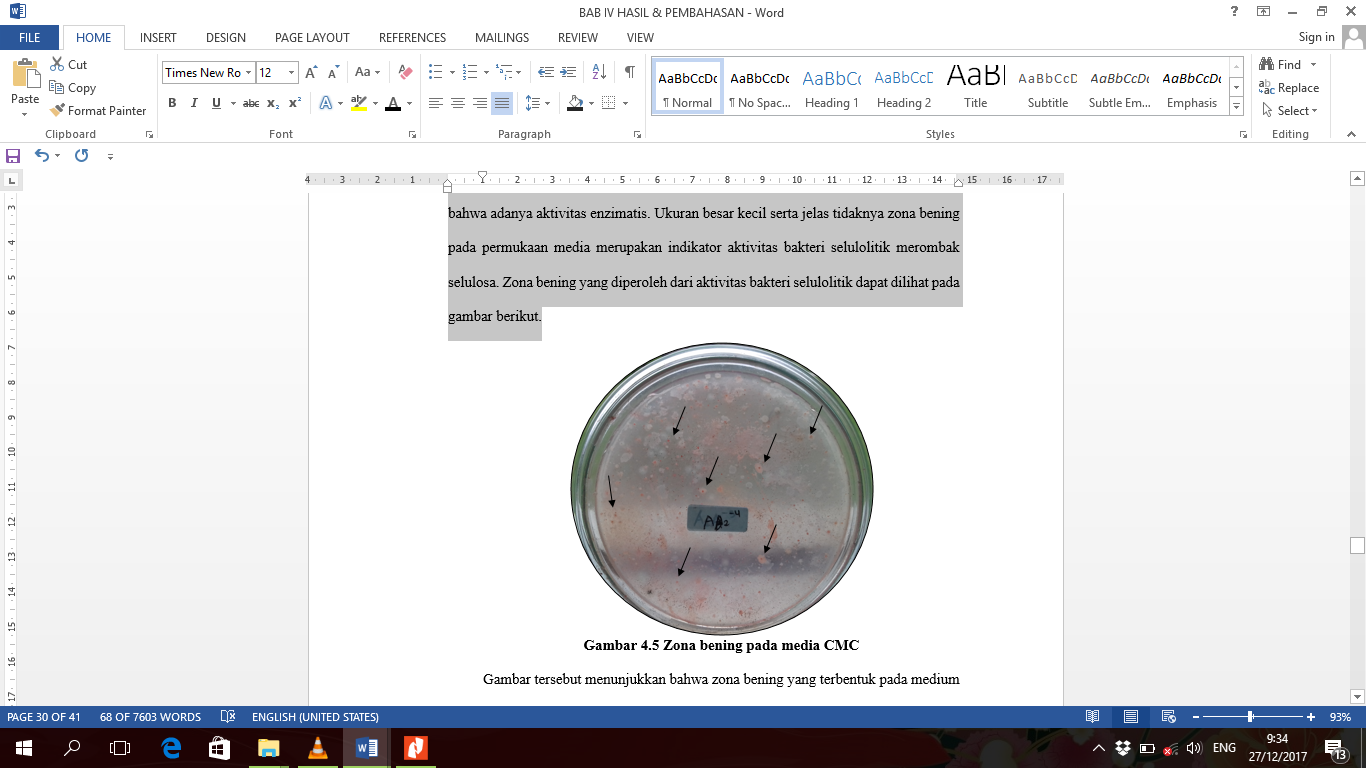
**Tabel 4. Isolat Positif Selulolitik pada Sampel C**



Isolat positif selulolitik pada Tabel 2 didominasi oleh bakteri golongan *Gram* positif berbentuk *coccus*. Bentuk *coccus Gram* positif pada sampel A di tunjukkan oleh isolat AA3-5, CA2-4, dan BA2-5. Namun, isolat-isolat tersebut memiliki morfologi makrokopis yang berbeda-beda.Isolat positif selulolitik pada sampel A diketahui berjumlah tujuh isolat dengan berbagai variasi morfologinya masing-masing. Sampel limbah baglog usia 2 bulan pada Tabel 3 juga menawarkan hasil isolat positif tehadap selulolitik. Hasil pengamatanyang dilakukan pada sampel ini menghasilkan sembilan isolat mampu melakukan degradasi selulosa pada media differensial CMC.

Kelompok bakteri selulolitik pada sampel B pada Tabel 3 nampak didominasi oleh bakteri dengan sel *Gram* positif. Hasil yang beragam juga ditunjukkan oleh isolat positif pada Tabel 4 sampel C. Bentuk *coccus* merupakan sel bakteri yang mendominasi hasil pengamatan secara mikrokopis sampel C.

Isolat bakteri positif terhadap selulolitik dapat ditemukan pada masing-masing sampel limbah baglog namun lebih banyak di peroleh pada baglog usia 2 bulan. Koloni bakteri yang mampu mendegradasi selulosa pada media CMC tersebut membuktikan bahwa adanya aktivitas enzimatis. Ukuran besar kecil serta jelas tidaknya zona bening pada permukaan media merupakan indikator aktivitas bakteri selulolitik merombak selulosa. Zona bening yang diperoleh dari aktivitas bakteri selulolitik dapat dilihat pada gambar berikut.



**Gambar 1 Zona bening pada media CMC**

Isolat terbanyak yang mampu mendegradasi selulosa merupakan isolat putih *undulate* dengan bentuk selnya adalah *coccus* positif. Koloni bakteri tersebut berada pada masing-masing usia sampel limbah baglog, baik 0, 2 hingga 4 bulan.

**Tabel 5 Total isolat positif selulolitik**



Keterangan: *Blok warna kuning menunjukkan isolat terbanyak yang mampu mendegradasi selulosa.*

**PEMBAHASAN**

Kandungan selulosa mempunyai kecenderungan semakin lama masa inkubasi maka semakin banyak terdegradasi. Selulosa yang terdegradasi selanjutnya berguna untuk pertumbuhan jamur tiram putih. Data pada sebuah penelitian menyatakan degradasi selulosa mencapai puncaknya saat jamur tiram putih membentuk tubuh buah. Kelimpahan mikroba pada usia limbah 4 bulan yang tinggi membuktikan hal tersebut.

Sampel limbah baglog usia 4 bulan merupakan media tanam jamur tiram yang memasuki fase produktivitas akhir. Baglog tersebut dikatakan sebagai baglog tua dengan karakteristik bobot yang semakin ringan. Bobot baglog yang ringan ini disebabkan sustrat berupa serbuk gergaji kayu banyak digunakan bagi pertumbuhan miselium.

Masa baglog produktif yakni 2 bulan ditandai dengan penebalan pada miselium belum merata. Baglog usia 2 bulan memiliki bobot yang cukup berat dibanding sampel 4 bulan. Kelimpahan mikroorganisme seperti bakteri pada sampel 2 bulan terbilangcukup besar dibanding baglog 0 bulan. Sampel baglog usia 0 bulan menunjukkan kelimpahan bakteri terendah setelah inokulasi pada media NA padat.

Kelimpahan bakteri berhubungan dengan kualitas lingkungan yang terdiri atas faktor fisika dan kimia. Faktor fisika yang dapat mempengaruhi kelimpahan bakteri misalnya suhu dan pH, sedangkan jumlah unsur seperti nitrogen (N) dan karbon (C) merupakan faktor kimia. Bakteri sangat beragam baik dalam persyaratan nutrisi maupun faktor fisiknya. Kelompok bakteri tertentu membutuhkan persyaratan yang sederhana, dan sebagian lainnya memiliki kebutuhan lebih kompleks dan sulit untuk proses pertumbuhannya (Pelczar, dkk. 2008).

Inokulum yang tumbuh dapat diindikasikan bahwa sampel berupa limbah baglog jamur tiram putih menawarkan peluang untuk memperoleh isolat bakteri selulolitik. Nitrogen dan karbon berdasarkan keterangan sebuah penelitian memiliki kandungan cukup tinggi pada sampel limbah baglog. Komponen nitrogen dan karbon tersebut dihasilkan oleh hidolisis kelompok bakteri yang terindikasi selulolitik (Setiarto dan Saskiawan, 2013). Oleh karena itu, berdasarkan keterangan yang dipaparkan indikasi isolat pada penelitian kali ini nantinya akan dikonfirmasikan dengan data hasil *screening*.Sampel limbah baglog juga menyajikan data bahwa terdapat perbedaan pada koloni yang tumbuh mendominasi media. Perbedaan tersebut menjadi indikasi dilakukannya pemurnian. Pemurnian pada isolat bakteri ini merupakan rangkaian kegiatan yang dilakukan untuk proses isolasi. Isolasi dilakukan untuk memisahkan mikroorganisme seperti bakteri agar diperoleh biakan murni secara *in vitro* dalammedia kultur. Warna, bentuk, tepi dan tekstur merupakan dasar yang digunakan untuk membedakan koloni bakteri. (Agnes Sri Harti. 2015)

Nilai kelimpahan pada setiap sampel limbah baglog setelah diinokulasikan pada media NA menunjukkan kenaikan. Isolat yang tumbuh mendominasi setiap sampel memiliki morfologi berbentuk *undulate* berwarna putih serta bertekstur licin. Kelimpahan isolat ini mencapai 527 koloni yang tersebar di masing-masing sampel limbah baglog. Sedangkan, isolat dengan kelimpahan terendah yakni berbentuk bulat dan tepi irreguler berwarna putih serta bertekstur halus yang berjumlah 82 koloni. Isolat ini hanya ditemukan pada sampel limbah berusia 4 bulan.

Penghitungan bakteri yang diambil dari limbah baglog jamur tiram putih menggunakan standar *Total Plate Count* (TPC). *Total Plate Coun*t (TPC) merupakan salah satu metode perhitungan bakteri tanpa menggunakan mikroskop. Hasil perhitungan menggunakan metode TPC ini tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, karena beberapa sel yang berdekatan mungkin membentuk satu koloni.

Mikroorganisme yang diperoleh dengan menggunakan metode TPC hanya merupakan jumlah perkiraan dan terdapat kemungkinan bahwa jumlah mikroorganisme yang diperoleh lebih banyak dibandingkan dengan mikroorganisme sesungguhnya.

Hasil perhitungan kelimpahan bakteri tinggi tidak selalu mendapatkan koloni selulolitik yang tinggi pula. Kelimpahan bakteri dihubungkan dengan beberapa kualitas lingkungan yang meliputi faktor fisika dan faktor kimia. Faktor fisika yang diukur antara lain suhu, pH sedangkan, jumlah unsur nitrogen dan karbon merupakan faktor kimia yang diukur. Hasil penelitian menyebutkan bahwa tingginya kandungan karbon dan nitrogen pada limbah baglog merupakan hasil degradasi mikroba. Namun, penelitian dengan sampel yang sama menunjukkan bahwa aktivitas degradasi tertinggi adalah kelompok jamur dibanding bakteri (Sinatryani, 2014). Unsur karbon pada organisme dalam hal ini adalah bakteri, merupakan bahan dasar materi sel organik sebagai sumber energi yang penting dalam proses metabolisme dan perbanyakan sel. Sedangkan, nitrogen merupakan bahan dasar pokok dalam membentuk protein, asam nukleat (DNA dan RNA) serta senyawa lain seperti koenzim. (Musdalifah. 2013)

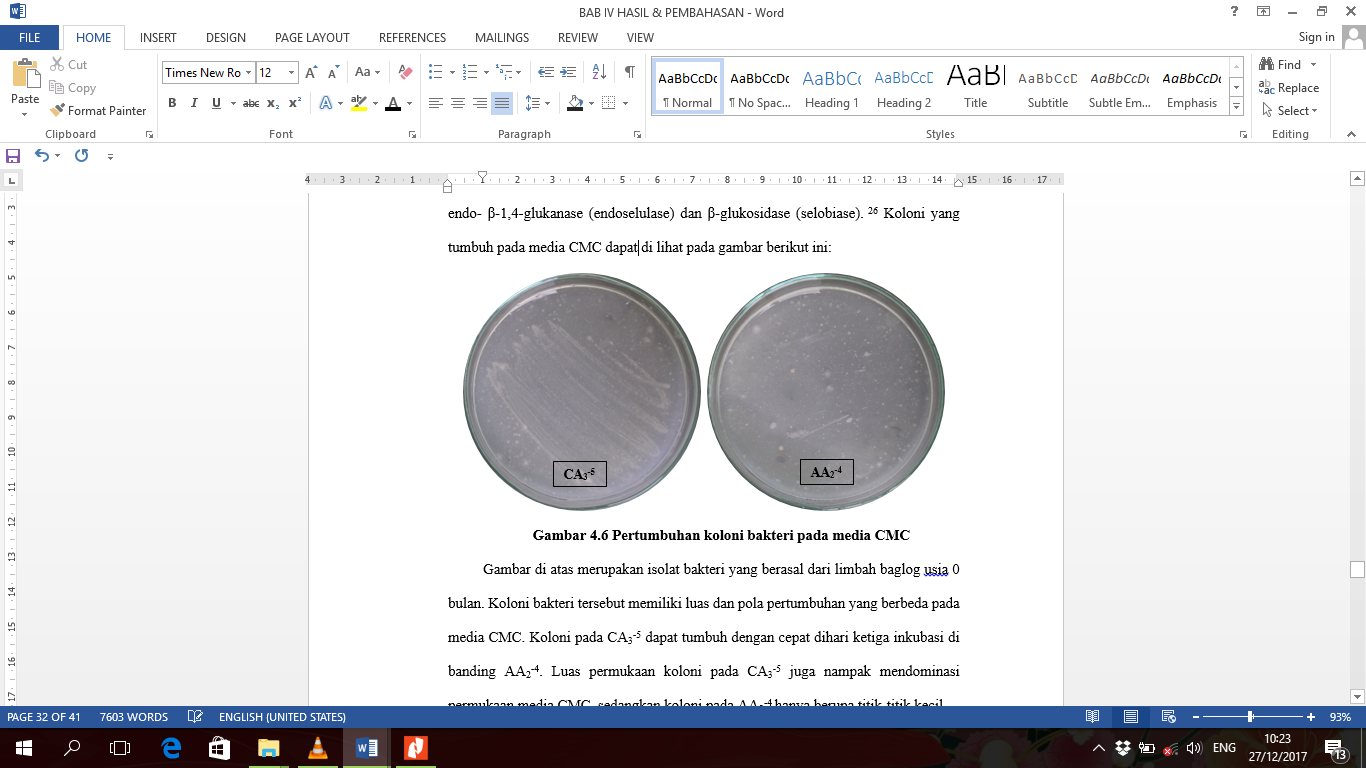
Kandungan nitrogen terendah terdapat pada masa inkubasi 1 bulan, hal ini disebabkan miselium pada baglog tersebut masih rendah. Nitrogen mengalami peningkatan sampai pada masa inkubasi 4 bulan, dikarenakan miselium pada baglog menebal sehingga meningkatkan kandungan nitrogen pada baglog. Jamur tiram putih menggunakan karbon serta nitrogen untuk komponen sel tubuh, sehingga konsentrasi miselium semakin padat. Unsur nitrogen dan karbon yang meningkat memberi pengaruh terhadap asam amino, sehingga persentase protein pada limbah baglog meningkat. Data sebuah penelitian menyebutkan bahwa protein mengalami kenaikan hingga 22,4% (Kusuma, 2014). Hasil analisis kimia pada sebuah penelitian menyatakan bahwa limbah media tanam jamur tiram putih pada masa panen memiliki kandungan protein yang tinggi.Sintesis protein oleh mikroorganisme dalam hal ini bakteri menjadi salah satu penyebab peningkatan tersebut. Protein merupakan senyawa organik yang mengandung unsur karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, sulfur dan fosfor yang merupakan zat makanan utama bagi bakteri. Limbah media tanam jamur tiram putih memiliki mutu sedikit lebih tinggi karena kadar proteinnya bertambah dibanding jerami segar (Yuliastuti dan Susilo, 2003).

Data hasil sebuah penelitian menyatakan bahwa adanya pelapukan pada media tanam jamur tiram (baglog) menjadi keuntungan dibanding substrat segar seperti jerami. Pelapukan pada media tanam jamur dapat menyederhanakan bahan organik menjadi senyawa yang mudah untuk diserap. Senyawa tersebut antaralain seperti sejenis gula, asam organik, dan asam amino. Selain itu, pelapukan oleh media mampu mengaktifkan mikroflora termofolik, misalnya bakteri yang akan merombak selulosa.

Gambar 1 menunjukkan bahwa zona bening yang terbentuk pada medium differensial CMC berukuran sangat kecil. Zona bening pada gambar diatas tersebar hampir memenuhi permukaan media. Zona bening tersebut dapat terlihat jelas pada hari ke delapan inkubasi setelah direndam pewarna *congo red* 0,1%. Luas zona beningpada sebuah penelitian dijelaskan bahwa berkaitan dengan konsentrasi CMC atau agar yang digunakan.Konsentrasi media yang tidak sesuai membuat enzim selulase sulit untuk disekresikan sehingga menghambat proses degradasi. CMC dan agar dengan komposisi yang tinggi membuat kepadatan dan pori-pori media menjadi lebih kecil. Media dengan keadaan seperti ini membuat sulit dilintasi oleh selulosa untuk proses degradasi. Demikian sebaliknya, penambahan CMC dan agar yang terlalu sedikit menyebabkan media menjadi lebih lunak sehingga proses isolasi dan inokulasi terhambat (Ambriyanto, 2010).

Zona bening yang terbentuk juga berkaitan dengan kelarutan dari enzim selulase. Teori pada sebuah penelitian menyatakan bahwa enzim selulase yang memiliki tingkat kelarutan tinggi, akan membentuk zona bening yang berukuran besar. Data penelitian ini memiliki keterbatasan di mana zona bening yang dihasilkan oleh aktivitas bakteri tidak dapat diukur diameternya. Diameter zona bening yang dihasilkan pada penelitian yang dilakukan memiliki ukuran sangat kecil dan tipis sehingga sulit dilakukan pengukuran.

Media differensial CMC yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri selulolitik ini memiliki ikatan selulosa dapat larut (amorf). Koloni bakteri yang tumbuh lebih cepat dan lebih luas pada CMC dikarenakan lebih banyak menghasilkan enzim ekso-β-1,4-glukanase daripada enzim endo- β-1,4-glukanase. Selulosa merupakan enzim kompleks yang terdiri dari enzim ekso-β-1,4-glukanase (selobiohidrolase), enzim endo- β-1,4-glukanase (endoselulase) dan β-glukosidase (selobiase). Koloni yang tumbuh pada media CMC dapat di lihat pada gambar berikut ini:



**Gambar 2 Pertumbuhan koloni bakteri pada media CMC**

Hasil sebuah penelitian menjelaskan bahwa kuantitas enzim ekso-β-1,4-glukanase mempengaruhi kecepatan degradasi selulosa. Selulosa yang terdegradasi dengan cepat diakibatkan kemampuan enzim ekso-β-1,4-glukanase mengkatalis pembentukan selobiosa dihidrolisis menjadi glukosa. Laju degradasi selulosa yang rendah terjadi apabila enzim endo- β-1,4-glukanase lebih banyak dihasilkan sehingga menghambat penbentukan glukosa sebagai produk akhir (Nugraha, 2012). Enzim endo- β-1,4-glukanase pada sebuah teori penelitian menyatakan bahwa, secara serentak ikatan β-1,4 mempengaruhi makromolekul dan menghasilkan potongan besar berbentuk rantai yang ujungnya bebas. Rantai tersebut kemudian dipotong oleh enzim ekso- β-1,4-glukanase menjadi disakarida selobiosa. Selobiosa yang terbentuk akan dihidrolisis oleh enzim β-glukosidase menjadi glukosa.

Selulosa merupakan material organik yang sangat melimpah pada tanaman dan siap untuk dipecah oleh berbagai mikroorganisme salah satunya adalah bakteri. Bakteritersebut akan menggunakan enzim selulase untuk memecah selulosa menjadi molekul selobiosa yang merupakan disakarida yang terdiri dari dua unit glukosa (Sinatryani, 2014). Hasil penelitian yang dilakukan membuktikan bahwa adanya kemampuan bakteri selulolitik dari sampel berupa limbah baglog jamur tiram putih berbahan serasah kayu karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg).

Kelompok bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase berbeda-beda, sesuai dengan gen serta sumber karbon yang digunakan. Hasil penelitian menggunakan sampel berupa jerami dan tongkol jagung menunjukkan kemampuandegradasi selulosa yang rendah. Substrat sintetik CMC yang digunakan pada sampel tersebut memiliki aktivitas yang rendah sehingga enzim selulase kurang potensial bekerja. Selain itu, komponen lignin yang membungkus selulosa pada sampel jerami dan tongkol jagung juga berperan menghambat aktivitas enzim selulase (Meryandini, dkk., 2009).

Hasil persentase selulolitik yang rendah juga ditunjukkan oleh penelitian menggunakan sampel serasah daun *Avicenia*. Degradasi selulosa tertinggi dimiliki oleh mikrooganisme amilolitik, proteolitik, selulolitik dan terakhir lipolitik. Mikroorganisme selulolitik pada sampel penelitian tersebut berada pada urutan ketiga untuk aktivitas degradasi selulosa. Sehingga, perlu diketahui bahwa kandungan pada sampel berupa limbah baglog memiliki kemungkinan terdiri atas mikroorganisme lain sehingga menghambat aktivitas selulolitik (Sinatryani, 2014).

Data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak adanya keterkaitan antara nilai kelimpahan dengan kondisi selulolitik bakteri. Nilai kelimpahan limbah baglog usia 4 bulan memang menunjukkan jumlah tertinggi, namun tidak pada hasil screening. Hasil data screening nampak bahwa limbah usia 2 bulan memiliki kelimpahan selulolitik terbanyak di banding limbah baglog lainnya.

Organisme selulolitik yang banyak ditemukan pada limbah usia 2 bulan dipengaruhi oleh kandungan nutrisi didalam baglog. Fase inkubasi pada limbah tersebut belum terlalu lama sehingga belum banyak selulosa yang didegradasi. Ketersediaan selulosa tersebut membuat kelimpahan bakteri selulolitik cukup tinggi dibanding baglog usia inkubasi lebih lama.

Limbah baglog dengan fase inkubasi yang cukup lama membuat kandungan selulosa sebagai komponen utama media tanam jamur banyak terdegradasi. Kelimpahan bakteri yang diperoleh bukan menjadi indikasi selulolitik sebab adanya kemungkinan jenis oreganisme lain yang menghuni banglog tersebut.

**SIMPULAN DAN SARAN**

**Simpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Limbah media tanam jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) berbahan serbuk gergaji kayu karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) memiliki peluang terhadap bakteri selulolitik.
2. Limbah baglog usia 4 bulan memiliki kelimpahan bakteri tertinggi setelah ditumbuhkan pada media NA, akibat tinggi unsur pendukung pertumbuhan bakteri yakni karbon dan nitrogen.
3. Isolat bakteri positif selulolitik didominasi oleh bentuk *undulate* dengan tepi *irregular* berwarna putih dan bertekstur licin. Kelompok bakteri ini tumbuh pada semua sampel limbah baglog dengan variasi pada jumlah kelimpahannya.
4. Hasil pewarnaan *Gram* pada isolat positif selulolitik menunjukkan bentuk sel bakteri yang mendominasi adalah *coccus* positif.

**Saran**

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh agen biologis dengan cara mengisolasi dan seleksi enzimatis terhadap bakteri selulolitik pada limbah media tanam jamur tiram putih berbahan kayu karet. Isolasi dan seleksi terbatas pada bakteri selulolitik saja, maka disarankan agar menguji kemungkinan bakteri lain seperti lignolitik, xilanolitik, amilolitik, proteolitik, ataupun lipolitik.

**DAFTAR PUSTAKA**

Agustini, Luciasih, et. al. “Isolat dan Karakterisasi Enzimatis Mikroba Lignoselulolitik di Tiga Tipe Ekosistem Taman Nasional”. Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam: 197-210, 2016.

Bimo Setiarto, R Haryo dan Saskiawan, Iwan. “Seleksi dan Karakterisasi Mikroba Lignoselulolitik yang diisolasi dari Limbah Serbuk Gergaji sebagai Media Tanam Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)”. Jurnal Biologi Bidang Biokimia Mikroba,

Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong, Jawa Barat, 2013.

Hadrawi, Jumatriatikah. “Kandungan Lignin, Selulosa, dan Hemiselulosa Limbah Baglog Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) dengan Masa Inkubasi yang Berbeda sebagai Bahan Pakan Ternak”. Skripsi Fakultas Peternakan Universitas Hasanudding Makassar, 2014.

Isdaryanti, et. al. “Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Lignoselulosa Asal Rumen Sapi”.Skripsi JurusanBiologi FMIPA Universitas Hasanuddin. Makassar, 2015.

J. Pelczar, Michael, et. al. “Dasar-Dasar Mikrobiologi”. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), 2008.

Kusuma, Warta. “Kandungan Nitrogen (N), Fosfor (P) dan Kalium (K) Limbah Baglog Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Jamur Kuping (*Auricularia auricula*) Guna Pemanfaatannya sebagai Pupuk”. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar, 2014.

Lailatul Rahmah, Nur, et. al. “Pemanfaatan Limbah Baglog Jamur Tiram dan Kotoran Kambing sebagai Bahan Pembuatan Pupuk Kompos Berdasarkan Kajian Konsentrasi EM4 dan Jumlah Pembalikan”. Jurnal Teknologi Industri Pertanian FTP UB. ISBN: 978-602-7998-92-6, 2015.

Maulana Sy, Erie. “Panen Jamur Tiap Musim”. Yoyakarta: Lily Publisher, 2012

Meryandini, Anja, et. al. “Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya”. MAKARA, Sains Bogor Vol.13 (1):33-38, 2009.

Musdalifah. “Distribusi dan Kelimpahan Bakteri *Enterococcus* spp. Di Perairan Terumbu Karang Kepulauan Spermonde Makassar”. Skripsi. Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar, 2013.

Fitri, Lenni. “Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolotik”. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi Edukasi Banda Aceh Vol.3 (2):20-25, 2011.

Sarju Ambriyanto, Kurniawan. “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Rumput Gajah (*Pennisetum purpureum* Schaum)”. Jurnal Ilmiah FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya, 2010.

Sinatryani, Didya. “Kelimpahan Bakteri Selulolitik di Muara Sungai Gunung Anyar Surabaya dan Bancaran Bangkalan”. Skripsi Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya, 2014.

Siregar, H.S, Tumpal dan Suhendri, Irawan. “Budidaya dan Teknologi karet”. Jakarta:Penebar Swadaya, 2013.

Sri Harti, Agnes. “Mikrobiologi Kesehatan”. Yogyakarta: CV. Andi Offset (Anggota IKAPI), 2015.

Susilawati dan Raharjo, Budi. “Petunjuk Teknis Budidaya Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus* Var Florida) Yang Ramah Lingkungan”.Materi Pelatihan Agribisnis Bagi KMPH Report No. 50 STE Final BPTP Sumatera Selatan, 2010.

Wanda Nugraha, Aldila. “Isolasi dan Biodegradasi Limbah Daduk oleh Kapang Selulolitik dari Perkebunan Tebu. Skripsi. Departemen Biologi”. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga, 2012.

Yuliastuti, ES Eko & Susilo, Adhi. “Studi Kandungan Nutrisi Limbah Media Tanamjamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Untuk Pakan Ternak Ruminansia”. Jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi, Vol. 4 (1): 54-61, 2003.