

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

Marlina Kamelia¹⁾, Bambang Sri Anggoro²⁾, dan Deffi Novitasari³⁾

^{1,2,3}FTK, UIN Raden Intan Lampung
e-mail: marlinakamelia@radenintan.ac.id

Diterima : 15 Oktober 2018. Disetujui: 22 November 2018. Dipublikasikan: 29 Desember 2018

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini yakni melakukan isolasi dan seleksi secara enzimatik 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 baglog yakni, 0, 2 dan 4 bulan. Isolat tersebut selanjutnya dikarakterisasi dengan *screening* pada media diferensial 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 menggunakan 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 *irregular* berwarna putih serta tekstur makroskopisnya yang licin. Sedangkan hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa bentuk sel *coccus* dengan *Gram-positive* mendominasi isolat bakteri.

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

ABSTRACT

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 results of isolation, 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 are positive cellulolytic 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 cellulolytic. The isolate that dominates the results in this study has an undulate shape with a white irregular edge and a slick macroscopic 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, tryptofan, theonin, valin, leusin, isoleusin, histidin, dan metilalanin (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 kayu lain yang 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 (CaCO_3) sebagai sumber mineral dan pengatur keasaman media tanam (pH), serta air adalah selia untuk pertumbuhan dan menyerap makanannya (Armawi, 2009; Hayati, 2011).

Industri banyak menggunakan kayu ini sehingga limbah berupa serbuk kayu juga melimpah. Kayu kremer merupakan jenis kayu yang mudah untuk di gergaji karena memiliki permukaan yang halus sehingga baik untuk pertumbuhan jamur. Budidaya jamur tiram tidak hanya memiliki aspek positif terhadap bidang pangan, ekonomi dan kesehatan. Aspek negatifnya timbul seiring meningkatnya jumlah limbah pasca panen jamur tiram berupa baglog. Baglog adalah 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 (CaSO_4) 0,5%, kapur (CaCO_3) 3,5%, TSP 0,5%, pupuk kandang 13,5%, dan air (Rahmah, Wahdianto, & Hidayat, 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 (Melati, Mulyasari, Sunarno, Bintang, & Kurniasih, 2014).

Bakteri selulolitik merupakan mikroorganisme yang mampu mendegradasi selulosa. Kelompok bakteri selulolitik menjadikan komponen selulosa tersebut sebagai sumber karbon utama bagi pertumbuhannya. Bakteri selulolitik yang beragam ini dapat dimanfaatkan menjadi produk yang memiliki nilai tambah, seperti bahan bakar nabati (*biofuel*), bahan kimia organik dan sumber nutrisi untuk kualitas bahan pakan ternak ataupun sumber pangan (Agustini, Irianto, Turjaningrum, & Santiaji, 2011). Bakteri selulolitik pada limbah, mulai banyak diteliti dan dikembangkan. Dengan demikian dapat terjaga ekosistemnya dengan pengelolaan lebih lanjut. Bakteri ini makin memberi manfaat dalam segala bidang baik dalam lingkungan ataupun ekonomi, sehingga penelitiannya terus dikembangkan.

Masalah-masalah yang telah diidentifikasi dan 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 diambil di Kecamatan Karanganyar, Kabupaten Lampung Selatan. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: 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, 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 KH_2SO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, yeast ekstrak, dan agar bubuk.

Prosedur penelitian ini dibagi menjadi: (1) persiapan dan pengambilan sampel; (2) pengenceran dan inokulasi isolat bakteri; (3) Uji *Screening Enzimatis*, terdiri dari persiapan media CMC-agar (*Carboxy Methyl Cellulose*) dan uji enzim selulase; (4) pewarnaan *Gram*. Teknik pengumpulan data menggunakan observasi dan dokumentasi.

Analisis data dilakukan dengan membandingkan secara deskriptif tingkat kelimpahan bakteri yang diperoleh dari sampel limbah baglog pada media NA. Kemampuan tersebut dibedakan berdasarkan usia limbah baglog yang nantinya hasil yang didapat akan dengan hasil *screening*. Hasil *screening* dilakukan pada media CMC guna melihat kemampuan isolat bakteri terpilih mendegradasi selulosa. Data yang diperoleh akan deskripsikan sesuai dengan kemampuan setiap isolat positif beraktivitas selulolitik. Sehingga, dapat diperoleh analisis bahwa limbah baglog pada penelitian ini memiliki 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

No.	Sampel		Kelimpahan Bakteri					Rata-rata
	Usia Limbah	Pengulangan	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
1	A	A ₁	TMC	TMC	96	TMC	21	53,83
		A ₂	TMC	TMC	92	75	28	
		A ₃	TMC	TMC	54	41	19	
2	B	B ₁	-	-	71	51	21	61,96
		B ₂	-	-	72	53	38	
		B ₃	-	-	48	162	42	
3	C	C ₁	-	-	23	62	32	94,6
		C ₂	-	-	TMC	TMC	177	
		C ₃	-	-	94	69	41	

Kelimpahan bakteri pada masing-masing sampel diberikan kode berbeda agar memudahkan dalam pembacaan. Sampel A merupakan limbah usia 0 bulan dengan rata-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 pada 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 bening pada media CMC tersebut. Isolat positif terhadap selulosa selanjutnya dikarakterisasi dengan pewarnaan Gram. Data pengamatan makroskopis sebelumnya diketahui bahwa terdapat 7 isolat dengan morfologi berbeda pada warna, bentuk, tepi, dan tekstur koloni bakteri.

Tabel 1 mengakumulasi data hasil pengamatan tersebut. Hasil pengamatan secara makroskopis tersebut kemudian digunakan sebagai dasar melakukan *screening* terhadap 60 isolat. Karakterisasi pada 60 isolat tersebut dilakukan terdapat 23 isolat yang positif terhadap selulosa.

Tabel 2 mengakumulasi data isolat positif mendegradasi selulosa pada CMC. Data pada pengamatan tersebut disajikan dengan membedakan usia sampel berupa limbah baglog. Hasil pengamatan tersebut dapat di lihat pada data tabel sebagai berikut:

Tabel 1. Isolat Positif Selulolitik pada Sampel A

Usia 0 Bulan (A)								
No.	Kode Isolat	Morfologi Makroskopis				Morfologi Mikroskopis		
		Warna	Bentuk	Tepi	Tekstur	Pewanaan Gram		Bentuk
						(+)	(-)	
1	AA ₁ ⁻⁴	Kuning	Bulat	Rata	Licin	√		<i>Basil</i>
2	AA ₂ ⁻⁵	Kuning	Bulat	Rata	Licin		√	<i>Coccus</i>
3	CA ₃ ⁻⁵	Kuning	Bulat	Rata	Licin		√	<i>Basil</i>
4	AA ₃ ⁻⁵	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin	√		<i>Coccus</i>
5	CA ₁ ⁻⁵	Putih	<i>Irregular</i>	<i>Irregular</i>	Halus		√	<i>Coccus</i>
6	CA ₂ ⁻⁴	Putih	<i>Irregular</i>	<i>Irregular</i>	Halus	√		<i>Coccus</i>
7	BA ₂ ⁻⁵	Kuning	<i>Irreguler</i>	<i>Irreguler</i>	Licin	√		<i>Coccus</i>

Tabel 3 Isolat Positif Selulolitik pada Sampel B

Usia 2 Bulan (B)								
No.	Kode Isolat	Morfologi Makrokopis				Morfologi Mikrokopis		
		Warna	Bentuk	Tepi	Tekstur	Pewarnaan Gram		Bentuk
						(+)	(-)	
1	BB ₁ ⁻⁴	Kuning	Bulat	Rata	Licin			Basil
2	BB ₁ ⁻⁵	Kuning	Bulat	Rata	Licin	√		Basil
3	BB ₂ ⁻⁵	Kuning	Bulat	Rata	Licin	√		Basil
4	BB ₂ ⁻⁴	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin			Coccus
5	CB ₁ ⁻³	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin			Coccus
6	AB ₂ ⁻⁵	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin	√		Basil
7	AB ₃ ⁻⁴	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin	√		Coccus
8	AB ₁ ⁻⁵	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin	√		Coccus
9	AB ₂ ⁻⁴	Putih	<i>Irregular</i>	<i>Irregular</i>	Licin	√		Basil

Tabel 4 Isolat Positif Selulolitik pada Sampel C

Usia 4 Bulan (C)								
No.	Kode Isolat	Morfologi Makrokopis				Morfologi Mikrokopis		
		Warna	Bentuk	Tepi	Tekstur	Pewarnaan Gram		Bentuk
						(+)	(-)	
1	AA ₁ ⁻⁴	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin		√	<i>Coccus</i>
2	AA ₂ ⁻⁵	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin	√		<i>Coccus</i>
3	BC ₃ ⁻⁴	Putih	<i>Undulate</i>	<i>Irregular</i>	Licin		√	<i>Basil</i>
4	BC ₂ ⁻⁵	Putih	Bulat	Rata	Licin	√		<i>Coccus</i>
5	CC ₁ ⁻⁴	Putih	Bulat	Rata	Licin	√		<i>Coccus</i>
6	BC ₃ ⁻³	Putih	Bulat	<i>Irregular</i>	Halus	√		<i>Basil</i>

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 terhadap selulolitik. Hasil pengamatan yang 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 mikroskopis 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 dalam mengembak selulosa. Zona bening yang diperoleh dari aktivitas bakteri selulolitik dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1 Zona bening pada media CMC

Isolat terbaik 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

No.	Pengamatan Makrokopis (warna, bentuk, tepi, tekstur)	Pengamatan Mikrokopis				Jumlah
		Gram		Bentuk		
		(+)	(-)	Coccus	Basil	
1	Kuning, Bulat, Rata, Licin		√	√		1
		√			√	3
			√		√	2
2	Putih, Undulate, Irreguler, Licin		√	√		2
		√			√	1
			√			1
3	Putih, Irreguler, Irreguler, Halus	√	√			2
4	Kuning, Irreguler, Irreguler, Licin	√		√		1
5	Putih, Irreguler, Irreguler, Licin	√				1
6	Putih, Bulat, Irreguler, Halus				√	1
7	Putih, Bulat, Rata, Licin			√		2
Jumlah			5	7	6	23

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

Kandungan selulosa mempunyai kecenderungan semakin lama masa inkubasi maka semakin banyak terdegradasi. Selulosa yang terdegradasi selanjutnya berguna untuk pertumbuhan jamur tiram putih. Pada sebuah penelitian menyatakan degradasi selulosa mencapai puncaknya saat jamur tiram putih membentuk tubuh buah. Kelimpahan mikroba pada umur 4 bulan yang tinggi membuktikan hal tersebut. Sampel limbah baglog usia 2 bulan merupakan media tanam jamur tiram yang memasuki fase produktivitas akhir. Limbah tersebut dikatakan sebagai baglog tua dengan karakteristik bobot yang semakin ringan. Bobot baglog yang ringan ini disebabkan substrat 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 terbilang cukup 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, Chan, & Hadioetomo, 1988).

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 dipecahkan oleh hidrolisis kelompok bakteri yang terindikasi selulolitik (Setiawan, Saskia, & Satrio, 2013). Oleh karena itu, berdasarkan keterangan yang dipaparkan diindikasi bahwa pada penelitian kali ini nantinya akan dikonfirmasi dengan data hasil selanjutnya. 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 mikroorganismenya seperti bakteri agar diperoleh biakan murni secara *in vitro* dalam media kultur. Warna, bau, dan tekstur merupakan dasar yang digunakan untuk membedakan koloni bakteri (Lubis, 2015; Sri Harti, 2015).

Nilai kelimpahan pada setiap sampel limbah baglog setelah diinokulasikan pada media NA menunjukkan koloni. Isolat yang tumbuh mendominasi setiap sampel memiliki morfologi berbentuk *umbonate* berwarna putih serta bertekstur licin. Kelimpahan isolat ini merupakan 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 Count* (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, musdalifah (2016) mengatakan bahwa nitrogen merupakan bahan dasar pokok dalam membentuk protein (asam nukleat, DNA dan RNA) serta senyawa lain seperti koenzim (Saputri, Wulandari, & Pursetyo, 2017; Sinatryani, Sudarno, & Pursetyo, 2019).

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 baglog meningkat. Data sebuah penelitian menyebutkan bahwa persentase mengalami kenaikan hingga 22,4% (Kusuma, 2014). Hasil analisis kimia pada sebuah penelitian menyatakan bahwa limbah media tanam jamur tiram putih pada masa inkubasi memiliki kandungan protein yang tinggi. Sintesis protein oleh mikroorganisme selain jamur dan 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 (ES & Susilo, 2003).

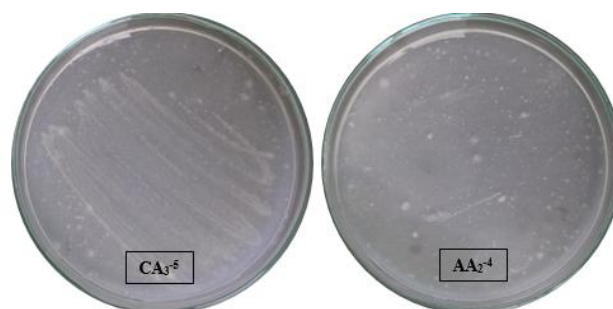
Data hasil sebuah penelitian menyatakan bahwa adanya pelapukan pada media tanam jamur tiram (baglog) menjadi keuntungan dibanding substrat segar seperti jerami. Pelapukan pada media tanam jamur dapat menyederhanakan bahan organik menjadi senyawa yang mudah untuk diserap. Senyawa tersebut antarlain seperti sejenis gula, asam organik, dan asam amino. Selain itu, pelapukan oleh media mampu mengaktifkan mikroflora termofilik, 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 bening pada 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 komposisi seperti ini membuat sulit dilintasi oleh selulosa untuk proses degradasi. Sebaliknya, penambahan CMC dan agar yang terlalu sedikit menyebabkan media menjadi lebih lunak sehingga proses isolasi dan inokulasi terhambat (Ambrianto, 2014).

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 digunakan untuk pertumbuhan bakteri selulolitik ini memiliki ikatan selulosa yang kuat larut (Amorin). 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 (endoselobiohidrolase), enzim endo- 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 pembentukan 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. Bakteri tersebut akan menggunakan enzim selulase untuk memecah selulosa menjadi molekul selobiosa yang merupakan disakarida yang terdiri dari dua unit glukosa (Sinatryani dkk., 2019). Hasil penelitian yang dilakukan membuktikan bahwa tidak adanya kemampuan bakteri selulolitik dari sampel berupa limbah baglog jamur tiram putih terhadap bahan serasah kayu karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg).

Kelompok bakteri selulolitik mempunyai kompleks enzim selulase berbeda-beda, sesuai dengan gen serta sumber karbon yang digunakan. Hasil penelitian menggunakan sampel berupa jerami dan tongkol jagung menunjukkan kemampua degradasi selulosa yang rendah. Substrat organik C₁₂H₂₂O₁₁ 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 berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase (Meryandini dkk., 2010).

Hasil penelitian selulolitik yang rendah juga ditunjukkan oleh penelitian menggunakan sampel serasah daun *Avicenia*. Degradasi selulosa tertinggi dimiliki oleh mikroorganisme 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 dkk., 2019).

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 organisme lain yang menghuni baglog tersebut.

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa limbah media tanam jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) berbasah serbuk gergaji kayu karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) memiliki pengaruh terhadap bakteri selulolitik, limbah baglog usia 4 bulan memiliki kelimpahan bakteri selulolitik setelah ditumbuhkan pada media NA, akibat tinggi unsur pendukung pertumbuhan bakteri yakni karbon dan nitrogen, isolat bakteri positif selulolitik didominasi dengan bentuk *unifilamentate* dengan tepi *irregular* berwarna putih dan bertekstur licin. Jumlah koloni tumbuh pada semua sampel limbah baglog dengan variasi pada jumlah koloni yang berbeda, dan hasil pewarnaan *Gram* pada isolat positif selulolitik menunjukkan bentuk bakteri yang mendominasi adalah *coccus* positif.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, L., Santoso, E., Turjaman, M., & Santoso, E. (2011). Isolasi dan Karakterisasi Enzimatis Mikroba Lignoselulolitik di Tiga Tipe Ekosistem Taman Nasional. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 8(2), 197–210.
- Ambriyanto, K. S. (2010). Isolasi dan karakterisasi bakteri aerob pendegradasi selulosa dari serasah daun rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schaum). *Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.
- Armawi, A. (2009). *Pengaruh pemberian air kelapa pada media tanam terhadap pertumbuhan jamur tiram putih Pleurotus ostreatus*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- ES, E. Y., & Susilo, A. (2003). Studi Kandungan Nutrisi Limbah Media Tanamjamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*) Untuk Pakan Ternak Ruminansia. *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*, 4(1), 54–61.

- Harti, A. S. (2015). Mikrobiologi Kesehatan. *Andi, Yogyakarta*.
- Hayati, A. (2011). *Pengaruh Frekuensi Dan Konsentrasi Pemberian Air Kelapa Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Jamur Merang (Volvariella volvaceae)*.
- Maulana, E. (2012). Panen Jamur Tiap Musim (Panduan Lengkap Bisnis dan Budidaya Jamur Tiram). *Penerbit Andi. Yogyakarta*.
- Melati, I., Mulyasari, M., Sunarno, M. T. D., Bintang, M., & Kurniasih, T. (2017). Produksi Enzim Selulase Dari Bakteri Ts2b Yang Diisolasi Dari Runtan Daun Dan Pemanfaatannya Dalam Menghidrolisis Kulit Ubi Kayu dan Daun Ubi Kayu Sebagai Bahan Baku Pakan Ikan Irma. *Jurnal Riset Akuakultur*, 9(1), 26-31.
- Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T., Gachman, N., & Satria, H. (2010). Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasinya. *Indonesian Journal of Science*.
- Pelczar, M. J., Chan, E. C. S., & Hadioetomo, R. (1988). *Dasar-dasar mikrobiologi*. Universitas Indonesia.
- Rahmah, N. L., Wahdianto, R. W., & Hidayat, H. (2013). *Pemanfaatan Limbah Baglog Jamur Tiram dan Kotoran Kambing Sebagai Bahan Pembuatan Pupuk Kompos Berdasarkan Kajian Konsep LCA dan Analisis Pembalihan*.
- Saputri, R. A., Widyorini, N., & Pursetyo, K. T. (2017). Identifikasi dan kelimpahan bakteri pada jenis *Acropora* sp. Di reef flat terumbu karang pulau panjang jepara Identification and Abundance of Bacteria In *Acropora* sp. at Coral Reef Flat Panjang Island Jepara. *SANSEK PERIKANAN: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 12(1), 27-39.
- Setiarto, R., & Sukirno, I. (2013). Seleksi Dan Karakterisasi Mikroba Lignolitik Yang Diisolasi Dari Limbah Serbuk Gergaji Sebagai Media Tanam Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*). *Berita Biologi*, 12(1), 19-27.
- Sinatryani, D., Sudarmo, M. A. A., & Pursetyo, K. T. (2019). Kelimpahan Bakteri Selulolitik di Muara Sungai Gunung Anyar Surabaya dan Bancaran Bangkalan [The Total of Cellulolytic Bacteria in Gunung Anyar Surabaya and Bancaran Bangkalan Estuaries]. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 6(2), 143-148.
- Sri Harti, A. (2015). Mikrobiologi Kesehatan. *Yogyakarta: Andi Offset. Halaman, 25*.