



## **IDENTIFIKASI BAKTERI RUMEN SAPI PENGHASIL ENZIM SELULASE**

### **IDENTIFICATION OF CATTLE RUMEN BACTERIA PRODUCING CELLULASE ENZYMES**

**Salsha Alztara<sup>1\*</sup>, Endang Sulistyarini Gultom<sup>2</sup>**

*\*) Corresponding Author*

<sup>1,2</sup>Universitas Negri Medan

\*Email: [Salsha.alztara05@gmail.com](mailto:Salsha.alztara05@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri rumen sapi yang berpotensi menghasilkan enzim selulase. Sampel diambil dari cairan rumen sapi di Rumah Potong Hewan Kampung Lalang, Medan. Penelitian dilakukan dengan metode eksploratif deskriptif melalui tahapan isolasi, pemurnian, pengujian aktivitas selulolitik, serta identifikasi makroskopik, mikroskopik, dan indentifikasi menggunakan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan terdapat lima isolat bakteri yang memiliki karakteristik morfologi berbeda, seluruh isolat merupakan bakteri Gram positif berbentuk *coccus*. Aktivitas enzim selulase diuji berdasarkan indeks zona bening pada media CMC dengan larutan Congo red. Ditemukan bahwa dua isolat memiliki aktivitas selulolitik tinggi ( $IS \geq 2$ ), sementara dua lainnya rendah ( $IS < 1$ ). Berdasarkan uji biokimia dan analisis data, seluruh isolat diidentifikasi termasuk dalam genus *Micrococcus*. Hasil ini menunjukkan potensi besar mikroorganisme rumen sapi sebagai sumber enzim selulase yang bermanfaat untuk aplikasi industri bioteknologi dan pengelolaan limbah organik.

**Kata Kunci:** Bakteri Selulolitik, Enzim Selulase, Isolasi, *Micrococcus*, Rumen Sapi.

#### **ABSTRACT**

This study aimed to identify rumen bacteria from cattle with the potential to produce cellulase enzymes. Samples were collected from cattle rumen fluid at the Kampung Lalang Slaughterhouse in Medan. The research employed a descriptive exploratory method, which included stages of isolation, purification, cellulolytic activity testing, and identification through macroscopic and microscopic observations, as well as biochemical tests. The results showed that five bacterial isolates were obtained, each with distinct morphological characteristics. All isolates were Gram-positive cocci. Cellulase activity was evaluated based on the clear zone index on CMC (Carboxymethyl Cellulose) media using Congo red staining. Two isolates demonstrated high cellulolytic activity ( $IS \geq 2$ ), while the other two showed low activity ( $IS < 1$ ). Based on biochemical tests and data analysis, all isolates were identified as belonging to the genus *Micrococcus*. These findings indicate that rumen microorganisms from cattle have great potential as a source of cellulase enzymes, which can be utilized in biotechnology industries and organic waste management.

**Keywords:** Cattle Rumen, Cellulolytic Bacteria, Cellulase Enzyme, Isolation, *Micrococcus*

#### **PENDAHULUAN**

Rumen merupakan bagian penting dari sistem pencernaan hewan ruminansia yang berfungsi sebagai tempat fermentasi serat oleh mikroorganisme anaerob. Cairan rumen mengandung biomassa mikroba yang melimpah, terutama bakteri, protozoa, dan sebagian kecil jamur, yang berperan dalam degradasi selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana melalui

enzim selulase. Enzim ini berfungsi sebagai katalis biokimia untuk memecah ikatan glikosidik (1-4) dalam selulosa, menghasilkan glukosa yang dapat dimanfaatkan oleh inangnya.

Meskipun produksi cairan rumen di Indonesia sangat tinggi, sebagian besar belum dimanfaatkan secara optimal dan hanya dibuang sebagai limbah. Padahal, cairan rumen memiliki potensi sebagai sumber mikroorganisme penghasil enzim selulase yang dapat diaplikasikan secara luas dalam berbagai sektor, seperti industri kertas, tekstil, bioenergi, serta pengolahan limbah organik. Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang hijau dan subur dimana tumbuh beranekaragaman tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dalam semua aspek kehidupan manusia dan hewan terutama dalam bahan aktif pada obat-obatan (Sriwati et al., 2019). Keberagaman pengetahuan tersebut adalah salah satu aset budaya bangsa Indonesia yang perlu dijaga (Jayanti et al., 2024).

Cairan rumen sapi memiliki potensi besar sebagai biostarter dalam proses fermentasi anaerob karena mengandung bakteri selulolitik dan metanogenik. Bakteri selulolitik berperan dalam menguraikan bahan organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, yang selanjutnya digunakan sebagai substrat oleh bakteri metanogenik. Penelitian oleh Gamayanti (2011) menunjukkan bahwa penambahan cairan rumen dapat meningkatkan produksi biogas secara signifikan, yakni mencapai 119,36 mL, dibandingkan dengan 91,15 mL pada perlakuan tanpa cairan rumen. Peningkatan ini dikaitkan dengan keberadaan bakteri perombak serat kasar dalam cairan rumen. Temuan serupa dilaporkan oleh Prihantoro et al. (2012), yang mengidentifikasi adanya bakteri selulolitik dalam cairan rumen.

Selain meningkatkan volume biogas, penambahan cairan rumen juga mempercepat waktu pencapaian produksi maksimum gas metana dibandingkan dengan sistem tanpa suplemen rumen. Budiyo et al. (2010) turut mendukung temuan ini, di mana penggunaan campuran kotoran sapi dan cairan rumen dalam sistem biodigester mode batch menghasilkan produksi biogas dua hingga tiga kali lipat lebih tinggi daripada campuran kotoran sapi dengan air pada rasio yang sama. (Ningsih, 2014).

Pada rumen sapi menghasilkan bakteri selulolitik yang merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu memproduksi selulase dan menghidrolisis selulosa menjadi produk lebih sederhana, yaitu glukosa (Murtiyaningsih & Hazmi 2017). Bakteri selulolitik dapat dijumpai pada bahan-bahan yang kaya akan selulosa, yaitu bahan organik seperti bagian-bagian tumbuhan yang melapuk. Jannah et al. (2017) menjelaskan terdapat beberapa genus bakteri yang dilaporkan memiliki aktivitas selulolitik, yaitu *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Cytophaga*, *Cellivibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Polangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Clostridium*,

*Cellulomonas, Micrococcus, Bacillus, Thermonospora, Ruminococcus, Bacteroides, Acetivibrio, Misrobispora, dan Streptomyces.*

Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang dapat menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa (Nurrochman, 2015). Glukosa tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi dan karbon bagi pertumbuhan organisme ini. Bakteri selulolitik mensintesis seperangkat enzim yang dapat menghidrolisis selulosa. Mikroba mensintesis enzim selulase selama tumbuh pada media selulase. Enzim selulase kasar pada isolat bakteri selulolitik termasuk enzim ekstraseluler, sehingga dapat diekstrak dengan cara disentrifugasi. Fungsi utama enzim ekstraseluler adalah mengubah nutrisi di sekitar agar masuk ke dalam sel sebagai energi untuk pertumbuhan sel. Bakteri selulolitik menarik untuk dilakukan eksplorasi karena laju pertumbuhannya yang cepat, kompleksitas enzim dan variabilitas habitat yang mendukung (Nababan, 2019).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberagaman isolat bakteri dari cairan rumen sapi yang berpotensi menghasilkan enzim selulase. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memperkaya koleksi mikroorganisme lokal dan menjadi dasar pemanfaatan lebih lanjut dalam bidang bioteknologi.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Negeri Medan pada Januari hingga Juli 2025. Penelitian bersifat deskriptif eksperimental dengan melakukan isolasi bakteri dari cairan rumen sapi, serta pengujian aktivitas enzim selulase dari isolat yang diperoleh. Sampel berupa cairan rumen diambil dari sisa pemotongan sapi di Rumah Potong Hewan (RPH) Kampung Lalang, Medan Sunggal, Kabupaten Deli Serdang. Alat yang digunakan meliputi peralatan mikrobiologi dasar seperti ice box, autoklaf, Erlenmeyer 1000ml, gelas ukur 500ml, pipet tetes, timbangan analitik, pisau, petridish, jarum ose, pinset, bunsen, inkubator, lemari pendingin, *laminar air flow*, autoklaf, kertas label, plastik *wrap*, aluminium foil, tisu, mikroskop cahaya, kaca objek, kertas Koran. Bahan penelitian meliputi isi cairan Rumen Sapi, akuades, spiritus, NaCl 1M, alkohol 70%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaCl 0,9% steril, *Congro red* 0,1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, NaCl, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, agar, CMC (*Carboxymethyl Cellulose*), media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), media SIM (*Sulfid Indol Motility*), safranin, iodin, *crystal violet*, lugol.

### Pengambilan Sampel Cairan Rumen Sapi

Sampel cairan rumen sapi diambil dari sapi yang baru saja dipotong di Rumah Potong Hewan (RPH) Kampung Lalang. Sampel diambil dari sapi pedaging berjenis sapi Brahman *Bos taurus indicus* dengan jenis kelamin jantan/betina. Cairan rumen sapi ditampung

menggunakan botol kaca steril dan disimpan di dalam cooler box berisi es batu agar tetap steril, kemudian dibawa ke laboratorium untuk diteliti.



**Gambar 1.** Isi Rumen Sapi (Dokumentasi Pribadi)

### **Pembuatan Media CMC**

Pembuatan media CMC terdiri dari 1,36 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 gr  $(\text{NH}_4)\text{Cl}$ , 0,2 gr  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1 gr yeast ekstrak, 0,01 gr  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2 gr NaCl, 5 gr CMC, 15 gr agar dalam 1000 ml akuades, kemudian dicampurkan kedalam erlenmeyer. Selanjutnya, dipanaskan diatas hotplate hingga mendidih. Disterilkan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  tekanan 2 atm.

### **Pengenceran Sampel**

Sampel rumen sapi ditimbang seberat 1 gr, dan dihomogenisasi dalam 9 ml larutan 0,9% NaCl steril menghasilkan  $10^{-1}$  menggunakan vortex, kemudian melakukan pengulangan dengan mengambil 1ml cairan dari  $10^{-1}$  dan dihomogenisasi dalam 9 ml larutan 0,9% NaCl steril menghasilkan  $10^{-2}$  begitupun selanjutnya dilakukan pengenceran sampai menghasilkan pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$

### **Isolasi Bakteri**

Isolasi bakteri cairan rumen sapi dilakukan dengan cara metode *pour plate* dengan menggunakan media CMC pada pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  dihomogenkan memutar searah angka 8. Selanjutnya, bakteri diinkubasi selama  $\pm 48$  jam dengan suhu  $30^\circ\text{C}$  (Fauziah & Ibrahim, 2020).

### **Pemurnian Isolat**

Pemurnian isolat dilakukan dengan menggunakan metode gores sinambung yaitu memindahkan koloni yang tumbuh secara terpisah dan berbeda fisik dengan jarum ose pada media CMC padat, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu  $30^\circ\text{C}$ .

## Identifikasi Bakteri Selulolitik

### Pengamatan Makroskopik

Isolat bakteri endofit yang telah murni diidentifikasi secara makroskopik, dilakukan dengan mengamati morfologi dan pertumbuhan koloni. Pengamatan yang dilakukan meliputi warna koloni, bentuk koloni, bentuk tepi dan bentuk permukaan.

### Pengamatan Mikroskopik

Karakterisasi mikroskopik dilakukan pengamatan dengan metode pewarnaan Gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan cara membersihkan kaca objek menggunakan alkohol 95% yang kemudian difiksasi dengan api bunsen lalu ditunggu hingga dingin. Isolat bakteri diambil secara aseptik sebanyak satu jarum vial yang ditebarkan secara merata pada permukaan kaca objek yang kemudian difiksasi diatas api bunsen dengan cara dilewatkan diatas api sebanyak 3 kali. Kaca objek ditetesi kristal violet hingga semua preparat tertutup dan didiamkan 30-60 detik pada suhu kamar. Cuci preparat menggunakan aquades selama 5 detik. Setelah dilakukan pencucian preparat ditetaskan dengan larutan Lugol dan dibiarkan selama 1-2 menit pada suhu kamar lalu dibilas dengan aquades selama 5 detik. Kemudian meneteskan alkohol 95% pada kaca objek setelah itu dibilas kembali dengan aquades selama 5 detik. Selanjutnya safranin ditetaskan pada kaca objek dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas kembali dengan aquades selama 5 detik dan diangin-anginkan hingga kering. Setelah itu dilakukan pengamatan dengan mikroskop (Rahmatullah, dkk, 2021).

### Uji Biokimia

Kemudian Isolat di uji dengan uji biokimia untuk mendapatkan fisiologi pada bakteri. fisiologi meliputi uji katalase, TSIA, dan SIM. Identifikasi dilakukan hingga tingkat genus dengan cara mencocokkan hasil karakterisasi dengan buku *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Seventh Edition* tahun 1957.

### Uji Aktivitas Selulolitik

Menurut Ulfa *et al.* (2014), aktivitas bakteri selulolitik dilakukan dengan cara satu loop bakteri digoreskan pada media CMC membentuk lingkaran. Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup>C selama 24 jam dan ditetesi larutan *congo red* 0,1% hingga menutupi permukaan media kemudian dibilas dengan NaCl 1 M. Pembuatan larutan *congo red* 0,1% yaitu sebanyak 0,1 gr terlarut didalam akuades 100 ml (Waling *et al.*, 2021). Zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni bakteri diamati dengan jangka sorong dan di catat indeks selulolitik (IS).

Menurut Choi *et al.*, (2005) kategori nilai IS yaitu kategori rendah ( $\leq 1$ ), sedang (1-2), dan tinggi ( $\geq 2$ ). Adapun rumus yang digunakan untuk menghitung IS yaitu:

$$\text{Indeks Aktivitas Enzim} : \frac{\text{Diameter Zona Bening} - \text{Diameter Koloni}}{\text{Diameter Koloni}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

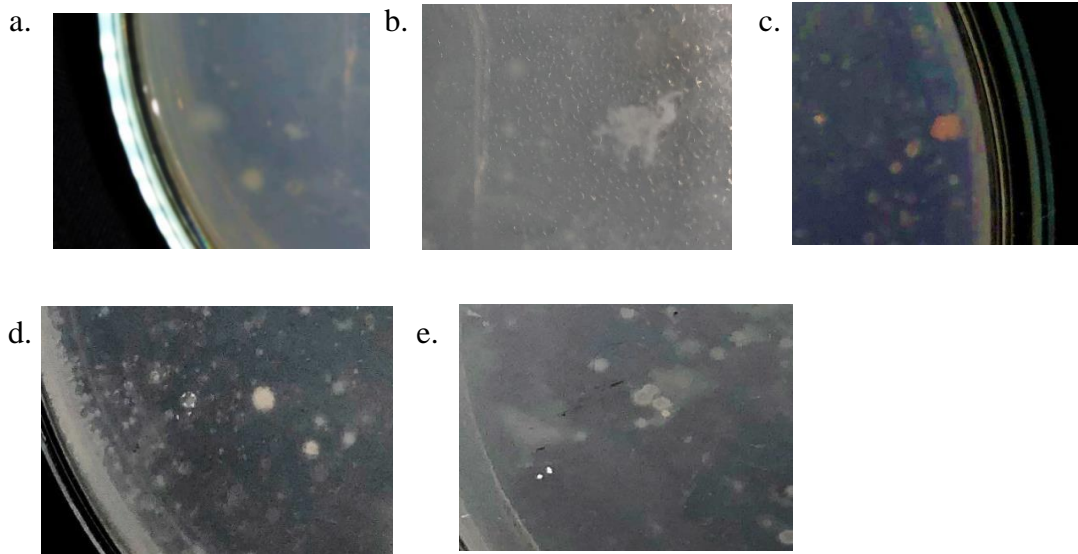
### Karakteristik Makroskopik

Berdasarkan hasil isolasi dan pemurnian bakteri selulolitik yang diisolasi dari cairan rumen sapi yang di ambil dari RPH Tani Asli, Kp. Lalang, Kec. Sunggal sebanyak lima koloni yang tumbuh disekitar sampel pada beberapa cawan petri dengan mengamati morfologi bentuk, tepian, elevasi dan warna yang berbeda. Kelima koloni tersebut dapat dilihat pada Gambar 1. Banyaknya koloni yang didapat berbeda dengan penelitian terdahulu. Adapun Hasil pengamatan makroskopik kelima isolat cairan rumen sapi disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Pengamatan Makroskopik Koloni Isolat Cairan Rumen Sapi

Kode Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
E1	Bulat	Licin	Timbul	Putih
E2	Tak Beraturan	Berlekuk	Timbul	Putih
E3	Tak Beraturan	Licin	Timbul	Merah Muda
E4	Tak Beraturan	Berlekuk	Timbul	Putih
E5	Bulat	Licin	Timbul	Putih

Berdasarkan Tabel 1. diperoleh makroskopik dengan morfologi isolat sebagai berikut yaitu terdapat 2 isloat dengan morfologi sama dengan bentuk tak beraturan, berlekuk, timbul, dan berwarna putih, 2 isolat berbentuk bulat, bertepian licin, elevasi timbul, dan berwarna putih, dan 1 isolat berbentuk tak beraturan, licin, berlevasi timbul, dan berwarna pekat yaitu berwarna merah muda. Perbedaan karakteristik dari tiap-tiap isolat endofit dikarenakan ekspresi gen yang berasal dari jenis yang berbeda-beda (Fakruddin, dkk., 2013).



**Gambar 1.** Koloni bakteri yang berhasil di isolasi (a. Isolat E1; b. Isolat E2; c. Isolat E3; d. Isolat E4; e. Isolat E5)

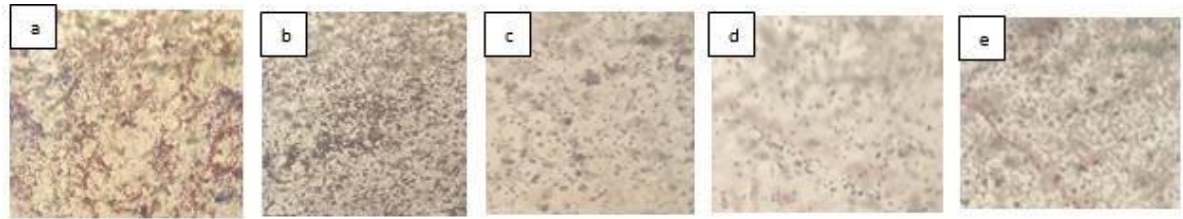
### Karakteristik Mikroskopik

Berdasarkan Tabel 2. diketahui bahwa isolat bakteri E1 sampai E5 berbentuk *Coccus*. Kelima isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari cairan rumen sapi merupakan bakteri gram positif yang ditandai dengan sel warna ungu.

**Tabel 2.** Karakteristik Mikroskopik Isolat Pada Cairan Rumen Sapi

Kode Isolat	Bentuk Sel	Warna	Gram
<b>E1</b>	<i>Coccus</i>	Ungu	Postif
<b>E2</b>	<i>Coccus</i>	Ungu	Postif
<b>E3</b>	<i>Coccus</i>	Ungu	Postif
<b>E4</b>	<i>Coccus</i>	Ungu	Postif
<b>E5</b>	<i>Coccus</i>	Ungu	Postif

Hasil pewarnaan gram bergantung pada reaksi dinding sel bakteri terhadap zat warna yang diberikan. Bakteri gram positif berwarna ungu meskipun dibilas alkohol, sedangkan bakteri gram negatif melepas kompleks tersebut sewaktu pemberian alkohol dan menyerap zat warna kedua (safranin) yang berwarna merah (Fatimawali, 2013). Selain itu Putri *et al.*, (2017) menyatakan bahwa gram positif memiliki 50% dinding sel terdiri atas lapisan-lapisan peptidoglikan dari bahan dinding selnya.



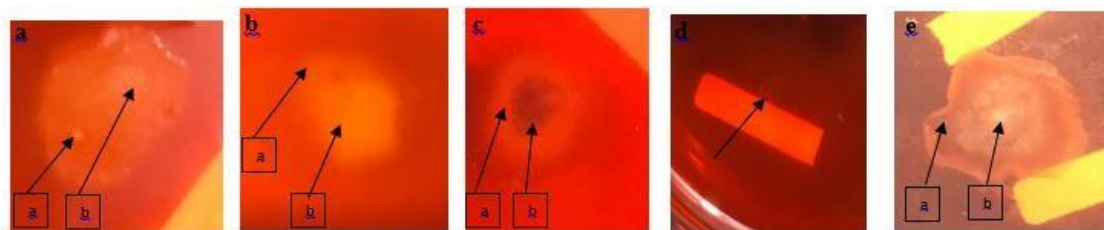
**Gambar 2.** Hasil pewarnaan gram isolat bakteri cairan rumen sapi (a. Isolat 1, b. Isolat 2, c. Isolat 3, d. Isoat 4, e. Isolat 5)

### Uji Aktivitas Selulolitik

**Tabel 3.** Indeks Selulolitik Dari Ke Lima Isoat Bakteri Selulolitik

Kode Isolat	Indeks Aktivitas Enzim Selulase
E1	2,3
E2	0,6
E3	3
E4	0
E5	0,8

Aktivitas zona bening tiap isolat bakteri selulolitik menunjukkan adanya perbedaan. Kode isolat (E2, dan E5) merupakan bakteri selulolitik yang meunjukkan indeks rendah, kode isolat (E1 dan E3) adalah bakteri selulolitik yang menunjukkan indeks tinggi dan kode isolat (E4) Tidak ada aktivitas, penyebab tidak ada nya aktivitas dikarenakan kontaminasi. Menurut Choi *et al.*, (2005) kategori nilai Indeks Selulolitik yaitu kategori rendah ( $\leq 1$ ), sedang (1-2), dan tinggi ( $\geq 2$ ) dan 0 Tidak ada aktivitas (Sutari, 2020).



**Gambar 3.** Hasil Uji Aktivitas Selulolitik dari 4 dari isolat bakteri. (a; isolat 1, b; isolat 2, c; isolat 3, d; isolat 4 dan e; isolat SL5.

**Keterangan:** a; diameter zona bening, b; diameter zona koloni)

### Karakteristik Bakteri Selulolitik

Karakteristik bakteri cairan rumen sapi dengan menggunakan uji biokimia untuk mengetahui genus bakteri yang terdapat pada rumen sapi. Uji biokimia yang digunakan adalah uji motilitas, uji TSIA dan uji katalase. Hasil uji biokimia bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.



**Tabel 4.** Hasil Karakteristik Bakteri Cairan Rumen Sapi dengan Uji Biokimia

Kode Isolat	Motilitas	TSIA	Katalase	Genus
E1	+	K/A G+	+	<i>Coccus</i>
E2	+	K/A G+	+	<i>Coccus</i>
E3	+	K/A G+	+	<i>Coccus</i>
E4	+	K/A G+	+	<i>Coccus</i>
E5	+	K/A G+	+	<i>Coccus</i>

Hasil perbandingan identifikasi isolat bakteri yang menghasilkan enzim selulase dengan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, diketahui bahwa isolat bakteri rumen sapi Dari hasil semua isolat yang sudah di uji memiliki bentuk sel *coccus*, katalase positif, TSIA bersifat fermentasi glukosa dengan positif gas, dan motil. Isolat ini memiliki kesamaan dengan genus *Micrococcus*.

## Pembahasan

### Karakteristik Makroskopik

Dari hasil isolasi diperoleh 5 koloni bakteri pada cairan rumen sapi. Banyaknya koloni yang didapat berbeda dengan penelitian terdahulu berhasil mengisolasi bakteri pada cairan rumen sapi. Berdasarkan hasil karakterisasi makroskopik isolat bakteri diketahui bahwa terdapat perbedaan morfologi koloni cairan rumen sapi. Tabel 4.1 yaitu terdapat 2 isolat yang karakteristik makroskopiknya sama dengan bentuk tak beraturan, berlekuk, timbul, dan berwarna putih, 2 isolat berbentuk bulat, bertepian licin, elevasi timbul, dan berwarna putih, dan 1 isolat berbentuk tak beraturan, licin, berlevasi timbul, dan berwarna pekat yaitu berwarna merah muda. Perbedaan karakteristik dari tiap-tiap isolat dikarenakan ekspresi gen yang berasal dari jenis yang berbeda-beda (Fakruddin, 2013).

### Karakteristik Mikroskopik

Pewarnaan gram dilakukan untuk menggolongkan menjadi dua bagian yakni bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu karena kompleks zat berwarna kristal violet tetap terikat pada dinding sel bakteri meskipun dibilas alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah disebabkan kompleks tersebut luntur sewaktu pemberian alkohol dan menyerap zat warna kedua (safranin) yang berwarna merah (Fatimawali, 2013).

Bakteri gram positif mampu mempertahankan warna ungu karena dinding selnya mengalami dehidrasi sehingga ukuran pori-pori sel mengecil dan daya permeabilitasnya

menurun maka zat warna kristal violet terperangkap di dalam sel. Berbeda dengan gram positif, bakteri gram negatif justru tidak mampu mempertahankan warna ungu karena lipid dinding sel akan terekstraksi saat dibilas dengan alkohol 95%, pori-pori sel mengembang dan zat warna kristal violet akan keluar dan sel menyerap warna selanjutnya. Kondisi ini berkorelasi dengan senyawa penyusun dinding sel. Bakteri gram positif mengandung peptidoglikan lebih banyak dan sedikit lemak dibandingkan bakteri gram negatif (Fatimawali, 2013).

### **Kemampuan Uji Aktivitas Selulolitik**

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan sebanyak 4 isolat bakteri selulolitik dari sampel cairan rumen sapi yang di ambil dari RPH Tani Asli, Kp. Lalang, Kec. Sunggal Provinsi Sumatera Utara. Isolat dikatakan positif bakteri selulolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening. Zona bening yang terbentuk setelah pemberian *congo red* 0,1% dan dibilas dengan NaCl 1M disebabkan karena *congo red* 0,1% mewarnai selulosa yang terdapat pada media CMC. Sedangkan selulosa yang telah terdegradasi oleh bakteri selulolitik tidak tewarnai oleh pewarna *congo red* 0,1% dengan begitu terbentuklah zona bening setelah dilakukan pembilasan dengan menggunakan larutan NaCl 1M. Sesuai pernyataan dari Murtiyaningsih dan Hazmi (2017), bahwa media CMC mengandung polisakarida, warna merah setelah pemberian *congo red* 0,1% merupakan selulosa yang tidak terhidrolisis. Zona bening yang terbentuk setelah pencucian menggunakan NaCl 1M dikarenakan *congo red* 0,1% merupakan garam natrium dari *benzidinediazo-bis(1 naphthylamine)-4* asam fenolat larut dalam garam natrium lain, sehingga zona bening terlihat jelas.

### **Karakteristik Bakteri Selulolitik**

Hasil uji biokimia akan menunjukkan apakah bakteri selulolitik yang mampu menghasilkan enzim yang diuji dan seberapa aktif enzim tersebut. Aktivitas enzim yang tinggi menunjukkan potensi besar untuk aplikasi bioteknologi, sementara aktivitas enzim rendah mungkin mengindikasikan bahwa enzim tersebut tidak terlalu penting dalam metabolisme rumen sapi bahwa kondisi inkubasi perlu dioptimalkan ( Habsari, dkk., 2023).

Bakteri yang di uji merujuk pada genus *Micrococcus*. Berdasarkan hasil uji katalase ditemukan gelembung pada semua isolat yang berarti positif. Pada uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar) ditemukan hasil adanya indikasi H<sub>2</sub>S positif yang ditandai dengan adanya warna merah dan kuning serta pada bekas tusukan dan ada gelembung serta terdapat gas pada media TSIA yang menunjukkan hasil positif. Pada Uji Motilitas ditemukan hasil penyebaran bakteri pada media SIM yang mana pada media SIM menunjukkan pertumbuhan disekitar daerah tusukan jarum ose. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat bersifat motil. Hasil Uji karakterisasi dan identifikasi kemudian dicocokkan sesuai dengan buku petunjuk identifikasi menurut Bergey & Cowan (1974).

## SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat keanekaragaman morfologi pada isolat bakteri dari cairan rumen sapi, baik secara makroskopik maupun mikroskopik. Lima isolat berhasil diperoleh, dengan variasi bentuk koloni dan warna. Uji aktivitas enzim selulolitik menunjukkan perbedaan kemampuan antar isolat, di mana SL1 dan SL3 memiliki indeks aktivitas tertinggi, sedangkan SL2 dan SL5 memiliki indeks terendah. Berdasarkan karakteristik yang diamati, isolat diduga termasuk dalam genus *Micrococcus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Breed, R.S., Murray, E.G.D., dan Smith, N.R. 1957. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology* 7<sup>th</sup> Edition. The Williams and Wilkins Company. U.S.A.
- Fakruddin, Md., K.S. Bin Mannan, R.M. MAzumdar, A. Chowdhury, dan Md. N. Hossain. 2013. Identification and Characterization of Microorganisms:DNA-Fingerprinting Methods. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 35(4): 397-404.
- Fatimawali, F. 2013. Daya Reduksi Merkuri Isolat Bakteri Yang Diisolasi Dari Urine Pasien Di Puskesmas Bahu Manado. *PHARMACON*, 2(3).
- Fauziah, S. I., & Ibrahim, M. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Pada Tanah Gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya Kecamatan Pelangiran Kabupaten Inhil, Riau. *Lentera Bio.* 9(3): 194-203.
- Jayanti, D. E., Utomo, P. A., & Usman, A. (2024). Etnobotani: Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati Tumbuhan dalam Upacara Adat Saulak Pernikahan Suku Mandar Kabupaten Banyuwangi. *BIO-CONS:Jurnal Biologi dan Konservasi*, 6(2), 330-342.
- Murtiyaningsih H, Hazmi M. 2017. Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik asal tanah sampah. *Agrotrop* 15(2): 293–308.
- Nababan, M., Wayan, I. B. G., dan Wijaya, I. M. M. 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar Dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, ISSN : 2503488X.
- Ningsih, S.S., Ahda, Y., dan Handayani, D. 2014. Pengaruh Penambahan Beberapa Cairan Rumen Terhadap Produksi Biogas dari Kotoran Sapi. *Biospecies*, Vol. 7 No.2.
- Rahmatullah, W., Novianti, E., & Sari, ADL. 2021. Identification of Airborne Bacteria Using Gram Staining Techniques. *Bhakti Setya Medica Journal of Health Sciences*, Vol, 6(2) : 8391. <https://www.jurnal.poltekkesb>.
- Sriwati, E., & Anitasari, D. S. (2019). Potensi Daun Tembelek (*Lantana camara* L.) untuk sediaan Krim Wajah. *BIO-CONS:Jurnal Biologi dan Konservasi*, 1(2),83-88.
- Yogyaswari, S. A., Rukmi, MG. I., dan Raharjo, B. 2016. Eksplorasi Bakteri Selulolitik Dari Cairan Rumen Sapi Peranakan Fries Holland (PFH) DAN Limousine Peranakan Ongole. *Jurnal Biologi*. Volume 5 No 4.