

## ISOLASI DAN AKTIVITAS BAKTERI SELULOLITIK PADA LIMBAH DIAPERS

Devi Siruwahni<sup>1</sup>, Rasyidah<sup>2</sup>

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara<sup>1,2</sup>  
devisiruwahni11@gmail.com<sup>1</sup>, rasyidah@uinsu.ac.id<sup>2</sup>

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri selulolitik yang berpotensi mendegradasi selulosadengan mengambil sampel limbah diapers skala rumahan. Penelitian ini juga dilakukan untuk mengisolasi dan mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa berdasarkan uji *Congo red* dan uji degradasi kertas filter. Metode penelitian ini adalah deskriptif kualitatif. Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan menggunakan media selektif Carboxymethyl Cellulose (CMC). Karakterisasi dilakukan dengan cara menumbuhkanisolat murni terpilih pada media CMC selanjutnya ditetesi congored untuk menguji potensi selulolitiknya (potensi selulolitik ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar koloni). Hasil penelitian menunjukkan, hasil isolasi bakteri diperoleh 12 isolat yang mampu tumbuh dan memanfaatkan selulosa sebagai sumber karbon. Pada uji *Congo red* isolat DS07 bakteri selulolitik dengan genus *Hafnia* memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi sebesar 2,5 mm. Isolat DS03 dengan genus *Bacillus* memiliki kemampuan tertinggi mendegradasi selulolasa pada uji kertas filter Whatman No. 1 sebesar 16,66%.

**Kata Kunci:** Bakteri, Diapers, Isolasi, Selulolitik

### ABSTRACT

*This study aims to isolate cellulolytic bacteria that have the potential to degrade cellulose by taking home-scale diaper waste samples. This research was also conducted to isolate and determine the ability of bacteria to degrade cellulose based on the Congo red test and filter paper degradation test. This research method is descriptive qualitative. Isolation of cellulolytic bacteria was carried out using selective Carboxymethyl Cellulose (CMC) media. The characterization was carried out by growing selected pure isolates on CMC media and then dropping congored drops to test their cellulolytic potential (cellulolytic potential is indicated by the appearance of a clear zone around the colony). The results showed that the results of isolating bacteria obtained 12 isolates that were able to grow and utilize cellulose as a carbon source. In the Congo red test isolate DS07 cellulolytic bacteria of the Hafnia genus had the highest cellulolytic index value of 2.5 mm. Isolate DS03 with the genus Bacillus had the highest ability to degrade cellulose on the Whatman No. filter paper test. 1 of 16.66%.*

**Keywords:** Bacteria, Diapers, Isolation, Cellulolytic

### PENDAHULUAN

Diapers adalah popok sekali pakai dengan komposisi terbesar berupa serat selulosa halus 23% (Asrianti et al., 2021). Bahan penyerap tinggi yang dimiliki berfungsi menyerap cairan hasil ekskresi pada tubuh bayi seperti kencing dan kotoran padat (Yunus et al., 2019). Departemen Kesehatan (DepKes) Indonesia di tahun 2016 melaporkan usia balita berada diangka sebesar 14.333.515 jiwa.

Apabila seorang bayi menggunakan 6 diapers dalam sehari estimasi ada 86 juta sampah diapers dibuang setiap hari. Survei Marine Plastic Debris (2020) oleh Worldbank dan Kemen Marininvest menyatakan sampah popok sekali pakai menjadipenyumbang sampah terbesar didunia yakni sebesar 21%.

Dalam menanggapi masalah tersebut, salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah memanfaatkan limbah diapers dengan mendaur ulang komponen terbesar diapers yaitu selulosa. Penguraian selulosa bergantung pada kehadiran mikroorganisme pendegradasi selulosa (Ningsih et al., 2014).

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba adalah jenis substrat, medium fermentasi, kondisi fermentasi seperti suhu, pH, agitasi, waktu inkubasi, dan zat tambahan sebagai sumber karbon. Pertumbuhan dan perkembangan mikroba ditandai dengan bertambahnya berat dan jumlah sel (Pangesti et al., 2012). Aktivitas ekstrak kasar enzim selulase tertinggi oleh kedua isolat ada pada fermentasi 20 hari (Dahlana et al., 2014)

Berdasarkan hasil penelitian oleh Arifin et al., (2019), isolasi bakteri selulolitik dari kompos didapatkan 38 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada media CMC dan yang memiliki zona bening hanya 14. Isolat degradasi tertinggi menghasilkan zona bening sebesar 6,76 cm. Isolat yang memiliki zona bening tinggi diambil untuk dilakukan uji filter paperase yang didapatkan hasil tingkat degradasi selulosa pada kertas Whatman no. 1 yaitu dari 10,94 sampai 51,30%, sedangkan untuk uji Motilitas diperoleh semua isolat bersifat motil dan uji katalase didapatkan hasil positif dan uji sitrat diperoleh hasil negative. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan kajian guna mengetahui jenis bakteri selulolitik yang terdapat pada limbah diapers dan untuk mengetahui kemampuan aktivitas bakteri selulolitik hasil isolasi limbah diapers dalam mendegradasi selulosa.

## **METODE PENELITIAN**

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Pengambilan sampel dilaksanakan di Desa Teluk Dusun Balai Gajah Kecamatan Secanggang Kabupaten Langkat. Analisis mikroba di Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Pengambilan sampel menggunakan alat berupa masker, sarung tangan, wadah, timbangan, botol kaca. Proses analisis menggunakan alat berupa mikropipet, tabung reaksi, timbangan analitik, spatula, erlenmeyer, gelas ukur, autoklaf, bunsen, cawan petri, jarum ose lurus, ose cincin, inkubator, hot plate, objek glass, cover glass, batang pengaduk. Bahan yang digunakan yaitu 3 kg hidrogel limbah diapers, akuades, dan media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) yang terbuat dari, *Congo red*, kertas filter, media agar pati, media glatin, media SCA, media karbohidrat (sukrosa, glukosa, dan laktosa), media reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, Sulfide Indole Motili (SIM) Agar, media TSIA, reagen Kovac's, methyl red, kalbol kristal violet, lugol, safranin.

### **Rancangan penelitian**

Jenis penelitian ini yaitu deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui bakteri selulolitik yang ada pada limbah diapers tersebut. Pada

penelitian ini isolasi bakteri selulolitik dari limbah diapers dilakukan dengan menggunakan metode spread plate. Isolat bakteri yang diperoleh kemudian di uji skrining bakteri selulolitik secara kualitatif menghitung Indeks Selulolitik melalui perbandingan diameter koloni bakteri dan diameter zona bening yang dihasilkan dari pewarnaan dengan *cong red*. Karakteristik bakteri selulolitik dilakukan secara makroskopis mengamati morfologi bakteri, secara mikroskopis mengamati pewarnaan gram dan uji biokimia. Uji degradasi kertas filter diamati melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa yang ditunjukkan dengan berkurangnya berat akhir pada kertas (Whatman no.1) atau dari kerusakan kertas filter.

### **Pengambilan limbah diapers**

Sampel diapers diambil dari lingkungan pemukiman yaitu berupa limbah skala rumah tangga. Pengambilan limbah diapers yang telah hancur menyatu dan bentuknya sudah terbagi-bagi kemudian dimasukkan ke dalam wadah toples 3 kg.

### **Sterilisasi**

Sterilisasi dilakukan pada semua alat yang akan digunakan dengan teknik yang sesuai pada jenis dan material alat tersebut. Alat-alat dicuci bersih dengan deterjen dan air, dikeringkan dan dibungkus menggunakan kertas, dimasukkan ke dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 120°C selama 1 jam. Alat yang sifatnya tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan menggunakan alkohol 70 %. Sterilisasi media juga dilakukan mengikuti petunjuk dan menggunakan teknik yang sudah ditentukan.

### **Pembuatan media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)**

Media CMC terbuat dari Agar 1,8 gr; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,05 gr; KNO<sub>3</sub>, 0,075 gr; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,02 g; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,002 gr; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0,004 gr; Glukosa 0,1 gr; ekstra yeast 0,2 gr; CMC 1 gr. dalam 100 ml aquades pada. Setelah itu diaduk dan disterilisasi di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian Pembuatan media selulosa cair sama seperti pembuatan medium selulolitik padat di atas tanpa penambahan agar.

### **Pengenceran**

botol kaca yang berisi sampel diambil menggunakan mikro pipet sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl 0,85 % steril, dan dihomogenkan menggunakan vortex, diperoleh pengenceran 10<sup>-1</sup>. Pengenceran dilakukan hingga seripengenceran 10<sup>-6</sup>.

### **Isolasi Bakteri Selulolitik**

Proses ini dilakukan secara aseptis, hasil pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  ditanamkan dengan metode sebaran (spread plate) pada media padat selektif *Carboximethyl cellulase* (CMC) dengan cara mengambil 1 ml suspensi masing-masing dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media padat CMC. Bakteri diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 30°C.

### **Pemurnian Isolat Bakteri Selulolitik dan Pengamatan Morfologi**

Isolat bakteri yang akan dimurnikan ditentukan dari perwakilan tiap koloni yang memiliki ciri yang berbeda bertujuan untuk mendapatkan koloni tunggal. Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh terpisah dan menunjukkan karakter morfologi yang berbeda dengan cara menginokulasikan isolat pada media NA dengan metode streak kuadran kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C.

Pengamatan morfologi secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati morfologi koloni yang terbentuk dari bakteri, meliputi jumlah koloni, warna, bentuk koloni dan tepi koloni.

### **Uji Skrining Bakteri Selulolitik**

Isolat bakteri dari pemurnian kemudian ditotolkan pada cawan petri berisi media CMC padat. Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 2 x 24 jam. Pengujian aktivitas selulolitik dilakukan dengan metode *Congo red*. Larutan *Congo red* 0,1% dituang pada kultur dan dibiarkan selama 15 menit. Larutan kemudian dibuang dan dibilas dengan NaCl 1 M selama 15 menit sebanyak tiga kali. Pencucian ini bertujuan untuk membuang *Congo red* yang tidak berikatan dengan polisakarida. Indeks aktivitas selulase dapat ditentukan dengan cara mengukurrasio diameter zona bening terhadap diameter koloni.

### **Indeks Selulolitik**

Indeks aktivitas enzim secara semi-kuantitatif diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk.

### **Uji Degradasi Kertas Filter**

Uji degradasi kertas filter dilakukan dengan cara erlenmeyer berisi media cair CMC ditambahkan kertas filter whatman no.1 ( $1 \times 6 \text{ cm}^2 \times 2$ , per 20 mL) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 10 hari pada *shaker* kecepatan 100 rpm, dan dicuci menggunakan aquades, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 103°C selama 3 jam sehingga didapat berat konstan. Hasil dari selisih berat antara kertas sebelum diinkubasi dengan setelah diinkubasi menunjukkan tingkat degradasi selulosa dari isolat yang diuji.

### **Karakterisasi Bakteri Selulolitik**

Pengamatan bakteri dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia. Pengamatan secara makroskopis meliputi pengamatan morfologi koloni bakteri. Pengamatan dilakukan dengan mengamati bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni bakteri yang tumbuh pada media CMC. Pengamatan secara mikroskopis menggunakan pewarnaan gram. Uji biokimia yang dilakukan

meliputi uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji oksidase, uji fermentasi, uji sitrat, uji urea, uji methyl red (MR), uji voges-proskauer (VP).

### Analisis Data

Penelitian ini melakukan analisis data deskriptif kualitatif. Perhitungan indeks selulolitik. Aktivitas bakteri selulolitik dengan melihat variabel penelitian yaitu diarahkan untuk menjawab rumusan masalah.

### HASIL PENELITIAN

Hasil isolasi bakteri selulolitik dari limbah diapers diperoleh 12 isolat murni. Berdasarkan pengamatan, isolat murni tersebut menunjukkan karakteristik morfologi dan fisiologis bakteri pendegradasi selulosa dan indeks selulolitik serta penyusutan berat kering kertas selulosa.

Pada pengamatan secara makroskopis, 12 isolat bakteri selulolitik dari limbah diapers menunjukkan kecenderungan koloni berwarna putih kekuningan, walaupun ada koloni yang berwarna putih bening, kuning, dan ada koloni yang berwarna putih susu. Pengamatan secara uji biokimia isolat bakteri cenderung tergolong ke dalam gram negatif, diantara seluruh isolat hanya 2 isolat bakteri gram positif. Pada uji katalase semua isolat bakteri menunjukkan hasil positif, sedangkan pada uji indol semua isolat bakteri bersifat negatif. Pada uji SIM cenderung bersifat motil dengan 4 isolat bersifat nonmotil. Pada uji TSIA hanya 3 isolat yang memproduksi endapan hitam.

Karakteristik morfologi koloni bakteri selulolitik ditunjukkan pada Tabel 1 sebagai berikut:

**Tabel 1. Karakter Morfologi Koloni Bakteri Selulolitik**

No	Kode isolat	Karakter koloni			
		Bentuk	Margin	Elevasi	Warna
1	DS02	Irregular	Filamentous	Umbonate	Putih kekuningan
2	DS03	Bulat	Entire	Flat	Putih kekuningan
3	DS04	Bulat	Entire	Pulvinate	Putih kekuningan
4	DS05	Irregular	Entire	Pulvinate	Putih bening
5	DS07	Irregular	Undulate	Umbonate	Putih kekuningan
6	DS08	Bulat	Entire	Convex	Putih kekuningan
7	DS09	Bulat	Filamentous	Umbonate	Putih kekuningan
8	DS10	Bulat	Entire	Pulvinate	Kuning
9	DS11	Irregular	Curled	Umbonate	Putih kekuningan
10	DS12	Irregular	Undulate	Raised	Putih susu
11	DS13	Irregular	Undulate	Raised	Putih susu
12	DS14	irregular	Undulate	Flat	Putih susu

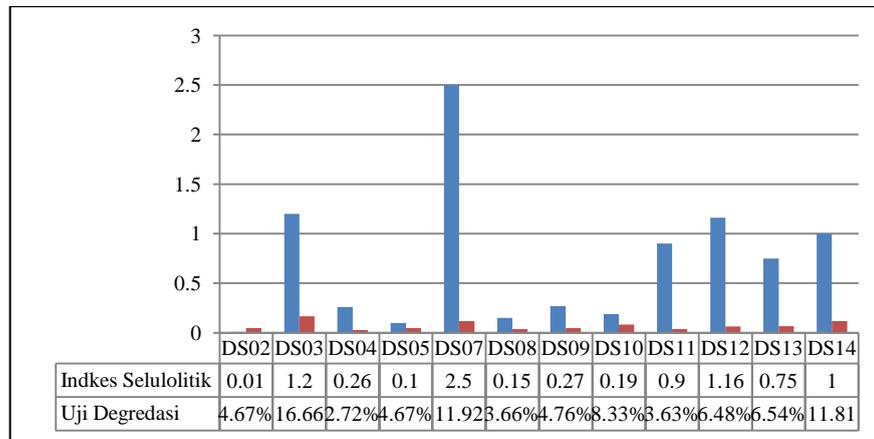
Hasil uji biokimia ditunjukkan pada Tabel 2 sebagai berikut:

**Tabel 2. Uji Biokimia**

Kode Isolat	Bentuk	Gram	Katalase	Pati	Gelatin	TSIA	SCA	SIM	Indol	H <sub>2</sub> S	Genus
DS02	Coccus	-	+	-	-	+/+	+	Motil	-	-	<i>Alcaligenes</i>
DS03	Basill	+	+	+	-	-/+	-	Motil	-	-	<i>Bacillus</i>
DS04	Coccus	-	+	-	+	+/+	+	Motil	-	-	<i>Rahnella</i>

DS05	Basill	-	+	+	-	-/+	-	Motil	-	+	<i>Enterobacter</i>
DS07	Basill	-	+	+	-	-/+	-	Motil	-	-	<i>Hafnia</i>
DS08	Basill	-	+	-	-	-/+	+	Nonmotil	-	-	<i>Klebsiella</i>
DS09	Coccus	-	+	+	-	+/+	+	Motil	-	+	<i>Glucanobacter</i>
DS10	Coccus	-	+	-	-	+/+	+	Motil	-	+	<i>Moroccoccus</i>
DS11	Basill	+	+	-	+	+/+	+	Motil	-	-	<i>Citrobacter</i>
DS12	Basill	-	+	-	-	+/+	-	Nonmotil	-	-	<i>Acinetobacter</i>
DS13	Basill	-	+	+	+	+/+	-	Nonmotil	-	-	<i>Obesumbacterium</i>
DS14	Basill	-	+	+	+	-/-	-	Nonmotil	-	-	<i>Moraxella</i>

Grafik indeks selulolitik dan persentasi uji degradasi bakteri selulolitik limbah diapers ditunjukkan pada Gambar 1 sebagai berikut:



**Gambar 1. Grafik Indeks Selulolitik dan Persentase Uji Degradasi Bakteri Selulolitik Limbah Diapers Terhadap Kertas Filter**

## PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri Selulolitik

Sampel yang digunakan merupakan limbah diapers yang diambil dari satu lokasi yaitu di Desa Teluk Dusun Balai Gajah Kecamatan Secanggang Kabupaten Langkat. Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan didapatkan 12 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada medium selulolitik padat yang mengandung CMC. Kemampuan bakteri selulolitik yang tumbuh pada media spesifik CMC agar, menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu memanfaatkan selulosa sebagai salah satu sumber nutrisi terutama sebagai sumber karbon (Yusnia, 2019).

Dahlana et al., (2014) mengatakan bahwa popok bayi yang sebagian besar mengandung selulosa, selain sebagai penginduksi juga digunakan sebagai sumber karbon utama untuk bakteri selulolitik penghasil enzim selulase. Popok bayi dengan adanya enzim selulase akan terhidrolisis menjadi glukosa dengan memutus ikatan 1,4- glikosidik. Glukosa adalah salah satu senyawa karbohidrat sederhana dan yang paling mudah untuk digunakan sebagai sumber energi oleh mikroorganisme.

Selulase merupakan enzim induktif yang disintesis oleh mikroorganisme selama pertumbuhan pada media yang mengandung selulosa sebagai sumber karbon. Mikroorganisme dan enzim pendegradasi selulosa telah dipelajari dan diaplikasikan untuk proses pengembangan industri tekstil, makanan, dan proses pulp-paper (Munifah, 2021).

Isolat DS07 sebagai isolat dengan nilai IS tertinggi yaitu 2,5 mm dan DS13 sebagai isolat dengan nilai uji degradasi kertas filter tertinggi dengan nilai

16,66%.

Arifin et al., (2019) dalam penelitiannya hasil uji biokimia bakteri yang bersifat motil ditunjukkan dengan adanya kekeruhan yang disebabkan oleh bakteri yang bergerak aktif. Pada uji katalase hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung karena pada bakteri mengandung hidrogen peroksida yang diurai oleh enzim katalase. Pada uji sitrat hasil negatif ditunjukkan dengan warna media SCA yang tetap hijau. Apabila bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru. Identifikasi 12 isolat berpanduan pada buku Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

### ***Alcaligenes***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS02 memiliki kesamaan karakter genus *Alcaligenes*. Secara makroskopis berbentuk irregular, margin atau tepian filamentous, elevasi atau permukaan umbonate dan warna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram negatif berbentuk coccus. Uji biokimia menunjukkan hasil bersifat motil, positif pada uji katalase, sitrat, mampu memfermentasi laktosa, sukrosa, glukosa, disertai terbentuknya gas. Sifat negative pada uji pati, gelatin, dan indol.

### ***Bacillus***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS03 memiliki kesamaan karakter genus *Bacillus*. Secara makroskopis koloni berbentuk bulat, margin entire, elevasi flat dan berwarna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram positif berbentuk basil. Uji biokimia menunjukkan bakteri bersifat motil, positif pada uji katalase dan pati, hanya mampu memfermentasi glukosa. Negatif pada uji gelatin, sitrat, dan indol.

*Bacillus* merupakan organisme yang mampu mendegradasi selulosa secara aerob. Banyaknya isolat *bacillus* yang ditemukandalam sampah karena bakteri ini mampu tumbuh lebih cepat dan jumlah jenis yang tinggi. Disamping itu *bacillus* tersebar di semua tipe habitat terutam pada sampah (Kurniawan, 2018).

Yusrizal et al., (2021) mengatakan bahwa dari beberapa kajian potensi selulolitik bakteri, kelompok *Bacillus* merupakan salah satu kelompok yang paling banyak ditemukan dan memiliki kemampuan selulolitik.

*Bacillus* memiliki kemampuan dalam mendegradasi substrat bermikrofibril kristalin, karena *bacillus* merupakan jenis bakteri kemoorganotrof yaitu bakteri yang menggunakan hasil reduksi dan oksidasi senyawa organik sebagai donor elektron. *Bacillus* mampu mensintesis enzim endo- $\beta$ -glucanase yang dapat menghidrolisis ikatan glikosidik internal untuk mengurangi panjang dari rantai selulosa (Ulfa et al., 2014).

Nofu et al., (2014) menambahkan bahwa *Bacillus* merupakan bakteri penghasil enzim amylase ekstrasululer terbesar. Enzim selulase dan enzim pendegradasi selulosa lainnya seperti xylanase merupakan enzim yang umum ditemukan pada kelompok *Bacillus*

Bakteri *bacillus* dapat menghasilkan enzim ekstrasululer selain selulase yaitu protease untuk menghidrolisis ikatan peptide pada protein menjadi asam amino. Aktivitas spesifik enzim menunjukkan suatu ukuran kemurnian enzim

atau dapat digunakan sebagai indikasi ada tidaknya inhibitor enzim atau repressor sintesis enzim di dalam media produksi enzim. Apabila kadar protein tinggi, tetapi aktivitas spesifik rendah, maka ini menunjukkan selain adanya protein lain, konsentrasi inhibitor dalam media produksi enzim tinggi. Kadar protein tinggi juga dapat diakibatkan karena protein yang terukur masuk protein structural bakteri dan protein yang terkandung dalam medium (Yogyaswari et al., 2016).

### ***Rahnella***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS04 memiliki kesamaan karakter genus *Rahnella*. Secara makroskopis koloni berbentuk bulat, margin entire, elevasi pulvinate dan warna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram negatif sel berbentuk coccus. Pengamatan uji biokimia bakteri bersifat motil, positif pada uji katalase, gelatin, dan sitrat. Bakteri ini mampu memfermentasi laktosa, sukrosa, dan glukosa disertai terbentuknya gas. Negatif pada uji pati dan indol.

### ***Enterobacter***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS05 memiliki kesamaan dengan genus *Enterobacter*. Secara makroskopis koloni berbentuk irregular, margin entire, elevasi pulvinate, dan berwarna putih bening. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram negatif sel berbentuk basil. Uji biokimia bakteri bersifat motil, positif pada uji katalase dan pati. Uji TSIA menunjukkan bakteri hanya mampu memfermentasi glukosa disertai terbentuknya endapan hitam (H<sub>2</sub>S). Negatif pada uji gelatin, sitrat, dan indol.

### ***Hafnia***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS07 memiliki kesamaan dengan karakter genus *Hafnia*. Secara makroskopis koloni berbentuk irregular, margin undulate, elevasi umbonate, dan berwarna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram negative sel berbentuk basil. Uji biokimia bakteri bersifat motil, positif katalase dan pati. Bakteri ini hanya mampu memfermentasi glukosa saja. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian bahwa isolat DS07 memiliki IS 2,5 mm yakni merupakan genus dengan aktivitas enzim selulase yang unggul dibandingkan dengan isolat yang lain.

Murtiyaningsih & Hazmi (2017) menambahkan bahwa *Hafnia* dapat mendegradasi selulosa karena menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang saling bekerjasama. Enzim tersebut akan menghidrolisis ikatan (1,4)- $\beta$ -Dglukosa pada selulosa. Selulosa merupakan polisakarida linier dari satuan glukosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik. Enzim selulase merupakan enzim yang mampu mendegradasi selulosa dengan memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida yang menghasilkan oligosakarida turunan selulosa dan glukosa. Jika bakteri dapat tumbuh pada media tersebut maka dapat diindikasikan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri selulolitik.

Uji biokimia bersifat negative pada uji gelatin, sitrat, dan indol. Genus *hafnia* ditemukan dalam kotoran manusia dan hewan, limbah, tanah, dan air (Parija, 2009). *Hafnia* merupakan bakteri basil gram negatif, non motil, uji indol negatif, uji katalase positif, uji H<sub>2</sub>S positif maupun negatif dengan atau tanpa gas (Bahter et al., 2016).

Hafnia merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil, umumnya bersifat motil pada suhu 30°C, namun dapat juga nonmotil. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob dan katalase positif. Genus ini hanya memiliki satu spesies heterogen, yaitu *Hafnia alvei*. Bakteri ini dapat ditemukan pada feses manusia sehat dan dalam keadaan patologik pada gastroenteritis (Nainggolan & Bodhi, 2018). Janda et al., (2006) juga menambahkan bahwa *Hafnia* biasanya membentuk gas dan lebih aktif bergerak.

Menurut Washington et al., (2006) *Hafnia* ditemukan pada kultur campuran, sulit untuk menganggap signifikansi klinis organisme tersebut. Tidak ada media khusus untuk mengisolasi genus *Hafnia*, namun media yang biasa digunakan untuk mengisolasi *Enterobacter*. Murtiyaningsih & Hazmi (2017), menambahkan bahwa *Enterobacter* adalah genus yang memiliki kemampuan selulolitik.

### ***Klebsiella***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS08 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Klebsiella*. Secara makroskopis koloni bakteri berbentuk bulat, margin entire, elevasi convex, dan berwarna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram negatif sel berbentuk basil. Uji biokimia bakteri bersifat nonmotil, positif pada katalase dan sitrat dan hanya mampu memfermentasi glukosa saja. Uji biokimia bersifat negatif pati, gelatin, dan indol.

### ***Glucanobacter***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS09 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Glucanobacter*. Secara makroskopis koloni bakteri berbentuk bulat, margin filamentous, elevasi umbonate, dan berwarna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk dalam bakteri gram negative sel berbentuk coccus. Uji biokimia bakteri bersifat motil, positif katalase, pati, dan sitrat dan mampu memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa disertai dengan endapan hitam (H<sub>2</sub>S). Negatif pada uji biokimia gelatin dan indol.

### ***Morococcus***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS10 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Morococcus*. Secara makroskopis koloni bakteri berbentuk bulat, margin entire, elevasi pulvinate, dan berwarna kuning. Secara mikroskopis termasuk ke dalam bakteri gram negatif sel berbentuk coccus. Uji biokimia bakteri bersifat motil, positif pada katalase dan uji sitrat, mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa disertai endapan hitam (H<sub>2</sub>S). Negatif pada uji pati, gelatin, dan indol.

### ***Citrobacter***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS11 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Citrobacter*. Secara makroskopis koloni bakteri berbentuk irregular, margin curled, elevasi umbonate, dan berwarna putih kekuningan. Secara mikroskopis termasuk ke dalam bakteri gram positif sel berbentuk basil. Uji biokimia bersifat motil, positif pada katalase, gelatin, dan sitrat dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa. Negatif pada pati dan indol.

### ***Acinetobacter***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS12 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Acinetobacter*. Secara makroskopis koloni bakteri berbentuk irregular, margin undulate, elevasi raised, dan berwarna putih susu. Pengamatan secara mikroskopis termasuk ke dalam bakteri gram negatif sel bakteri berbentuk basil. Uji biokimia bersifat nonmotil, positif pada katalase, mampu memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa. Hasil uji biokimia negative pada pati, gelatin negatif, sitrat negatif, dan indol negatif.

### ***Obesumbacterium***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS13 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Obesumbacterium*. Secara makroskopis koloni bakteri berbentuk irregular, margin undulate, elevasi raised, dan berwarna putih susu. Pengamatan secara mikroskopis bakteri ini adalah bakteri gram negatif sel berbentuk basil. Pengamatan secara biokimia menunjukkan bakteri ini bersifat nonmotil, katalase positif, pati positif, gelatin positif, dan mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Bakteri bersifat negatif pada uji sitrat dan indol.

### ***Moraxella***

Berdasarkan hasil pengamatan isolat DS14 memiliki kesamaan karakter dengan genus *Moraxella*. Pengamatan secara makroskopis koloni bakteri berbentuk irregular, margin undulate, elevasi flat, dan berwarna putih susu. Pengamatan secara mikroskopis bakteri ini adalah bakteri gram negatif dengan sel berbentuk basil. Uji biokimia menunjukkan bakteri ini bersifat nonmotil, positif pada uji katalase, pati, dan gelatin. Bakteri ini bersifat sitrat negatif dan indol negatif.

Menurut Hidayatulloh et al., (2022) bakteri gram positif ditandai dengan morfologi bakteri yang berwarna ungu setelah diberikan zat pewarna. Bakteri gram negative merupakan bakteri yang kehilangan kompleks ungu Kristal pada waktu pembilasan dengan alcohol, namun kemudian terwarnai dengan pewarna tandingan yaitu safranin sehingga sel-sel tampak berwarna merah muda pada akhir pewarnaan. Struktur dinding sel pada isolat bakteri merupakan dasar yang membedakan hasil akhir pewarnaan gram.

Mairizal et al., (2021) mengatakan bahwa perbedaan warna antara bakteri gram positif dan bakteri gram negative disebabkan perbedaan pada struktur, komposisi dinding sel bakteri, dan perbedaan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri. Kompleks ungu kristal-iodium, yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan, dapat diekstraksi, oleh sebab itu organisme gram negative kehilangan warna tersebut maka terbentuk warna merah pada media. Kandungan lipid yang lebih rendah sehingga dinding sel bakteri gram positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan etanol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks ungu Kristal-iodium tidak dapat terekstraksi.

Menurut Lubis et al., (2015) bakteri gram positif mempunyai dinding sel yang tebal, yaitu sekitar 15-80nm, dan berlapis tunggal dengan komposisi peptidoglikan yang tebal dan lipid yang tipis. Khulud et al., (2020) menambahkan bakteri patogen di alam umumnya merupakan bakteri gram negatif meski demikian bakteri gram positif juga tidak menjamin tidak bersifat

pathogen. Terdapat beberapa jenis bakteri pathogen yang memiliki sifat gram positif.

Pada pengujian motilitas didapatkan hasil bakteri yang bersifat motil ditunjukkan dengan adanya kekeruhan yang disebabkan oleh bakteri yang bersifat aktif. Pada uji katalase didapatkan hasil yang positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung karena pada bakteri mengandung hydrogen peroksida yang diurai oleh enzim katalase. Pada uji sitrat hasil negatif ditunjukkan dengan warna yang tetap hijau, hasil positif ditunjukkan dengan berubahnya warna menjadi biru karena bakteri menggunakan sitrat sebagai karbon (Arifin et al., 2019).

Ulfa et al., (2014) dalam penelitiannya karakteristik pengujian indol menunjukkan hasil negative untuk setiap isolat, dikarenakan isolat bakteri tidak menghasilkan enzim triptofamase yang berfungsi menghidrolisis asam amino triptofan yang terdapat pada media indol. Hasil sebaliknya terjadi pada pengujian katalase, tiap isolat bakteri menunjukkan hasil positif. Isolat bakteri seleksi memiliki kemampuan dalam mensintesis enzim katalase disamping enzim selulase. Tiap isolat bakteri tersebut sebagai katalis pengurai hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan oksigen ditandai dengan terbentuknya gelembung udara.

Uji gelatin digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis gelatin menjadi asam amino dengan menghasilkan enzim gelatinase (Fauziah & Ibrahim, 2020).

Pada uji TSIA hasil merah pada keseluruhan media menunjukkan basa dan tidak terjadi fermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa. bagian merah pada bagian slant dan kuning pada bagian butt yang menunjukkan terjadinya reaksi alkali pada bagian slant dan reaksi asam pada media butt. Hal ini menunjukkan hanya terjadi reaksi fermentasi glukosa saja. Begitu pula pada isolat yang berwarna kuning pada keseluruhan media menunjukkan reaksi asam dan terjadi fermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa (Fauziah & Ibrahim, 2020).

### **Uji Indeks Selulolitik**

Uji indeks selulolitik pada seluruh isolat yang memiliki bentuk dan warna koloni yang berbeda menggunakan *Congo red* untuk memperjelas zona bening yang dihasilkan. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa IS (Indeks Selulolitik), dari ke 12 isolat tersebut didapatkan tingkat tertinggi pada isolat DS07 yang menghasilkan zona bening sebesar 2,5 mm, hal ini sejalan dapat diartikan bahwa isolat DS07 mempunyai kemampuan aktivitas enzim selulolitik yang lebih unggul dibandingkan dengan isolat yang lain. Zona bening yang dihasilkan disebabkan oleh reaksi natrium benzenediazo-bis-1-naftilamin-4-sulfonat (*Congo red*) yang berinteraksi kuat dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik dalam CMC.

Kemampuan hidrolisis terhadap selulosa karena bakteri memiliki enzim selulase yang dapat memutus ikatan glikosidik  $\beta$ -1,4 pada selulosa. Enzim selulase terdiri dari tiga jenis yaitu endoglukanase yang memecah ikatan glikosidik internal selulosa menjadi selodekstrin, enzim eksoglukanase memecah selodekstrin menjadi disakarida selobiosa, kemudian menjadi selobiose memecah substrat selobiosa menjadi glukosa. Selulosa yang belum terhidrolisis pada media um terlihat berwarna merah karena adanya reaksi antara *Congo red* dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik yang terkandung dalam polimer selulosa. Sedangkan selulosa yang terhidrolisis menghasilkan zona bening karena tidak

terjadi ikatan *Congo red* dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik selulosa (Firdausi et al., 2015).

Enzim selulase merupakan enzim yang mampu mendegradasi selulosa dengan memutuskan ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida yang menghasilkan oligosakarida turunan selulosa dan glukosa. Enzim ini diklasifikasikan menjadi 3 kelompok tergantung spesifitas dalam menghidrolisis selulosa, yaitu endo-1,4-  $\beta$  -glukanase (CMCase), ekso-1,4-  $\beta$  -glukanase dan  $\beta$  -D-glukosidae (Murtiyaningsih et al., 2017).

Dewi et al., (2020) mengatakan bahwa daya degradasi selulosa diklasifikasikan berdasarkan nilai indeks selulolitik dengan kategori rendah apabila  $\leq 1$ , sedang antara 1 sampai 2 dan tinggi apabila  $> 2$ .

Zona bening menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang dieksekresikan oleh isolat-isolat bakteri dengan diameter tertentu. Produk hidrolisis tersebut berupa gula sederhana monosakarida dan tidak terjadi ikatan kompleks dengan *Congo red*. *Congo red* akan berikatan secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida, polisakarida yang terkandung dalam media adalah CMC. Sedangkan warna merah menunjukkan sisa selulosa yang tidak terhidrolisis sehingga terjadi pembentukan selulosa *Congo red*. Zona bening yang berbentuk dapat dilihat dengan jelas melalui pencucian menggunakan NaCl 1 M. *Congo red* merupakan garam natrium dari benzidinediazo-bis-1 naphthylamine-4 asam sulfonat (C<sub>32</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S<sub>2</sub>) sehingga pewarna ini akan larut dan tercuci oleh garam natrium lain, seperti NaCl. Dengan demikian, zona bening yang terbentuk akan terlihat jelas (Murtiyaningsih et al., 2017).

Suhu et al., (2019) dalam penelitiannya pembilasan dengan NaCl akan melunturkan congored terutama di daerah sekitar koloni yang mengandung turunan selulase yang terhidrolisis seperti selodekstrin, selobiosa dan glukosa karena congored tidak terikat secara kuat sehingga terlihat zona bening. Aktivitas CMC-ase koloni bakteri selulolitik pada media agar CMC membentuk zona bening disekitar koloni. Umumnya bakteri yang diketahui dapat menghasilkan xilanase.

Perbedaan aktivitas enzim selulase dari 12 isolat dapat terjadi karena setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda tergantung yang dimiliki. Bakteri selulolitik memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi substrat karena dipengaruhi oleh gen penyusunnya. Gen merupakan fragmen DNA yang memiliki urutan basa tertentu yang dipengaruhi oleh sintesis protein, sehingga beberapa protein enzim selulase yang dihasilkan dari genus yang sama bias memiliki aktivitas enzim yang berbeda apalagi dengan bakteri yang berbeda genus (Dahlana et al., 2014).

Indeks selulolitik menunjukkan besarnya indeks selulase pada isolat diikuti pula besarnya aktifitas selulolitik yang dihasilkan (Fahrudin, 2020). Nilai Indeks Selulolitik (IS) yang berbeda dikarenakan perbedaan kemampuan masing-masing bakteri tersebut dalam mensintesis enzim selulase (Suprayatna et al., 2012).

### **Uji Degradasi Kertas Filter**

Pengujian kemampuan isolat dalam mendegradasi selulosa yaitu menggunakan medium selulolitik cair dan kertas filter (Whatman No. 1). Pengujian dilakukan pada 12 isolat. Hasil analisis tingkat degradasi selulosa dapat

dilihat pada Gambar 2.

Isolat bakteri selulolitik yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi selulosa ditunjukkan dengan berkurangnya berat akhir pada kertas (Whatman no. 1) atau dari kerusakan kertas filter, semakin tinggi selisih antara berat awal dan berat akhir kertas filter maka semakin tinggi degradasi yang terjadi (Arifin et al., 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil tingkat degradasi selulosa pada kertas (Whatman no. 1) rasio 3,63% sampai 16,66%. Kemampuan degradasi tertinggi ada pada isolat DS13 sebesar 16,66% hal ini sejalan dengan hasil uji IS *Bacillus* 1,3 mm dapat diartikan bahwa genus ini memiliki kemampuan aktivitas enzim selulase yang baik.

Yusnia et al., (2019) mengatakan bahwa besarnya zona bening di sekitar koloni pada medium padat dengan kemampuan organisme tersebut dalam mendegradasi selulosa kristalin pada media cair berbeda disebabkan karena perbedaan kecepatan pertumbuhan setiap isolat pada medium padat dan cair. Selain itu, setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan.

Perbedaan kemampuan setiap isolat dalam mendegradasi selulosa dipengaruhi oleh kemampuan setiap isolat bakteri dalam mensintesis enzim selulase. Selulase sebagai enzim ekstraseluler pada bakteri umumnya berfungsi memproduksi nutrisi dari polimer-polimer yang terdapat pada substrat yang mengandung selulosa. Jenis bakteri tertentu akan menghasilkan partikel yang disebut selulosom. Partikel ini akan terdisintegrasi menjadi enzim-enzim, yang secara sinergis mendegradasi selulosa. Tidak semua bakteri mampu mensintesis tiga jenis kompleks enzim selulase yang digunakan dalam pemutusan ikatan-ikatan penyusun senyawa selulosa. Hal ini yang mempengaruhi kemampuan tiap bakteri selulosa dalam mendegradasi selulosa khususnya mikrofibril penyusun serat selulosa (Ulfa et al., 2014).

## **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil isolasi dan aktivitas bakteri selulolitik pada limbah diapers mengandung bakteri selulolitik yang dapat tumbuh pada medium selulolitik padat yang mengandung CMC. Isolat bakteri berhasil diisolasi dari sampel tersebut, menunjukkan kemampuan untuk tumbuh pada media CMC, serta membuktikan bahwa bakteri-bakteri ini dapat memanfaatkan selulosa sebagai sumber nutrisi, terutama sebagai sumber karbon.

Indeks selulolitik tertinggi dimiliki isolate DS07, mengindikasikan bahwa isolat tersebut memiliki aktivitas enzim selulase yang lebih unggul dibandingkan dengan isolat lainnya. Uji degradasi kertas filter membuktikan bahwa beberapa isolat bakteri mampu mendegradasi selulosa dalam kertas (Whatman no. 1) dengan tingkat degradasi yang bervariasi. Isolat DS03 menonjol dengan kemampuan degradasi tertinggi. Perbedaan kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim selulase dan mendegradasi selulosa ternyata dipengaruhi oleh gen penyusunnya, jenis bakteri, dan sumber karbon yang digunakan.

## **DAFTAR PUSTAKA**

Arifin, Z., Gunam, I. B. W., Antara, N. S., & Setiyo, Y. (2019). Isolasi bakteri selulolitik pendegradasi selulosa dari kompos. *Jurnal Rekayasa dan*

- Manajemen Agroindustri*, 7(1), 30-37.  
<https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i01.p04>
- Bahter, J. V., & Kepel, B.J. (2016). Isolasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urin Pasien dengan Tumpatan Amalgam di Puskesmas Tuminting. *eBiomedik*, 4(2), 1-7. <https://doi.org/10.35790/ebm.v4i2.14265>
- Dahlena, M., Dahliaty, A., & Sya, S. D. (2014). Pemanfaatan Selulosa Popok Bayi Sebagai Substrat untuk Produksi Enzim Selulase Pleh Isolat Bakteri S-16 dan S-22 Strain Lokal Riau. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 1(2), 313-318. <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFMIPA/article/view/3619/3512>
- Dewi, Y., Robin, R., Prasetyono, E., & Kurniawan, A. (2020). Aktivitas Selulolitik dan Patogenesitas *Bacillus Cereus*\_TSS4 dari Serasah Daun Mangrove. *Depik*, 9(1), 8-17.
- Firdausi, W., & Zulaika, E. (2015). Potensi *Azotobacter* spp. Sebagai pendegradasi karbohidrat. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4 (4), 15-26.
- Fahrudin, F. (2020). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pendegradasi Selulosa dari Limbah Pusat Industri Mebel Antang Makassar. *Jurnal Serambi Engineering*, 5(2). <https://ojs.serambimekkah.ac.id/jse/article/view/1922/0>
- Fauziah, S. I., & Ibrahim, M. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik pada Tanah Gambut di Desa Tagagiri TamaJaya, Kecamatan Pelangiran, Kabupaten Inhil, Riau. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 9(3), 194-203
- Hidayatulloh, A Yahdiyani, N., & Nurhayati, LS (2022). Isolasi dan seleksi Bakteri Kandidat Selulolitik dari Proses Pembuatan Pupuk Organic pada Pengolahan Limbah Peternakan. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 3 (2), 65-72.
- Janda, J. M., & Abbott, S L. (2006). The Genus *Hafnia*: from Soup to Nuts. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 12-28.
- Kurniawan, A. (2018). Bakteri Selulolitik Pada Kayu Lapuk di Mangrove Sungailiat, Bangka dan Tukak Sadai, Bangka Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 3(1), 301-305. <https://snllb.ulm.ac.id/prosiding/index.php/snllb-lit/article/view/63/63>
- Khulud, L., J., Febrianti, D., Prasetyono, E., Robin, R., & Kurniawan, A. (2020). Eksplorasi, Seleksi dan Identifikasi Kandidat Bakteri Selulolitik Asal Ekosistem Mangrove Sungailiat, Pulau Bangka. *Jurnal Sains Dasar*, 9(1), 23-29.
- Lubis, S., Riwayat, R., & Idramsa, I. (2015). Seleksi dan Karakteristik Bakteri Endofit dari Tumbuhan Raru (*Cotileobium melanoxylon*) pendegradasi selulosa. *JBIO: jurnal biosains (the journal of biosciences)*, 1(3), 100-106.
- Murtiyaningsih, H., & Hazmi, M. (2017). Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik asal tanah sampah. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 15(2).
- Munifah, I. (2021). Limbah Padat Industry Agar-Agar Kajian Karakteristik Beserta Bakteri Pendegradasinya. Pekalongan: NEM
- Mairizal, M., Yurleni, Y., Adriani, A., & Manin, F. (2021). Iso Isolasi Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap dan Daya Hidupnya pada berbagai substrat yang berasal dari limbah pertanian dan perkebunan. *Jurnal ilmiah ilmu-ilmu peternakan*, 24 (2), 81-96.

- Nainggolan, I. C., & Bodhi, W. (2018). Isolasi Bakteri Resisten Arsen pada Sedimen Tanah di Muara Sungai Buyat. *eBiomedik*, 6(2), 111-117. <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/ebiomedik/article/view/21994/21694>
- Nofu, K., Khotimah, S., & Lovadi, I. (2014). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Ampas Tebu Kuning (*Bagasse*). *Jurnal Protobiont*, 3(1), 25-33. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jprb/article/view/4577/4666>
- Parija, S. C. (2009). *Text Book of Microbiology and Immunology*. India: Rajkamal Electric Press
- Suhu, O., Gen, P, U, D., Seprianto, S., P., & Wahyuni, F, D. (2019). Laporan Akhir Tahun Penelitian Hibah Internal. [https://digilib.esaunggul.ac.id/public/UEU-Research-14111-16\\_0454.pdf](https://digilib.esaunggul.ac.id/public/UEU-Research-14111-16_0454.pdf)
- Suprayatna, A., Rohimah, I., Suryani, Y., & Sa'adah, S. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Sayuran dan Buah-buahan Organic Untuk Berperan Dalam Pembuatan Bahan Biogas. *Jurnal ISTEK*, 6(1-2). [https://etheses.uinsgd.ac.id/1297/1/1\\_cover.pdf](https://etheses.uinsgd.ac.id/1297/1/1_cover.pdf)
- Ulfa, A., Khotimah, S., & Linda R, (2014). Kemampuan Degradasi Selulosa Bakteri oleh Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Jurnal Protobiont*, 3(2), 259-267. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jprb/article/view/6836/7045>
- Washington, W. J., Stephen, A., William, J., Koneman, E., Procop, G., & Scheckenberger, P. (2006). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, (6<sup>th</sup> ed.). New York: Lippincott Williams and Wilkins
- Yogyaswari, SA, Rukmi, MI, & Raharjo, B.(2016). Eksplorasi bakteri selulolitik dari cairan rumen sapi Peranakan Fries Holland (PFH) dan Limousine Peranakan Ongole (Limpo). *Jurnal Akademik Biologi*, 5(4), 70-80. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19516>
- Yusrizal & Agustinur. (2021). Isolasi Bakteri Selulolitik Indigenous Pendegradasi Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Metamorfosa of Biological Sciences* 8(1), 150-155. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa/article/download/85497/46558>