

## KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)

Siska Nuryanti\*, Fitriana, A. Rini Pratiwi

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

\*Email: [siska.nuryanti@umi.ac.id](mailto:siska.nuryanti@umi.ac.id)

### ABSTRACT

*Cellulose is a natural polymer widely used for general industrial purposes. The development of science utilizes bacteria from certain fruits to produce biosellulose. Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) contains a lot of sugar which can be bioconverted to cellulose by cellulose-producing lines. The research aimed to obtain bacteria from red dragon fruit with the potential to produce cellulose, then conduct morphological and biochemical characterization. The research was conducted by the isolation of bacteria from the fruit, purification, and screening tests using Hestrin-Schramm medium. The isolates obtained were characterized morphologically through macroscopic and microscopic observation and the biochemically through catalase test, carbohydrate fermentation, starch and gelatin hydrolysis, motility, and IMViC (Indole, Methyl red, Voges-Proskauer, Citrate). The results showed that 4 bacterial isolates had the potential to produce cellulose. Based on Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 3 bacterial genera were obtained, namely Acetobacter, Gluconacetobacter, and Azotobacter. The results of the characteristics of the isolates obtained at IBBN 2-2 were positive in the catalase test, sucrose and lactose fermentation, and methyl red. IBBN 3-1 was positive in the catalase test, sugar fermentation, starch hydrolysis, methyl red, and citrate. IBBN 3-2 was positive in the sucrose and glucose fermentation test, gelatin hydrolysis and 4-1 IBBN was positive in the sucrose fermentation test and gelatin hydrolysis.*

**Keywords:** Cellulose, Characterization, *Hylocereus Polyrhizus*, Biochemical Test.

### PENDAHULUAN

Perkembangan industri saat ini mendorong masyarakat lebih banyak memperoleh selulosa dari tanaman. Selain tanaman, selulosa juga dapat disintesis oleh alga dan beberapa spesies bakteri. Meningkatnya permintaan akan produk yang mengandung selulosa nabati telah meningkatkan konsumsi kayu, dengan demikian berkontribusi terhadap deforestasi. Berdasarkan laporan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan data Sistem Pemantauan Hutan Nasional (SIMONTANA) yang dirilis pada awal 2019, hasil pemantauan hutan Indonesia tahun 2018 menunjukkan bahwa luas lahan berhutan adalah 93,5 juta ha

dan pada 2017-2018, deforestasi tercatat 0,44 juta ha.

Salah satu alternatif untuk mengurangi efek yang kurang baik ini adalah menggunakan bahan baku non kayu sebagai bahan baku pembuatan kertas dan mencari proses yang lebih ramah lingkungan. Selulosa yang berasal dari tumbuhan dan bakteri memiliki komposisi kimia yang sama tetapi struktur dan sifat fisik yang berbeda. Tidak seperti selulosa dari tanaman, bakteri selulosa adalah kimiawi murni dan bebas dari lignin dan hemi-selulosa. Bakteri selulosa memiliki kristalinitas tinggi dan polimerisasi tingkat tinggi.<sup>1</sup>

Buah-buahan memiliki banyak gula seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa yang dapat biokonversi menjadi selulosa bakteri bila

digunakan sebagai substrat oleh galur penghasil selulosa. Bakteri gram negatif seperti *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Pseudomonas* memiliki kemampuan untuk mensintesis selulosa. Bakteri dari genus *Acetobacter* adalah produsen selulosa yang paling banyak dipelajari dan efisien dengan hasil tinggi.<sup>2</sup>

Penelitian Rangaswamy *et al.* (2015) melaporkan isolasi bakteri penghasil selulosa dari sampel buah dan sayuran busuk. Isolat diidentifikasi sebagai *Pseudomonas* sp. RV14, *Enterobacter* sp. RV11, dan *Gluconacetobacter* sp. RV28.<sup>3</sup> Hasil selulosa sehubungan dengan masing-masing organisme dipelajari. Dalam kondisi pertumbuhan optimal, *Gluconacetobacter* sp. RV28 mencapai hasil selulosa tertinggi 4,7 g/L.<sup>3</sup>

Menurut Saputra, Sampepana, & Susanty (2017) yang melaporkan penelitian tahun 2009 oleh Cahyono menyatakan dalam 100 gram buah naga mengandung 13-18 briks kadar gula.<sup>4</sup> Buah naga merah termasuk tanaman tropis dan sangat mudah beradaptasi pada berbagai lingkungan tumbuh dan perubahan cuaca seperti sinar matahari, angin dan curah hujan. Buah naga merupakan sumber serat, vitamin dan mineral yang baik.<sup>5</sup>

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat-alat gelas, autoklaf, bunsen, cawan petri, corong pisah, inkubator, *laminar air flow*, lemari es, mikroskop, oven, rak tabung dan timbangan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 96%, alpha-naphtol, agar, asam sitrat, aquadest, bromotimol biru, buah naga, D-glukosa, disodium hidrogen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), ekstrak yeast,  $\text{H}_2\text{O}_2$  3%, larutan iodium, kalium

hidroksida, kristal violet, medium cair MR- VP, medium *Nutrient Agar* (NA), medium *Nutrient Gelatin* (NG), medium Sulfite Indole Motility (SIM), medium Simmon's Sitrat Agar (SSA), pepton, reagen KOVACS, dan safranin.

### Prosedur Penelitian

#### Isolasi bakteri

Daging buah naga yang telah dibersihkan dipotong kecil dan dihaluskan. Setiap sampel kemudian ditimbang sebanyak 1 gram dan diinokulasikan ke dalam 9 mL NaCl fisiologis steril. Kemudian dilakukan pengenceran hingga  $10^{-6}$ . Setiap pengenceran sampel diambil 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Masukkan 9 mL medium standar *Hestrin-Schramm* agar (D-Glukosa 20 g/L, ekstrak yeast 5 g/L, pepton 5 g/L,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  2,7 g/L, asam sitrat 1,15 g/L, dan agar 15 g/L). Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.<sup>6</sup>

#### Uji skrining bakteri penghasil selulosa

Isolat bakteri diambil 1 ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL medium *Hestrin-Schramm* cair. Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, tabung dengan lapisan folikel putih diatas permukaan mediumnya dipilih sebagai isolat bakteri penghasil selulosa.<sup>6</sup>

#### Identifikasi bakteri penghasil selulosa

##### Morfologi bakteri

Isolat bakteri penghasil selulosa yang terpilih diambil 1 ose kemudian dimurnikan dan diamati morfologinya diatas medium *Hestrin-Schramm* agar secara makroskopik. Morfologi yang diamati berupa bentuk koloni, bentuk tepi, bentuk elevasi, dan warna. Untuk morfologi secara mikroskopik, isolat bakteri yang terpilih dicat dengan metode pengecatan gram untuk menentukan jenis bakterinya.<sup>7</sup>

### **Pengecatan Gram**

Pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan karakteristik dan bentuk sel bakteri. Pembuatan preparat dengan metode pewarnaan Gram. Masing-masing isolat dari kultur murni bakteri yang telah berumur 24 jam dibuat sediaan mikroskopiknya, kemudian sediaan digenangi karbol kristal violet. Setelah dibiarkan selama 3 menit, kelebihan zat warna dibuang dan ditetesi lugol hingga menggenangi sediaan lalu biarkan selama 45-60 detik. Selanjutnya sediaan dimasukkan kedalam staining jar berisi alkohol 96%, digoyang selama 1 menit lalu dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas isap. Safranin dituangkan di atas sediaan yang telah kering dan dibiarkan selama 3 menit. Setelah itu dicuci dengan aquades menggunakan botol semprot dan dikeringkan di udara. Sediaan yang akan diamati, diberi minyak imersi terlebih dahulu. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Hasil pewarnaan akan berwarna ungu jika bakteri berjenis Gram positif dan akan berwarna merah jika bakteri berjenis Gram negatif.<sup>8</sup>

### **Uji biokimia**

#### **Uji katalase**

Dilakukan dengan cara diatas kaca objek ditetes satu tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, ditambahkan koloni bakteri dan langsung diamati terjadinya penguraian hidrogen peroksida. Dinyatakan positif bila menghasilkan enzim katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara dan negatif bila tidak ada gelembung udara.<sup>9</sup>

#### **Uji Fermentasi Karbohidrat**

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam memfermentasi karbohidrat dengan menggunakan tiga jenis gula, yaitu: glukosa,

laktosa, dan sukrosa sebagai mediumnya yang telah ditambahkan indikator *brom cressol purple* (bcp). Cara pengujiannya adalah dengan menginokulasikan isolat ke dalam medium lalu diinkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 37°C. Warna kuning dan adanya gelembung/gas pada tabung Durham menunjukkan hasil yang positif.<sup>8</sup>

#### **Hidrolisis Pati**

Hidrolisis pati menggunakan medium agar pati. Pati dapat dihidrolisis oleh mikroorganisme tertentu dengan hasil akhir yaitu dekstrin. Medium agar pati dicairkan dalam penangas air, dinginkan suhunya sampai 45°C. medium dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah medium membeku, masing-masing isolat diinokulasikan kedalam medium agar pati dan diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 24 jam. Setelah terlihat adanya pertumbuhan, larutan iodium/lugol ditetaskan disekitar koloni bakteri pada medium tumbuh dan dibiarkan selama beberapa menit. Jika terbentuk daerah bening disekitar koloni menandakan terjadinya hidrolisis pati oleh enzim amilase.<sup>8</sup>

#### **Hidrolisis Gelatin**

Hidrolisis Gelatin menggunakan medium nutrient gelatin. Masing-masing isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium nutrient gelatin kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian disimpan pada inkubator dengan suhu 4°C selama 30 menit. Gelatin yang telah dihidrolisis akan tetap cair meskipun disimpan pada suhu 4°C. Beberapa mikroorganisme mampu menghidrolisis gelatin karena dapat menghasilkan eksoenzim proteolitik yang disebut gelatinase.<sup>8</sup>

#### **Uji Motilitas**

Isolat bakteri ditusukkan ke dalam media *Sulfite Indole Motility* semi padat pada

tabung reaksi menggunakan jarum ose tusuk steril. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, maka bakteri tersebut bergerak (motil) dan bila pertumbuhan bakteri tidak menyebar hanya berupa satu garis, maka bakteri tersebut tidak bergerak.<sup>10</sup>

### **Uji IMViC**

#### **Uji indol**

Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium Sulfid Indol Motility (SIM) pada tabung reaksi secara aseptik, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah diinkubasi, ditetesi dengan reagen KOVACS dan uji akan bernilai positif jika permukaan medium berwarna merah, hal ini mengindikasikan bahwa bakteri mampu memecah asam amino triptofan.<sup>9</sup>

#### **Uji metil merah**

Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium MR-VP broth. Uji metil merah digunakan untuk menentukan glukosa yang dapat diubah menjadi produk asam seperti asam laktat, asam asetat, atau asam format. Uji ini dilakukan dengan cara menginokulasikan masing-masing isolat bakteri ke dalam MR-VP broth lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 3-5 tetes metil merah pada masing-masing tabung reaksi lalu dihomogenkan. Hasil positif menunjukkan warna merah muda pada media cair. Hasil negatif menunjukkan warna kuning.<sup>8</sup>

#### **Uji Voges-Proskauer (VP)**

Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium MR-VP broth. Uji *Voges-Proskauer* (VP) digunakan untuk menentukan glukosa yang dapat diubah menjadi asetil metil karbinol. Uji ini dilakukan

dengan cara menginokulasi masing-masing isolat bakteri ke dalam medium MR-VP broth lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 5 tetes reagen VP A (yang mengandung naftol) dan ditambahkan pula 5 tetes reagen VP B (yang mengandung KOH), kemudian dikocok hingga homogen. Sebelum memastikan hasilnya, dibiarkan dahulu selama 15-20 menit agar bereaksi. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi pink atau merah yang mengindikasikan adanya kehadiran aseton. Sedangkan reaksi negatif pada media cair adalah tidak berubahnya warna medium atau menjadi warna tembaga.<sup>9</sup>

#### **Uji Simmon's sitrat**

Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium Simmon's sitrat agar. Uji ini dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut dapat mengonversi sitrat (salah satu senyawa antara dalam siklus Krebs) menjadi oksaloasetat. Satu ose isolat murni digoreskan pada agar miring sitrat lalu diinkubasi selama 24-48 jam. Interpretasi setelah inkubasi: reaksi positif adalah berubahnya warna hijau medium menjadi warna biru. Sedangkan reaksi negatif terjadi apabila tidak terjadi perubahan warna pada medium (tetap hijau).<sup>8</sup>

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Buah naga merah mengandung berbagai zat bioaktif diantaranya antioksidan (asam askorbat, betakaroten, dan antosianin), vitamin (vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, dan vitamin C), mineral (kalsium, besi, fosfor), dan mengandung serat pangan dalam bentuk pektin.<sup>11</sup> Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tayo, Akintundel, & Sanusi (2017) organisme memanfaatkan nutrisi dan gula dalam buah-buahan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan dan proliferasi serta

dijadikan sebagai substrat untuk produksi selulosa bakteri oleh galur penghasil selulosa.<sup>2</sup> Tujuan dilakukan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri yang berpotensi sebagai penghasil selulosa berdasarkan karakteristik morfologis dan biokimianya.

Tahap pertama penelitian dilakukan penyiapan sampel dengan cara mengisolasi bakteri penghasil selulosa dari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan

pengenceran bertingkat dari  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$ . Pengenceran bertujuan untuk meminimalkan jumlah mikroorganisme sehingga memudahkan pengisolasian dan tidak terjadi penumpukan agar lebih mudah dalam pengamatan. Selanjutnya penelitian dilanjutkan ke tahapan isolasi bakteri penghasil selulosa menggunakan medium Hestrin-Schramm agar dengan metode tuang sehingga sampel tersebar merata.

**Tabel 1.** Karakteristik morfologi isolat bakteri penghasil selulosa dari buah naga\_merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Kode isolat	Makroskopik			Mikroskopik		
	Warna	Bentuk koloni	Bentuk tepi	Bentuk elevasi	Gram	Bentuk bakteri
IBBN 2-2	Kuning	Round (Bulat)	Smooth (Halus)	<i>Raised</i>	Negatif	Basil (batang)
IBBN 3-1	Kuning	Round (Bulat)	Smooth (Halus)	<i>Raised</i>	Negatif	Basil (batang)
IBBN 3-2	Kuning	Round (Bulat)	Smooth (Halus)	<i>Convex</i>	Negatif	Basil (batang)
IBBN 4-1	Kuning	Round (Bulat)	Smooth (Halus)	<i>Convex</i>	Negatif	Basil (batang)

**Tabel 2.** Karakteristik biokimia isolat bakteri penghasil selulosa dari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Pengamatan	IBBN 2-2	IBBN 3-1	IBBN 3-2	IBBN 4-1
Fermentasi karbohidrat				
Sukrosa	+	++	+	+
Glukosa	-	++	+	-
Laktosa	+	+	-	-
Katalase	+	+	-	-
Hidrolisis pati	-	+	-	-
Hidrolisis gelatin	-	-	+	+
Motilitas	-	-	-	-
Indol	-	-	-	-
Metil merah	+	+	-	-
Voges-Proskauer	-	-	-	-
Sitrat	-	+	-	-

Keterangan: (+): Reaksi positif; (-): Reaksi negatif untuk fermentasi karbohidrat (Sukrosa, Glukosa, dan Laktosa); (++) : Warna kuning + ada gelembung udara; (+): Warna kuning

Selanjutnya, isolat bakteri yang diperoleh dilakukan pemurnian dengan metode *quadrant streak* untuk memperoleh isolat murni yang tunggal. Tahap berikutnya dilakukan skrining untuk menentukan isolat bakteri yang mampu memproduksi selulosa. Adanya bakteri penghasil selulosa ditandai

dengan terbentuknya folikel putih pada permukaan medium, menurut Costa *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa selama proses sintetik, rantai glukosa yang diproduksi di dalam tubuh bakteri keluar melalui pori-pori kecil yang ada di dalam selnya. Rantai glukosa kemudian membentuk

mikrofibril yang selanjutnya beragregasi untuk membentuk pita selulosa. Berdasarkan hasil skrining diperoleh 4 isolat bakteri dimana cirinya ditandai dengan terbentuknya pita/folikel putih pada permukaan medium.<sup>12</sup>

Keempat isolat bakteri yang positif menghasilkan selulosa kemudian dikarakterisasi untuk mengidentifikasi bakteri penghasil selulosa. Karakterisasi dilakukan secara morfologi dan biokimia. Karakterisasi secara morfologi meliputi pengamatan makroskopik berupa bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi, dan warna. Pengamatan mikroskopik dengan metode pengecatan Gram. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif ditandai dengan warna merah.

Untuk karakterisasi biokimia diperlukan dalam identifikasi spesimen bakteri yang tak dikenal karena secara morfologis biakan ataupun sel bakteri yang berbeda dapat tampak serupa, tanpa hasil pengamatan fisiologis yang berdasarkan pada reaksi enzimatik ataupun biokimia. Karakterisasi secara biokimia meliputi uji katalase, uji fermentasi karbohidrat, hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, uji motilitas, uji IMViC (*Indole, Methyl red, Voges-Proskauer, Citrate*).

Uji katalase menunjukkan reaksi positif pada isolat IBBN 2-2 dan IBBN 3-1 sedangkan reaksi negatif pada isolat IBBN 3-2 dan IBBN 4-1. Tes ini dilakukan untuk menentukan produksi enzim katalase, sampel yang ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% akan menguraikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi molekul air dan oksigen yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara. Enzim katalase melindungi bakteri dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang terakumulasi selama proses metabolisme aerobik karena dapat bersifat toksik.

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi gula. Maka dari itu, digunakan 3 jenis gula, yaitu sukrosa, glukosa, dan laktosa pada media cair. Hasil uji fermentasi sukrosa diperoleh isolat IBBN 2-2, IBBN 3-1, IBBN 3-2, dan IBBN 4-1 mampu memfermentasi sukrosa yang ditandai dengan perubahan warna pada media dari hijau ke kuning, hanya isolat IBBN 3-1 yang terdeteksi gelembung udara. Untuk fermentasi glukosa isolat IBBN 2-2 dan IBBN 4-1 menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak ada perubahan pada media cair berarti isolat ini tidak mampu memfermentasi glukosa sedangkan IBBN 3-1 dan IBBN 3-2 positif. Untuk fermentasi laktosa, isolat IBBN 2-2 dan IBBN 3-1 positif sedangkan isolat IBBN 3-2 dan IBBN 4-1 negatif.

Pengujian hidrolisis pati dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memanfaatkan pati yang memproduksi enzim amilase. Setelah ada pertumbuhan ditetaskan larutan iodium disekitar koloni, reaksi positif jika terbentuk daerah bening disekitar koloni yang menandakan terjadinya hidrolisis pati oleh enzim amilase. Hasil uji hidrolisis pati hanya isolat IBBN 3-1 yang positif sedangkan isolat IBBN 2-2, IBBN 3-2, dan IBBN 4-1 negatif.

Pengujian hidrolisis gelatin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim gelatinase. Adanya enzim gelatinase menandakan aktivitas bakteri mencerna protein dan dapat mencairkan gelatin. Hasil uji hidrolisis gelatin, isolat IBBN 3-2 dan IBBN 4-1 menunjukkan reaksi positif sedangkan isolat IBBN 2-2 dan IBBN 3-1 menunjukkan reaksi negatif.

Pengujian motilitas bertujuan untuk mengetahui pergerakan bakteri yang ditusukkan menggunakan jarum ose pada medium *Sulfite Indole Motility* (SIM) semi padat. Isolat bakteri positif bersifat motil jika terlihat pertumbuhan menyebar pada daerah tusukan namun berdasarkan hasil penelitian isolat IBBN 2-2, IBBN 3-1, IBBN 3-2, dan IBBN 4-1 tidak menunjukkan adanya pergerakan yang berarti bersifat non motil.

Pengujian IMViC merupakan rangkaian uji untuk kelompok bakteri koliform. Pengujian ini terdiri dari *Indole*, *Methyl red*, *Voges-Proskauer*, dan *Citrate*. Pada uji indol, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan medium yang mengindikasikan bakteri mampu mendegradasi asam amino triptofan dan menghasilkan indol namun berdasarkan hasil penelitian keempat isolat menunjukkan reaksi negatif.

Pengujian metil merah menggunakan medium MR-VP broth yang mengandung glukosa, pepton dan dapar fosfat. Metil merah menunjukkan warna merah pada pH dibawah 4.4 dan warna kuning pada pH diatas 6. Isolat IBBN 2-2 dan IBBN 3-1 menunjukkan reaksi positif karena medium berwarna merah yang mengindikasikan bakteri mampu melakukan fermentasi asam campuran yang menyebabkan penurunan pH pada medium. Sedangkan isolat IBBN 3-2 dan IBBN 4-1 berwarna oranye menunjukkan pH diantaranya sehingga dapat dipertimbangkan sebagai reaksi negatif.

Pengujian *Voges-Proskauer* dilakukan untuk mendeteksi adanya asetoin pada kultur bakteri sebagai hasil dari metabolisme glukosa. Ketika glukosa dipecah, asetoin akan bereaksi dengan reagen  $\alpha$ -naftol dan kalium

hidroksida membentuk warna merah. Berdasarkan hasil penelitian isolat IBBN 2-2, IBBN 3-1, IBBN 3-2, dan IBBN 4-1 menunjukkan tidak adanya asetoin yang ditandai dengan warna medium yang tetap.

Pengujian sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Hasil pengujian sitrat, isolat IBBN 3-1 menunjukkan reaksi positif yang ditandai warna medium dari hijau ke biru, ini mengindikasikan bakteri mampu menggunakan sitrat sehingga asam akan dihilangkan dari medium menyebabkan peningkatan pH dan perubahan warna medium. Sedangkan isolat IBBN 2-2, IBBN 3,2, dan IBBN 4-1 menunjukkan reaksi negatif yang ditandai tidak adanya perubahan warna pada medium.

Isolat bakteri diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologis dan biokimia menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Isolat IBBN 2-2 diidentifikasi sebagai genus *Acetobacter* dengan karakteristik positif pada uji katalase, fermentasi sukrosa dan laktosa, metil merah. Genus *Acetobacter* sesuai dengan identifikasi bakteri pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dimana ciri-cirinya sel berbentuk elipsoidal sampai batang, lurus atau agak melengkung, muncul sendiri-sendiri, berpasangan, atau berantai; Motil atau nonmotil; Gram negatif; Aerobik obligat; bentuk koloni pucat; katalase positif; tidak adanya pencairan gelatin, produksi indol; asetat dioksidasi menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O; baik laktosa maupun pati dihidrolisis; tidak ada produksi 2,5-diketo-d-glukonat dari d-glukosa.<sup>13</sup>

IBBN 3-1 sebagai genus *Gluconacetobacter* dengan karakteristik positif

pada uji katalase, fermentasi gula, hidrolisis pati, metil merah, dan sitrat. Genus *Gluconacetobacter* sesuai dengan identifikasi bakteri pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dimana ciri-cirinya sel berbentuk ellipsoidal sampai batang, lurus atau agak melengkung, muncul sendiri-sendiri, berpasangan, atau dalam rantai pendek. Motil atau nonmotil; Gram negatif; aerobik obligat; beberapa strain menghasilkan koloni pembentuk pelikel yang tebal; katalase positif, tidak adanya pencairan gelatin, produksi indol; asam terbentuk dari glukosa dan etanol.<sup>13</sup>

IBBN 3-2 sebagai genus *Azotobacter* dengan karakteristik positif pada uji fermentasi sukrosa dan glukosa, hidrolisis gelatin dan IBBN 4-1 sebagai genus *Azotobacter* dengan karakteristik positif pada uji fermentasi sukrosa dan glukosa, hidrolisis gelatin. Genus *Azotobacter* sesuai dengan identifikasi bakteri pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* dimana ciri-cirinya sel berkisar dari batang lurus dengan ujung membulat hingga lebih ellipsoidal atau coccoid; motil atau nonmotil; aerobik; sangat sedikit asam amino yang digunakan, mungkin karena kekurangan transportasi asam amino secara umum.<sup>13</sup>

## KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari hasil penelitian adalah pada buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diperoleh 4 isolat bakteri yang berpotensi sebagai bakteri penghasil selulosa. Berdasarkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* diperoleh 3 genus bakteri yaitu *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, dan *Azotobacter*. Hasil karakteristik isolat yang diperoleh pada IBBN 2-2 positif pada uji katalase, fermentasi sukrosa dan laktosa, metil merah. IBBN 3-1 positif pada uji katalase, fermentasi gula,

hidrolisis pati, metil merah, dan sitrat. IBBN 3-2 positif pada uji fermentasi sukrosa dan glukosa, hidrolisis gelatin dan IBBN 4-1 positif pada uji fermentasi sukrosa dan hidrolisis gelatin.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Bahri S. Pembuatan Pulp dari Batang Pisang. *J Teknol Kim Unimal*. 2017;4(2):36.
2. Adebayo-Tayo B, Akintunde M, Sanusi J. Effect of Different Fruit Juice Media on Bacterial Cellulose Production by *Acinetobacter* sp. BAN1 and *Acetobacter pasteurianus* PW1. *J Adv Biol Biotechnol*. 2017;14(3):1–9.
3. Rangaswamy BE, Vanitha KP, Hungund BS. Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit. *Int J Polym Sci*. 2015;2015.
4. HS S, Sampepana E, Susanty A. Pengaruh Rasio Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Sukrosa Serta Lama Waktu Osmosis Terhadap Sifat Kimia Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *J Ris Teknol Ind*. 2017;11(2):123–30.
5. Warisno, Dahana K. *Bertanam Buah Naga*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama; 2008.
6. Hungund BS, Gupta SG. Improved production of bacterial cellulose from *Gluconacetobacter persimmonis* GH-2. *J Microb Biochem Technol*. 2010;2(5):127–33.
7. Raj J. Isolation , Screening , and Characterisation of Cellulolytic Bacteria , Determination of Their Cellulolytic Potential. *Int J Adv Res Ideas Innov Technol*. 2017;3(4):215–20.
8. Cappuccino JG & SN. *Manual Laboratorium Biologi*. Jakarta: EGC; 2014.
9. Liempepas A, Lolo WA, Yamlean PVY. Isolasi dan uji antibakteri dari isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons *Callyspongia aerizusa* Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*. 2019;8(2):380.

10. Yulvizar C. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. Isolation and Identification of Probiotic Bacteria in *Rastrelliger* sp. *Biospecies*. 2013;6(2):1–7.
11. Yanti AN, Ambardini S, Ardiansyah, Marlina WOL, Cahyanti DK. Antibacterial Activity of Soursoop Leaves Kombucha (*Annona muricata* L.) With Different Sugar Concentration. *J Berk Saintek*. 2020;3(2):35–40.
12. Costa AFS, Almeida FCG, Vinhas GM, Sarubbo LA. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources. *Front Microbiol*. 2017;8(OCT):1–12.
13. Garrity GM. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria ...* - Google Books [Internet]. USA: Springer; 2010. Available from: <https://books.google.lk/books?id=5zSYmcq0GdgC&pg=PA341&dq=virulence+factor+s+caused+by+pseudomonas+aeruginosa&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwjCu4XljevOAhWBM48KHZwoAG8Q6AEIKTAD#v=onepage&q=virulence+factors+caused+by+pseudomonas+aeruginosa&f=false>