
Optimization of Temperature Cellulose Producing Bacterial Isolates From Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*)

Ayyub Harly Nurung^{1*}, Fairuz Dyah Widowati¹, Herwin¹, Fitriana¹

Departement of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia

*Corresponding Author: Email: Ayyub.harlynurung@umi.ac.id

ABSTRACT

*Isolation of bacterial cellulose from fruits in traditional market of Makassar have been done. This objective of this research was to determine optimum temperature of isolate bacteria that produce cellulose from Dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) using dilution agar method. Isolation of bacteria produced cellulose using Hestrin-Schramm agar (HSA) obtain 5 (five) isolate NB02, NB03, NS01 and NS02. The result of screening activity showed that isolate NB04 has a potential as bacteria produce cellulose. The temperature optimize of NB04 has been done at 25°C and 40°C. Based on research results showed that optimum temperature for NB04 was at 25°C and has highest cellulose content at 1,29 g.*

Keywords: *Dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*), bacteria cellulose, temperature optimization*

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan kelompok organisme yang berukuran sangat kecil (mikroskopik), serta memiliki peran penting dalam kehidupan bumi. Bakteri terbagi ke dalam beberapa kelompok yang salah satunya dapat dimanfaatkan dalam bidang pangan, pengobatan, dan industri. Salah satu peran bakteri mampu membentuk selulosa yang memiliki kelebihan diantaranya tingkat kemurnian yang tinggi, tanpa adanya kandungan lignin, pektin, dan hemiselulosa yang pada umumnya dapat ditemukan pada selulosa tanaman(1). Selain penghasil selulosa bakteri juga dapat menghasilkan enzim. Bakteri penghasil selulosa maupun enzim

dapat dilakukan dengan metode substrat atau dengan metode isolasi.

Pemanfaatan bakteri sebagai penghasil selulosa maupun enzim telah dilakukan oleh peneliti diantaranya yaitu pengelolaan limbah kulit buah-buahan menjadi selulosa oleh bakteri *Acetobacter* (2). Beberapa penelitian tersebut merupakan salah satu alternatif yang digunakan untuk mengurangi biaya yang berlebih tetapi menghasilkan kualitas yang memadai. Penelitian penghasil selulosa dari bakteri juga dihasilkan dari pemanfaatan ekstrak buah seperti semangka, pisang, timun, suri, buah naga dan yang lainnya.

Dengan melihat dari penelitian sebelumnya maka perlu dilakukan

penelitian tentang optimasi bakteri penghasil selulosa dari buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) parameter suhu, pH dan sumber nitrogen. Berdasarkan sampel buah diatas, buah naga menjadi salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam menghasilkan selulosa bakteri karena memiliki kandungan glukosa yang tinggi, dan merupakan sumber karbon yang baik. Jenis bakteri yang dapat dimanfaatkan dalam memperoleh selulosa yang beragam dengan kualitas dan kuantitas yang baik yaitu acetobacter, aerobacter, azotobacter, dan agrobacterium akan tetapi bakteri acetobacter cukup efisien digunakan karena mampu mengubah gula menjadi selulosa, serta mampu menjadikan glukosa tersebut sebagai sumber energi untuk membentuk senyawa metabolit.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian optimasi bakteri penghasil selulosa berdasarkan parameter suhu optimal untuk menghasilkan selulosa yang baik.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah cawan petri, oven, autoklaf, inkubator aerob, mikroskop, dan kaca preparat. Bahan yang digunakan adalah Buah Naga, medium Hestrin-Schramm cair agar, asam sitrat, aquadest, NaOH, NaCl Fisiologis 0,9%.

Prosedur Penelitian

Penyiapan Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) yang berasal dari kota Makassar dikumpulkan dan disortasi dari kotoran yang menempel dengan menggunakan air mengalir.

Isolasi bakteri Penghasil Selulosa

Sampel buah naga yang telah dibersihkan dipotong kecil dan dihaluskan. Setiap sampel kemudian ditimbang sebanyak 1 gram dan di inokulasikan ke dalam 9 mL NaCl fisiologis steril. Kemudian dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} . Sampel buah naga dilakukan pengenceran sampel diambil 1 mL. Kemudian dimasukkan kedalam cawan petri. Masukkan 9 mL medium standar Hestrin- Schramm agar. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C (3).

Uji Skrining Bakteri Penghasil Selulosa

Isolat bakteri selulosa diinokulasikan kedalam tabung reaksi yang berisi medium sebanyak 10 mL yaitu medium Hestrin-Schramm cair agar. Hasil inokulasi isolat bakteri diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Setelah diinkubasi, dilakukan analisis dengan melihat lapisan folikel yang berwarna putih diatas permukaan mediumnya kemudian di pilih sebagai isolat bakteri penghasil selulosa (4)

Optimasi suhu Isolat Bakteri penghasil Selulosa

Isolat bakteri penghasil selulosa diambil 1 ose kemudian ke dalam 3 tabung yang berbeda dan telah berisi 10 mL medium Hestrin-Schramm cair. Tabung pertama diinkubasi pada suhu 5°C, tabung kedua diinkubasi pada suhu 25°C, dan tabung ketiga diinkubasi pada suhu 40°C. Ketiga tabung diinkubasi selama 7 hari,

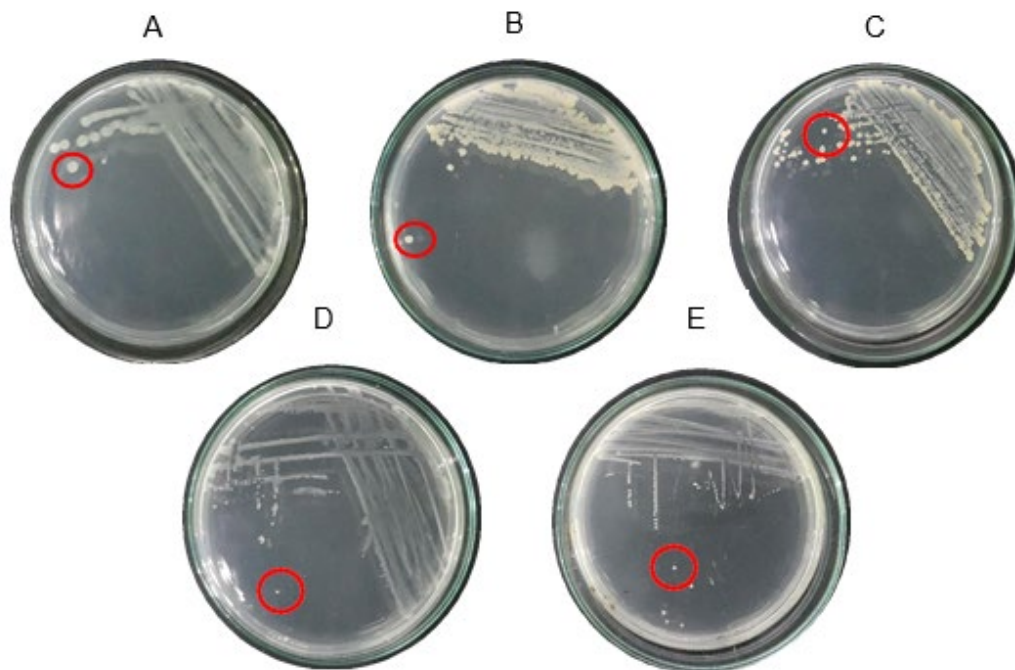
pada hari ke-7 folikel yang terbentuk ditimbang untuk menentukan massa folikelnya (4)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri penghasil selulosa dari buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) menggunakan medium *Hestrin-Schramm* agar (HSA) secara dilusi padat diperoleh 5 isolat, sebagaimana terlihat pada tabel 1, gambar 1.

Tabel 1 Hasil isolasi bakteri penghasil selulosa dari buah naga (*Hylocereus polyrhizus*)

No.	Nama Isolat	Kode Isolat
1	Buah Naga Busuk 02	NB-02
2	Buah Naga Busuk 03	NB-03
3	Buah Naga Busuk 04	NB-04
4	Buah Naga Segar 01	NS-01
5	Buah Naga Segar 02	NS-02



Gambar 1 Gambar hasil Hasil isolasi bakteri penghasil selulosa dari buah naga (*Hylocereus polyrhizus*)

Keterangan : A : Buah naga busuk 2, B : Buah naga busuk 3, C : Buah naga busuk 3, D : Buah segar 1, E : Buah naga segar 2

Hasil optimasi suhu dengan menggunakan variasi suhu 25⁰C, dan suhu 40⁰C. Pengaruh berbagai suhu pada pertumbuhan selulosa ditunjukkan pada

terbentuknya folikel dan jumlah atau berat folikel yang dihasilkan, sebagaimana terlihat pada tabel 2, gambar 2.

Tabel 2. Hasil jumlah selulosa yang didapatkan pada optimasi suhu

Kode Isolat Sampel	Suhu 25 ^o c			Suhu 40 ^o c		
	Berat Awal	Berat Akhir	Selulosa (g)	Berat Awal	Berat Akhir	Selulosa (g)
NB 04	0,60	1,89	1,29	0,62	1,82	1,20

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat aktivitas bakteri yang diisolasi dari buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai sumber penghasil selulosa, proses ini diawali dengan melakukan proses isolasi bakteri penghasil selulosa dengan menggunakan sampel buah naga segar dan busuk yang diambil dari salah satu pasar tradisional di makassar. Buah naga yang digunakan divariasikan yang segar dan busuk dengan tujuan untuk membandingkan kemampuan buah dalam menghasilkan selulosa. Pada proses isolasi digunakan medium *Hestrin-Schramm* agar (HSA) yang merupakan medium standar yang digunakan dalam menumbuhkan bakteri penghasil selulosa selain itu medium ini juga telah memenuhi nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri penghasil selulosa tersebut. Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan sebanyak 12 isolat yaitu 6

buah naga segar dan 6 buah naga busuk. Isolat-isolat tersebut yaitu 3 isolat buah naga busuk dan 2 isolat buah naga. Setiap koloni tunggal yang memiliki morfologi berbeda pada hasil isolasi ditumbuhkan pada media HSA secara streak kuadran (5)

Buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) secara taksonomi dalam famili Cacteaceae secara morfologi tanaman buah naga termasuk tanaman yang tidak lengkap karena tidak memiliki daun. Untuk beradaptasi dengan lingkungan gurun, tanaman buah naga memiliki duri disepanjang batang dan cabangnya. Tanaman buah naga merupakan tanaman memanjat dan bersifat empifit. Di habitat aslinya tanaman ini tanaman ini memanjat tanaman lain untuk tumbuh. Meskipun akarnya yang didalam tanah dicabut, tanaman buah naga masih bisa bertahan hidup karena terdapat akar yang tumbuh di batang. Akar udara tersebut mampu menyerap cadangan makanan dari

udara(6). Buah naga merah juga memiliki khasiat antara lain untuk melawan kanker, penyakit jantung, menurunkan tekanan darah dan sebagai antioksidan alami. Adanya khasiat-khasiat tersebut disebabkan oleh kandungan nutrisi dalam buah naga merah yang sangat mendukung bagi kesehatan tubuh manusia.

Buah naga menjadi salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam menghasilkan selulosa bakteri karena memiliki kandungan glukosa yang tinggi, dan merupakan sumber karbon yang baik. Jenis bakteri yang dapat dimanfaatkan dalam memperoleh selulosa yang beragam dengan kualitas dan kuantitas yang baik yaitu acetobacter, aerobacter, azotobacter, dan agrobacterium(7,8). Enzim yang berperan penting dalam produksi selulosa adalah enzim selulase yang merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri atas kompleks endo- β -1,4-glukonase (CMCase, Cx selulase endoselulase atau carboxymethyl cellulase), kompleks ekso- β -1,4-glukonase (aviselase, selobiohidrolase, C1 selulase), dan β -1,4-glukosidase atau selobiase. Enzim selulase dapat menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa. Selulosa merupakan jenis karbohidrat golongan polisakarida. Karbohidrat memegang peranan penting dalam kehidupan yaitu sebagai salah satu sumber utama makhluk

hidup. Karbohidrat terdiri atas kelompok monosakarida, disakarida, dan polisakarida. Karbohidrat yang paling banyak terdapat pada tanaman dan buah (9).

Salah satu faktor yang mempengaruhi produksi selulosa adalah suhu, dimana faktor suhu dapat mempengaruhi reaksi yang dikatalisis oleh enzim melalui dua cara. Pertama, kenaikan suhu dapat meningkatkan energi termal molekul substrat. Kenaikan ini akan menghasilkan sejumlah energi yang dapat melebihi energi aktivasi dan meningkatkan tingkat reaksi. kedua, kenaikan suhu akan mengubah struktur protein yang menyusun enzim sehingga terjadi pemutusan interaksi nonkovalen (ikatan hidrogen, gaya van der Waals dan interaksi lainnya) yang menopang struktur tiga dimensi enzim.

Peningkatan suhu eksternal secara umum akan meningkatkan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim, terutama perubahan pada ikatan ionik dan ikatan hidrogennya sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim tersebut (10). Energi panas yang terlalu tinggi dapat meningkatkan kinetika enzim untuk mencapai titik yang dapat melampaui batas energi yang diperlukan untuk merusa

ikatan kovalen yang menyusun struktur tiga dimensi enzim. Akibatnya rantai polipeptida menjadi tidak terlipat (unfolding) atau derdenaturasi dan disertai dengan penurunan aktivitas katalitik secara drastis. Suatu enzim dapat tetap stabil pada rentang suhu tertentu (11).

Isolat yang diperoleh dari hasil isolasi secara dilusi padat menggunakan medium *Hestrin-Schramm* agar (HSA) dilakukan uji skrining, bertujuan untuk menumbuhkan folikel yang akan dihasilkan dari isolat yang diinkubasi selama 7-14 hari untuk diamati pertumbuhan folikelnya. Folikel yang tumbuh akan berwarna putih yang menandakan isolat tersebut mampu menghasilkan selulosa. Pada uji ini digunakan 5 isolat yang kemudian setelah dilakukan proses isolasi yang menghasilkan folikel putih melayang pada permukaan tabung reaksi dan terjadi kekeruhan. Kriteria ini hanya terjadi pada satu isolat saja yaitu isolat buah naga busuk 04 dengan kode isolat (NB-04).

Hasil optimasi merupakan hal yang diperlukan dalam rangka mengoptimalkan hal yang digunakan agar suatu produksi dapat menghasilkan produk dalam kuantitas dan kualitas yang diharapkan, sehingga tujuannya dapat tercapai. Faktor penting dalam produksi selulosa yang juga perlu dioptimasi adalah suhu media. suhu juga memengaruhi produksi selulosa oleh bakteri, kemungkinan dengan mengubah

sifat fisik membran sel (12). Ragam suhu yang digunakan pada penelitian ini adalah suhu 5°C, suhu 25°C, dan suhu 40 °C. Pengaruh berbagai suhu pada pertumbuhan selulosa ditunjukkan pada terbentuknya folikel dan jumlah atau berat folikel yang dihasilkan. Hasil optimasi tersebut pada sampel buah naga dengan kode isolat NM04 diperoleh kondisi optimal isolat dimana pada suhu 250C diperoleh berat awal yaitu 0.60 g, berat akhir yaitu 1.89 g dengan berat selulosa 1.29 g, sedangkan pada suhu 400C diperoleh berat awal yaitu 0.62 g, berat akhir yaitu 1.82 g dengan berat selulosa 1.20 g. Akteri penghasil selulosa adalah salahsatunya bakteri asam laktat suhu optimumnya antara 30-40⁰C sedangkan bakteri asam asetat suhu optimumnya antara 25-30⁰C. Suhu untuk aktivitas enzim CMC-ase berada pada kisaran suhu inkubasi 25-80⁰C. Peningkatan suhu eksternal secara umum akan meningkatkan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim, terutama perubahan pada ikatan ionik dan ikatan hidrogennya sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim tersebut (8).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh pada penelitian ini dapat

disimpulkan bahwa :

1. Isolat bakteri yang berasal dari Buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) mampu menghasilkan selulosa.
2. Isolat Buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki kemampuan untuk menghasilkan selulosa ialah isolat NB-04.
3. Optimasi suhu buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai penghasil selulosa yaitu pada suhu 25°C.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lapuz MM, Gollardo E.G, Palo M .A. The Organism and Culture Requirements, Characteristics and Identity. The Philippine J Science. 1967;
2. MELLIAWATI R. Pengolahan limbah kulit buah buahan menjadi selulosa oleh bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2. In Masyarakat Biodiversitas Indonesia; 2015.
3. Herwin H, Fitriana F, Nurung AH. ISOLASI BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH-BUAHAN DIPASAR TRADISIONAL MAKASSAR. Jurnal Ilmiah As-Syifaa. 2020 Jul 3;12(1).
4. Sarkono S, Rahman F. KEMAMPUAN PRODUKSI SELULOSA ISOLAT *Gluconacetobacter xylinus* ANG-29 DALAM MEDIA DASAR AIR KELAPA DAN LIMBAH [Internet]. 2017. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/322753555>
5. Umor NA. Isolation and screening of thermo-stable cellulase enzyme fungal producer at different temperature Biobutanol production in two-stage system View project [Internet]. Article in Malaysian Journal of Analytical Sciences. 2015. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/282954578>
6. Emil S. Untung Berlipat Dari Bisnis Buah Naga Unggul. Yogyakarta: Lili Publisher; 2011.
7. Römling U. Molecular biology of cellulose production in bacteria. Vol. 153, Research in Microbiology. 2002.
8. Chawla PR, Bajaj IB, Survase SA, Singhal RS. Microbial cellulose: Fermentative production and applications. Vol. 47, Food Technology and Biotechnology. 2009.
9. Agung M.B. Optimasi Produksi Selulase Dari *Basillus* Sp. BPPT CC RK 2 Menggunakan Metode Respon Permukaan Dengan Variasi C/N Da Waktu Fermentasi. [Indonesia]; 2012.
10. Ayu Saropah D, Jannah A, Maunatin A. KINETIKA REAKSI ENZIMATIS EKSTRAK KASAR ENZIM SELULASE BAKTERI SELULOLITIK HASIL ISOLASI DARI BEKATUL. Vol. 2, ALCHEMY. 2012.
11. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Illustrated Biochemistry, Twenty-Sixth Edition. Harper ' s Illustrated Biochemistry. 2003.
12. Sethi S, Datta A, Gupta BL, Gupta S. Optimization of Cellulase Production from Bacteria Isolated from Soil. ISRN Biotechnology. 2013 Feb 19;2013:1–7.