

**SCREENING BAKTERI PENGHASIL INULINASE YANG HIDUP  
PADA RIZOSFIR DAHLIA (*Dahlia pinnata* Cav.)**

**SKRIPSI**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains*



**Oleh:**

**YELLI SUMARNI  
NIM. 73117**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
2011**

## PENGESAHAN

**Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Tugas Akhir  
Program Studi Biologi Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Padang**

**Judul : *Screening* Bakteri Penghasil Inulinase Yang Hidup Pada  
Rizosfir Dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.)**

**Nama : Yelli Sumarni**

**NIM/BP : 73117/2006**

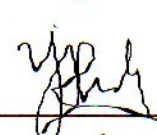
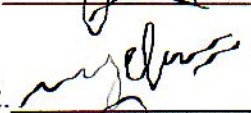
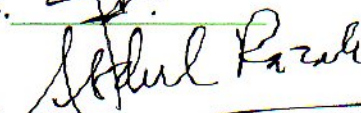
**Program Studi : Biologi**

**Jurusan : Biologi**

**Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

Padang, 27 Januari 2011

Tim Penguji

|               | Nama                          | Tanda Tangan                                                                             |
|---------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Ketua      | : Dr. Yuni Ahda, M.Si         | 1.  |
| 2. Sekretaris | : dr. Elsa Yuniarti, S.Ked    | 2.  |
| 3. Anggota    | : Dr. Ramadhan Sumarmin, M.Si | 3.  |
| 4. Anggota    | : Dr. Abdul Razak, M.Si       | 4.  |
| 5. Anggota    | : Dr. Azwir Anhar, M.Si       | 5.  |

## **PERSETUJUAN SKRIPSI**

***Screening Bakteri Penghasil Inulinase Yang Hidup Pada Rizosfir***

***Dahlia (Dahlia pinnata Cav.)***

Nama : Yelli Sumarni  
BP/NIM : 2006/ 73117  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**Padang, 27 Januari 2011**

**Disetujui Oleh:**

**Pembimbing I**



**Dr. Yuni Ahda, M.Si**  
**NIP.19690629 199403 2 003**

**Pembimbing II**



**Dra. Minda Azhar, M.Si**  
**NIP. 19641124 199112 2 001**

## ABSTRAK

Yelli Sumarni : *Screening* Bakteri Penghasil Inulinase yang Hidup Pada Rizosfir Dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.)

Salah satu sumber pemanis alami yang aman bagi kesehatan adalah fruktosa dalam bentuk *High Fructose Syrup*. Fruktosa 1,7 kali lebih manis daripada sukrosa yang biasa dikonsumsi selama ini. Hidrolisis inulin oleh inulinase menghasilkan 98% fruktosa. Inulinase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme salah satunya bakteri. Untuk mendapatkan bakteri tersebut dilakukan dengan metode *screening*. Melihat permasalahan ini, dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini apakah dapat dilakukan *screening* bakteri penghasil inulinase yang hidup pada rizosfir Dahlia (*D. pinnata* Cav.) Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri penghasil inulinase yang hidup pada rizosfir dahlia dengan metode *screening*.

*Screening* dilakukan dengan menumbuhkan bakteri penghasil inulinase pada media yang mengandung inulin, dimana inulin berperan sebagai sumber karbon satu-satunya bagi bakteri. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk melihat hasil ekstraksi inulin dari umbi dahlia dan isolat bakteri yang hidup pada rizosfir Dahlia (*D. pinnata* Cav.). Hasil ekstraksi inulin digunakan untuk media pertumbuhan bakteri.

Dua isolat bakteri didapatkan dari hasil *screening* dengan karakteristik yang berbeda untuk kedua isolat tersebut. Isolate 1 bentuk sirkular, tepian koloni tidak rata dan pada bagian tengah koloni berwarna kuning. Isolat 2 bentuk sirkular berlapis, tepian koloni rata, dan pada bagian tengah koloni berwarna coklat. Bentuk sel kedua isolat yaitu basil (batang). Kedua isolat ini memperlihatkan reaksi Gram negatif.

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan pengetahuan bagi seluruh umat manusia. Semoga limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya tetap ada pada Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan orang-orang yang mengikuti jejaknya sampai hari akhir.

Skripsi ini berjudul “*Screening* Bakteri Penghasil Inulinase yang Hidup pada Rizosfir Dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.)” merupakan hasil penelitian penulis yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA-UNP. Peneliti menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terwujud tanpa ada bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu peneliti menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si. sebagai pembimbing I
2. Ibu Dra. Minda Azhar, M.Si. sebagai pembimbing II
3. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, M.Si. Bapak Dr. Abdul Razak, M.Si dan Bapak Dr. Azwir Anhar, M.Si sebagai tim penguji
4. Sekretaris Jurusan Biologi FMIPA-UNP
5. Koordinator Seminar Jurusan Biologi FMIPA-UNP
6. Bapak/Ibu staf pengajar Jurusan Biologi FMIPA-UNP
7. Bapak Drs. Sudirman sebagai Pembimbing Akademik
8. Seluruh mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA-UNP dan seluruh pihak yang telah membantu peneliti selama perkuliahan, penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis mengharapkan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi peneliti dan pembaca. Oleh karena itu saran dan kritikan sangat diperlukan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga Skripsi ini dapat menambah pengetahuan semua pihak yang membacanya dan semoga Allah SWT memberikan kemampuan kepada kita untuk bekerja dan memberi nilai manfaat kepada orang lain.

Padang, 27 Januari 2011

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| ABSTRAK .....                                   | i   |
| KATA PENGANTAR .....                            | ii  |
| DAFTAR ISI .....                                | iv  |
| DAFTAR TABEL .....                              | vi  |
| DAFTAR GAMBAR .....                             | vii |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                            | vii |
| BAB I. PENDAHULUAN                              |     |
| A. Latar Belakang .....                         | 1   |
| B. Rumusan Masalah .....                        | 3   |
| C. Tujuan Penelitian.....                       | 4   |
| D. Kontribusi Penelitian.....                   | 4   |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA                        |     |
| A. Tanaman Dahlia .....                         | 5   |
| B. Morfologo Koloni Bakteri.....                | 11  |
| C. Pewarnaan Gram dan Mikroskopik Bakteri ..... | 12  |
| D. Bakteri Penghasil Inulinase .....            | 14  |
| E. <i>Screening</i> Bakteri .....               | 15  |
| BAB III. METODE PENELITIAN                      |     |
| A. Jenis Penelitian.....                        | 18  |
| B. Waktu dan Tempat Penelitian .....            | 18  |

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| C. Alat dan Bahan .....                               | 18 |
| D. Prosedur Penelitian                                |    |
| 1. Persiapan Penelitian .....                         | 19 |
| 2. Pelaksanaan Penelitian .....                       | 19 |
| a. Ekstraksi Inulin .....                             | 19 |
| b. Pembuatan Media.....                               | 20 |
| c. Pengambilan Sampel Bakteri .....                   | 21 |
| d. <i>Screening</i> Bakteri.....                      | 21 |
| e. Pengamatan morfologi dan Mikroskopik.....          | 23 |
| E. Teknik Analisis Data.....                          | 24 |
| F. Bagan Kegiatan Penelitian.....                     | 25 |
| BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN                           |    |
| A. Ekstraksi Inulin .....                             | 26 |
| B. <i>Screening</i> Bakteri Penghasil Inulinase ..... | 27 |
| C. Morfologi Koloni Bakteri.....                      | 30 |
| BAB VI. PENUTUP                                       |    |
| A. Kesimpulan.....                                    | 32 |
| B. Saran.....                                         | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA                                        |    |
| LAMPIRAN                                              |    |

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Sukrosa merupakan salah satu bahan pangan yang cukup penting untuk masyarakat Indonesia. Hal ini dibuktikan dengan semakin meningkatnya permintaan terhadap sukrosa setiap tahun. Permintaan pasar yang tinggi akan sukrosa tidak diimbangi dengan produksinya, sehingga masih dilakukan impor sukrosa setiap tahunnya oleh pemerintah. Produksi sukrosa dalam negeri hanya mencapai 1,7 juta ton setiap tahun, sementara kebutuhan sukrosa meningkat 3,3 juta ton setiap tahunnya. Menurut Wijanarka dan Sutrisna (2007), pemerintah melakukan impor sukrosa untuk mencukupi kebutuhan masyarakat di Indonesia. Keadaan inilah yang mendorong upaya mencari berbagai jenis bahan yang dapat digunakan sebagai pengganti sukrosa untuk bahan pemanis, sehingga banyak diproduksi pemanis alternatif, baik pemanis alami maupun pemanis sintetis. Pemanis sintetis telah diketahui berbahaya bagi kesehatan karena bersifat karsinogenik (Wijanarka dan Sutrisna, 2007). Sehubungan dengan efek yang ditimbulkan, penggunaan pemanis alami lebih diutamakan. Salah satu sumber pemanis alami yang telah dikenal adalah fruktosa.

Fruktosa yang merupakan golongan monosakarida ini lebih disenangi daripada sukrosa yang biasa dikonsumsi selama ini. Menurut Zul dkk (2003), fruktosa merupakan pemanis rendah kalori sehingga aman dikonsumsi oleh penderita penyakit *Diabetes Mellitus*. Sumber pemanis alami yang aman bagi kesehatan adalah fruktosa dalam bentuk *High Fructose Syrup* atau sirup fruktosa.

Sirup fruktosa 1,7 kali lebih manis daripada sukrosa. Konsumsi sirup fruktosa diketahui tidak menyebabkan toksisitas, karsinogenitas dan mortalitas (Wijanarka dan Salamah, 2004).

Fruktosa dapat diproduksi dengan menghidrolisis pati atau inulin yang berasal dari umbi dahlia. Hidrolisis fruktosa dari pati memerlukan tiga reaksi enzimatis  $\alpha$ -amilase, amiloglukosidase, dan invertase. Fruktosa yang dihasilkan dari reaksi tersebut yaitu 45%. Fruktosa yang dihidrolisis dari inulin oleh inulinase menghasilkan 98% fruktosa (Saryono, 2002).

Inulin adalah polisakarida yang dibangun oleh unit-unit monomer fruktosa dengan ikatan  $\beta$ -2-1 fruktofuransida yang diawali oleh satu molekul glukosa. Inulin bersifat larut di dalam air panas, tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan manusia, tetapi dapat difermentasi oleh mikroflora kolon (usus besar) manusia. Oleh karena itu, inulin berfungsi sebagai prebiotik (Widowati, 2006).

Sumber inulin banyak terdapat pada tanaman dahlia yang banyak ditemukan di dataran tinggi. Hidrolisis inulin oleh inulinase menghasilkan 98% fruktosa, oleh karena itu inulinase merupakan komoditi yang sangat potensial untuk dikembangkan (Prayitno dkk, 2000). Inulinase dapat dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme diantaranya bakteri, fungi, yeast, dan tumbuh-tumbuhan penghasil inulin. Produksi inulinase lebih tinggi dan menguntungkan jika menggunakan bakteri. Hal ini karena pertumbuhan bakteri relatif lebih cepat. Mikroorganisme mudah untuk ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik, serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim (Akhdiya, 2003).

Tanah tempat tumbuh tanaman penghasil inulin merupakan tempat berkembangnya mikroorganisme penghasil inulinase (Saryono, 2002). Rizosfir tanaman dahlia merupakan habitat bagi bakteri penghasil inulinase. Untuk mendapatkan bakteri tersebut dapat dilakukan *screening*. *Screening* dapat dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media yang mengandung inulin yang merupakan sumber karbon utama bagi bakteri penghasil inulinase. Hal ini telah berhasil dilakukan oleh Allais *et al.*, (1986).

Bakteri penghasil inulinase yang telah didapatkan, selanjutnya dilakukan pengamatan secara morfologi berdasarkan bentuk koloni. Pengamatan mikroskopik untuk mengetahui sifat gram bakteri.

Berdasarkan uraian di atas peneliti tertarik melakukan penelitian yang berhubungan dengan permasalahan tersebut dengan judul “*Screening* bakteri penghasil inulinase yang hidup pada rizosfir Dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.)

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: Bakteri penghasil inulinase apa saja yang didapatkan dari hasil *screening* pada rizosfir Dahlia (*D. pinnata* Cav.)?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan dan menentukan karakteristik bakteri penghasil inulinase yang di-*screening* dari rizosfir Dahlia (*D. pinnata* Cav.)

#### **D. Kontribusi Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

1. Informasi awal untuk *Screening* bakteri penghasil inulinase yang hidup pada rizosfir Dahlia (*D. pinnata* Cav.).
2. Alternatif lain dalam pembuatan fruktosa menggunakan bahan baku umbi Dahlia (*D. pinnata* Cav.) oleh bakteri penghasil inulinase.
3. Menambah khasanah ilmu pengetahuan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Dahlia**

##### **1. Dahlia**

Penyebaran tanaman dahlia ke Indonesia pertama kali dibawa oleh bangsa Belanda pada zaman kolonialisasi, tepatnya di daerah Lembang dan Cianjur, Jawa Barat. Tanaman ini berkembang sampai ke berbagai daerah sentral bunga potong di wilayah nusantara. Tanaman dahlia ini dapat dikembangkan di dataran menengah sampai dataran tinggi (Rukmana, 2000).

Tanaman dahlia merupakan tumbuhan asli pegunungan Meksiko. Penyebaran tanaman ini diawali pada abad XVI ke Negara Spanyol. Selanjutnya pada tahun 1789 biji dan tanaman dahlia disebarluaskan ke negara-negara Eropa. Meskipun perkembangannya sangat lambat, pada tahun 1841 tanaman dahlia telah memiliki 1200 varietas (Rukmana, 2000).

Di luar negeri, bunga ini mempunyai prospektif sehingga dibentuk kelompok pemerhati bunga dahlia seperti *Dahlia Society of India*, *National Dahlia Society of United kingdom* dan *American Dahlia Society*. Tanaman dahlia yang dibudidayakan terdiri atas dahlia pohon yang tingginya bisa mencapai beberapa meter dan berupa tanaman perdu (tanaman berkayu namun tetap rendah).

Bunga dahlia memiliki berbagai warna diantaranya putih, kuning, jingga, violet, merah, ungu atau campurannya. Diameter bunga terkecil sekitar 5cm sedangkan yang terbesar sekitar 30cm. Spesies Dahlia yang ada saat ini adalah *Dahlia pinnata*, *D. variabilis*, *D. coccinea*, *D. juarezii*. Bunga dahlia kaktus yang

berwarna putih selalu diperdagangkan karena merupakan jenis bunga yang banyak dipakai untuk merangkai bunga duka cita. Jenis dahlia lain yang kaya warna (dahlia besar dan dahlia kecil) dijual di dalam polibag untuk digunakan sebagai tanaman di luar rumah (Anonim, 2000).

Tanaman dahlia banyak ditemukan di dataran tinggi Sumatera Barat. Biasanya tanaman ini menjadi penyemarak di taman atau pekarangan rumah meskipun ada sebagian yang sengaja dibudidayakan pada kebun bunga dan dijadikan sebagai usaha bunga potong. Selain itu tanaman dahlia memiliki potensi besar yang dapat dikembangkan sebagai bahan utama pembuatan sirup fruktosa karena umbi dahlia mengandung inulin yang tinggi yaitu sekitar 65%-70% (Anonim a, 2010).

Dahlia dapat dikembangkan dengan tiga cara, yaitu perbanyakan generatif dengan benih, perbanyakan vegetatif dengan stek, dan dengan umbi. Saat ini telah dikembangkan metode perbanyakan dengan kultur jaringan (Widowati, 2006).



Gambar 1. *D. pinnata* Cav.  
(Foto: Koleksi Pribadi)

Kuntum bunga dahlia muncul pada ujung tanaman. Setiap rumpun tanaman dahlia dapat menghasilkan banyak bunga. Tangkai bunga dahlia tegak berukuran agak panjang yang tersusun dalam rangkaian bunga (Rukmana, 2000).

Klasifikasi dalam Rukmana (2000), sebagai berikut:

Regnum : Plantae  
 Divisio : Spermatophyta  
 Sub division : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Ordo : Asterales  
 Famili : Asteraceae  
 Genus : Dahlia  
 Spesies : *Dahlia pinnata* Cav.

## 2. Komposisi Umbi Dahlia

Table 1. Komposisi Umbi Dahlia dalam Berat Kering

| No | Komposisi           | Jumlah (%) |
|----|---------------------|------------|
| 1. | Inulin              | 65,70      |
| 2. | Abu                 | 4,52       |
| 3. | Protein             | 3,71       |
| 4. | Air                 | 2,97       |
| 5. | Bahan-bahan lainnya | 23,10      |

( Rukmana, 2000).



Gambar 2. Umbi *D. pinnata* Cav.  
 (Foto: Koleksi Pribadi)

Nilai komersial tanaman dahlia sampai saat ini adalah bunga dan umbinya.

Umbi akar dahlia dapat dijadikan sebagai bahan baku industri gula cair atau sirup

fruktosa. Komposisi umbi dahlia terdiri dari inulin, abu, protein, air dan bahan lainnya dengan kandungan inulinnya tiap 100gr umbi dahlia mencapai 65%, 70%.

#### **a. Inulin**

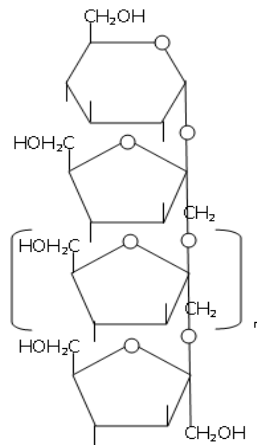
Inulin merupakan suatu polisakarida yang banyak terdapat pada tanaman asal yang mengandung glukosa atau fruktosa dan dapat digunakan dalam industri makanan. Inulin merupakan karbohidrat cadangan dari tanaman Jerusalem artichoke, dandelion, chicory, dahlia dan beberapa anggota famili Compositae lainnya (Allais J.J. *et. al.*, 1986).

Inulin terdapat pada umbi dan akar beberapa tumbuhan diantaranya; Dahlia (*Dahlia sp. L*), umbi Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*), Chicory (*Chicoryum intybus L*), dan Delion (*Taraxacum officinale Weber.*), umbi Yacon (*Smallanthus sanchifolius*), dan dalam jumlah kecil terdapat di dalam bawang merah, bawang putih, asparagus, pisang, dan gandum. Hidrolisis inulin terutama menghasilkan fruktosa. Hidrolisis inulin secara kimia atau enzimatis terbukti telah menghasilkan fruktosa dengan kadar yang tinggi. Pada awalnya hidrolisis inulin dilakukan secara kimia, tetapi cara ini ternyata lebih mahal dan menghasilkan bahan-bahan sampingan yang tak diinginkan dibandingkan hidrolisis secara enzimatis (Ohta *et. al.*, 2004).

#### **b. Sifat dan Struktur Inulin**

Inulin tidak dapat larut dalam air dingin tetapi suhu 50<sup>0</sup>C dapat melarutkan 5% inulin. Molekul ini dapat mengendap dalam campuran etanol-air (Saryono,

2002). Inulin tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim dalam sistem pencernaan manusia sehingga mencapai usus besar tanpa mengalami perubahan struktur. Meskipun demikian, inulin dapat mengalami fermentasi akibat aktivitas mikroflora yang terdapat di dalam usus besar manusia sehingga berimplikasi positif terhadap kesehatan tubuh manusia.



Gambar 3. Struktur inulin (Ohta *et. al.*, 2004)

Di dalam usus besar, hampir seluruh inulin difermentasi menjadi asam-asam lemak rantai pendek dan beberapa mikroflora spesifik menghasilkan asam laktat. Hal ini menyebabkan penurunan pH kolon sehingga pertumbuhan bakteri patogen terhambat. Mekanisme seperti ini berimplikasi pada peningkatan kekebalan tubuh (Widowati, 2006).

### c. Rizosfir

Akar tanaman merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Interaksi antara bakteri dan akar tanaman akan meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi keduanya. Permukaan akar tanaman disebut *rhizoplane*. Sedangkan rizosfir adalah selapis tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih

dipengaruhi oleh aktivitas akar. Tebal tipisnya lapisan rizosfir antar setiap tanaman berbeda. Rizosfir merupakan habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroba oleh karena akar tanaman menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya menstimulir pertumbuhan mikroba. Bahan organik yang dikeluarkan oleh akar dapat berupa:

- 1.) Eksudat akar adalah bahan yang dikeluarkan dari aktivitas sel akar hidup seperti gula, asam amino, asam organik, asam lemak, sterol, faktor tumbuh, nukleotida, flavonon, enzim, dan *miscellaneous*.
- 2.) Sekresi akar adalah bahan yang dipompakan secara aktif keluar dari akar.
- 3.) Lisat akar adalah bahan yang dikeluarkan secara pasif saat autolisis sel akar.
- 4.) Musigel adalah bahan sekresi akar, sisa sel epidermis, sel tudung akar yang bercampur dengan sisa sel mikroba, produk metabolit, koloid organik dan koloid anorganik.

Enzim utama yang dihasilkan oleh akar adalah oksidoreduktase, hidrolase, liase dan transferase. Enzim yang dihasilkan oleh mikroba di rizosfir adalah selulase, dehidrogenase, urease, fosfatase dan sulfatase. Adanya berbagai senyawa yang menstimulir pertumbuhan mikroba, menyebabkan jumlah mikroba di lingkungan rizosfir sangat tinggi. Perbandingan jumlah mikroba dalam rizosfir (R) dengan tanah bukan rizosfir (S) yang disebut nisbah R/S, sering digunakan sebagai indeks kesuburan tanah.

Semakin subur tanah, maka indeks R/S semakin kecil, yang menandakan nutrisi dalam tanah bukan rizosfir juga tercukupi (subur). Sebaliknya semakin tidak subur tanah, maka indeks R/S semakin besar, yang menandakan nutrisi

cukup hanya di lingkungan rizosfir yang berasal dari bahan organik yang dikeluarkan akar, sedangkan di tanah non-rizosfir nutrisi tidak mencukupi (tidak subur). Nilai R/S umumnya berkisar antara 5-20. Mikroba rizosfir dapat memberi keuntungan bagi tanaman, karena beberapa faktor sebagai berikut:

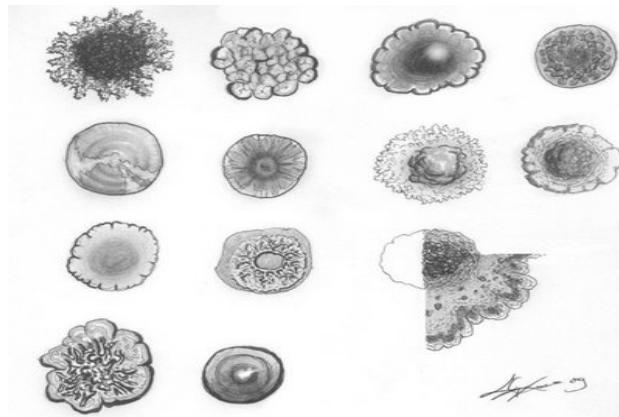
- 1.) Mikroba dapat melarutkan dan menyediakan mineral seperti N, P, Fe dan unsur lain.
- 2.) Mikroba dapat menghasilkan vitamin, asam amino, auksin dan giberelin yang dapat menstimulir pertumbuhan tanaman.
- 3.) Mikroba menguntungkan akan menghambat pertumbuhan bakteri lain yang patogenik dengan menghasilkan antibiotik.

*Pseudomonadaceae* merupakan kelompok bakteri rizosfir (rhizobacteria) yang dapat menghasilkan senyawa yang bisa menstimulir pertumbuhan tanaman. Contoh spesies yang telah banyak diteliti yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman adalah *Pseudomonas fluorescens* (Anonim b, 2010).

## **B. Morfologi Koloni Bakteri**

Koloni tunggal bakteri dapat ditentukan dengan mengamati bentuk koloni bakteri, menentukan diameter koloni, mengamati tepian koloni, elevasi dan sifat permukaan koloni, tidak semua jenis bakteri memiliki koloni yang sama. Bakteri merupakan mikrobial yang biasa ditemukan dalam bentuk koloni. Setiap koloni bakteri mempunyai ciri khas tersendiri. Ciri khas tersebut meliputi bentuk koloni pada suatu media. Media kultur suatu bakteri berpengaruh terhadap kenampakan

koloni suatu bakteri. Beberapa contoh hasil koloni tunggal pada gambar dibawah ini:



Gambar 4. Macam-macam koloni tunggal bakteri (Anonim c, 2010)

### C. Pewarnaan Gram dan Mikroskopik Bakteri

Pewarnaan gram dilakukan untuk membedakan bakteri dalam dua kelompok, gram positif dan gram negatif. Pewarnaan differensial sekurang-kurangnya membutuhkan tiga bahan kimia yang diberikan secara berurutan kepada pulasan yang telah difiksasi dengan panas. Reagen pertama disebut dengan pewarna utama yang berfungsi untuk memberi warna semua sel. Untuk mendapatkan warna yang kontras digunakan reagen kedua yaitu bahan peluntur.

Berdasarkan komposisi kimia komponen sel, bahan peluntur dapat atau tidak dapat membuang warna utama dari seluruh atau hanya dari struktur sel tertentu. Reagen terakhir yaitu pewarna tandingan yang mempunyai warna kontras terhadap warna pertama. Selama pelunturan, jika warna pertama tidak terbuang maka warna tandingan tidak akan diserap dan sel atau komponennya akan tetap

mengikat warna dari pewarna utama. Jika pewarna pertama dibuang, maka komponen-komponen sel yang telah luntur akan menyerap pewarna tandingan.

Dengan demikian tipe atau struktur sel dapat dibedakan berdasarkan warna yang diserapnya. Tahap yang paling kritis dalam pewarnaan gram adalah tahap pelunturan. Perlu diingat bahwa pelunturan yang berlebihan akan mengakibatkan hilangnya pewarna utama, sehingga menyebabkan bakteri gram positif kelihatan seperti gram negatif. Sebaliknya jika pelunturan warna tidak dapat membuang (Tim Mikrobiologi, 2009).

Bila bakteri tumbuh di dalam medium yang tidak cair, maka terjadilah suatu kelompok yang dinamakan koloni. Bentuk koloni berbeda-beda untuk setiap spesies, dan bentuk itu merupakan ciri khas bagi suatu spesies tertentu. Pengamatan bakteri dapat kita lakukan secara individual, satu persatu, maupun secara kelompok dalam bentuk koloni, dan sifat-sifatnya dapat kita ketahui melalui koloni yang tumbuh di medium permukaannya.

Bentuk dasar bakteri terdiri atas:

a. Bakteri Kokus :

- 1) Monokokus yaitu berupa sel bakteri kokus tunggal
- 2) Diplokokus yaitu dua sel bakteri kokus berdempetan
- 3) Tetrakokus yaitu empat sel bakteri kokus berdempetan berbentuk segi empat
- 4) Sarkina yaitu delapan sel bakteri kokus berdempetan membentuk kubus
- 5) Streptokokus yaitu lebih dari empat sel bakteri kokus berdempetan membentuk rantai.

6) *Staphylococcus* yaitu lebih dari empat sel bakteri kokus berdempetan seperti buah anggur.

b. Bakteri Basil

- 1) Monobasil yaitu berupa sel bakteri basil tunggal
- 2) Diplobasil yaitu berupa dua sel bakteri basil berdempetan
- 3) Streptobasil yaitu beberapa sel bakteri basil berdempetan membentuk rantai.

c. Bakteri Spirilia

- 1) Spiral yaitu bentuk sel bergelombang
- 2) Spiroseta yaitu bentuk sel seperti sekrup
- 3) *Vibrio* yaitu bentuk sel seperti tanda baca koma (Anonim, 2008)

#### D. Bakteri Penghasil Inulinase

Mikroba penghasil inulinase dapat diperoleh dengan teknik cawan dari rizosfir tanaman yang akarnya mengandung inulin. seperti *Taraxacum officinarum*, *Helianthus tuberosus* L., *Cichorium intybus* L., *Dahlia pinnata* dan *Helianthus annuus* L., anggota famili Asteraceae. Inulinase (2,1- $\beta$ -D-fruktanohidrolase) menghidrolisis inulin menjadi fruktosa murni, menjadi alternatif yang tepat untuk produksi sirup fruktosa (Nandagopal dan Kumari, 2006).

Produksi inulinase pada bakteri tidak dapat dibandingkan dengan ragi dan jamur. Adanya kemampuan bakteri untuk dapat bertahan hidup pada suhu tinggi telah diusahakan untuk memproduksi inulinase termotabil.

Inulinase yang dihasilkan oleh beberapa strain stabil pada suhu 70<sup>0</sup>C dan hanya aktif pada temperatur antara 45<sup>0</sup>C-55<sup>0</sup>C. Suatu  $\beta$ -fructofuranosidase telah berhasil dimurnikan dari *Arthrobacter sp.* yang optimal pada pH 6 dan suhu 50<sup>0</sup> C. Takashi *et al* (1985) telah berhasil memurnikan suatu eksoinulinase dari *Streptococcus salivarius* ( $\beta$ -D-Fructan Fructohydrolase, E.C. 3.2.1.80). pH optimum dari enzim ini adalah 7 (Singh dan Gill, 2006).

Park *et. al.*, (1999), melaporkan sebuah strain inulinolitik dari *Xanthomonas sp* mampu memproduksi endoinulinase. Endoinulinase tersebut aktif pada temperatur 45<sup>0</sup>C dan pada pH 6,0. Selanjutnya juga berhasil dimurnikan *X. oryzae*. Bakteri ini mampu memproduksi endoinulinase ekstraseluler dengan berat molekul 139 kDa. Enzim ini mampu mengubah inulin menjadi inulooligosakarida. Enzim ini aktif maksimal pada suhu 50<sup>0</sup> C dan pH 7,5.

#### **E. Screening Bakteri**

Di alam, hampir semua jenis bakteri atau jamur termasuk jenis yang patogen, secara alami hidup dengan berasosiasi dengan jenis lainnya. Oleh karena itu, kultur yang pertama kali diambil dari suatu sumber merupakan suatu kultur campuran yang terdiri dari beberapa jenis yang berbeda. Akan tetapi, di laboratorium berbagai jenis tersebut dapat dipisahkan antara satu jenis dengan jenis lainnya dan ditumbuhkan sendiri. Suatu kultur mikroba yang hanya berisi satu jenis disebut kultur murni (Burdon, 1966).

Biakan murni terdiri dari satu populasi sel yang semuanya berasal dari satu sel induk (Pelczar, 2006). Suatu mikroorganisme yang akan dipelajari harus dalam bentuk kultur murni. Proses untuk memperoleh suatu kultur murni dengan pemisahan satu jenis bakteri atau fungi dari suatu campuran dengan jenis lainnya disebut dengan isolasi mikroba (Burdon, 1966).

Untuk mengisolasi suatu spesies mikroorganisme dikenal beberapa cara, yaitu:

a. Dengan pengenceran

Cara ini pertama kali dilakukan oleh Lister pada tahun 1865. Suatu sampel dari suatu suspensi yang berupa campuran bermacam-macam spesies diencerkan dalam suatu tabung yang tersendiri. Dari hasil pengenceran ini kemudian di ambil kira-kira 1mL untuk diencerkan lebih lanjut. Jika dari pengenceran yang ketiga ini diambil 0,1ml untuk disebarkan pada suatu medium padat, kemungkinan besar kita akan mendapatkan beberapa koloni yang akan tumbuh dalam medium tersebut, akan tetapi mungkin juga kita hanya akan memperoleh satu koloni saja. Dalam hal yang demikian ini dapat kita jadikan piaraan murni. Jika kita belum yakin bahwa koloni tunggal yang kita peroleh tersebut merupakan koloni yang murni, maka kita dapat mengulang pengenceran dengan menggunakan koloni ini sebagai sampel.

b. Dengan penuangan

Pertama kali diperkenalkan oleh Robert Koch (1843-1905). Metode ini dilakukan dengan mengambil sedikit sampel campuran bakteri yang mudah diencerkan, dan kemudian di sebar di dalam suatu medium. Dengan demikian

akan diperoleh suatu biakan adukan. Setelah medium tersebut mengental maka selang beberapa jam kemudian akan terbentuk koloni yang masing-masing dapat dianggap murni. Dengan mengulang perlakuan di atas, akan diperoleh biakan murni yang lebih terjamin (Anonim, 2009).

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Dari hasil *screening* bakteri penghasil inulinase yang telah dilakukan didapatkan 2 isolat bakteri penghasil inulinase yaitu Y1 dan Y2 yang hidup pada rizosfir Dahlia (*Dahlia pinnata* Cav.) dengan karakteristik yang berbeda. Isolat Y1 bentuk sirkular (seperti lingkaran), dengan diameter kurang dari  $\pm 2\text{mm}$ , tepian koloni tidak rata, pada bagian tengah koloni berwarna kuning. Isolat Y2 bentuk sirkular berlapis, ukuran  $\pm 2\text{mm}$ , tepian koloni rata, warna pada bagian tengah koloni coklat. Kedua isolat ini menunjukkan reaksi Gram negatif dengan sel berbentuk batang.

#### **B. Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, disarankan melakukan penelitian lanjutan untuk menguji aktivitas inulinase yang dihasilkan oleh bakteri penghasil inulinase yang hidup pada rizosfir Dahlia (*D. pinnata* Cav.).

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya, A. (2003). "Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil". *Buletin Plasma Nutfah*. (Vol.9 No.2)
- Allais, J.J. *et al.* (1986). "Isolation and Characterization of Bacterial Strains with Inulinase Activity". *Applied and Environmental Microbiology*. (Vol.52 No.5)
- Anonim. (2000). Ttg Budidaya Pertanian Dahlia (*Dahlia* spp. L.). Jakarta: Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Anonim a. (2010). "Dahlia". [http://www.Warintekjogja.com/Warintek/Warintekjogja/Warintek\\_V3/datadigital/bk/dahlia](http://www.Warintekjogja.com/Warintek/Warintekjogja/Warintek_V3/datadigital/bk/dahlia). Pdf. (online). Diunduh 20 Februari 2010.
- \_\_\_\_\_.b. (2010). "Mikroba dan Kesuburan Tanah". [http://www.Warintekjogja.com/Warintek/Warintekjogja/Warintek\\_V3/datadigital/bk/dahlia](http://www.Warintekjogja.com/Warintek/Warintekjogja/Warintek_V3/datadigital/bk/dahlia). Pdf. (online). Diunduh 25 Februari 2010.
- \_\_\_\_\_.c. (2010). "Morfologi koloni bakteri". <http://ekmonsauros.blogspot.com> 2009/05/pentingnya penggambaran morfologi. Diunduh 10 mei 2010
- Anonim . (2008). Bakteri – Ciri ciri, Struktur, Perkembangbiakan, Bentuk dan Manfaatnya. (online). Diunduh 25 Februari 2010.
- Anonim. (2009). "Teknik Isolasi Mikroorganisme". <http://www.firebiology07.wordpress.com>. Diakses 29 Mei 2010.
- Burdon, K.L. (1966). *Microbiology* 5<sup>th</sup> edition. USA: The Macmillan Company.
- Castro, G.R., Baigori, M.D. dan Sineriz, F. (1995). " A Plate Technique for Screening of Inulin Degrading Microorganism". *Journal of Microbiological Methods* 22. Hal 51-56.
- Nandagopal, S., dan Kumari, R.B.D. (2006). "Enhancement of Inulinase Production from Chicory and Fenugreek Rhizosphere Soil". *American-Eurasian Journal Agriculture & Environment Science*. (Vol.1 No.3).
- Ohta, K., Akimoto, H. dan Mariyama, S. (2004). "Fungal Inulinases: Enzymologi, Molecular Biology and Biotechnology. *Glycosci*. (Vol. 51)