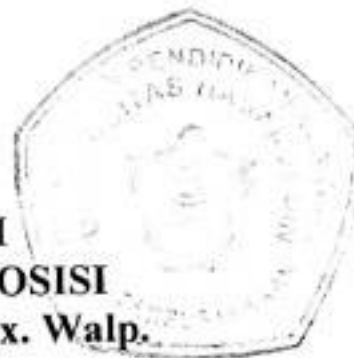


**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
YANG BERPERAN PADA PROSES DEKOMPOSISI
DAUN GAMAL *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. ex. Walp.**



OLEH

**FATMAWATI
H411 01 039**

Tgl. Pengambilan	01/7/06
Aspek	FAK MIPA
Jumlah	1 (satu) ekster
Harga	71
No. Inventaris	715/01-7-0
No. Kls	



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
YANG BERPERAN PADA PROSES DEKOMPOSISI
DAUN GAMAL *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. ex. Walp.**

OLAH

**FATMAWATI
H411 01 039**

SKRIPSI

*Sebagai salah satu tugas akhir dan syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains pada
program studi Biologi*

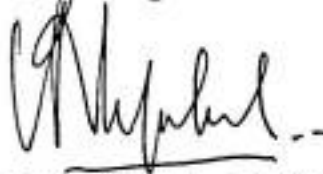
**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
YANG BERPERAN PADA PROSES DEKOMPOSISI
DAUN GAMAL *Glyricidia sepium* (Jaqc.) Kunth. ex. Walp.

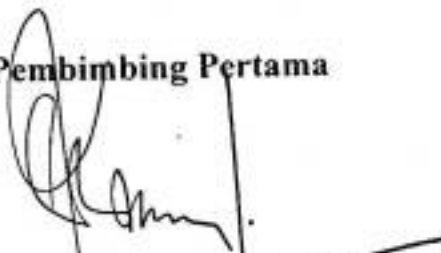
Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama



Dra. Risco B. Gobel, M.S.
NIP : 130 785 082

Pembimbing Pertama



Drs. As'adi Abdullah, M.Si
NIP : 131 846 414

Pembimbing Kedua



Dra. Elis Tambaru, MSi
NIP : 131 876 918

KATA PENGANTAR



Syukur Alhamdulillah, Penulis panjatkan kehadiran Rabb alam semesta Allah Azza Wajalla yang senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah, serta kemudahan kepada hamba-Nya, sehingga atas izin dan pertolongan-Nya skripsi ini dapat disusun sebagaimana mestinya.

Penyusunan tugas akhir ini dapat terealisasikan dengan baik berkat bimbingan, dorongan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karenanya Penulis dengan segala kerendahan hati menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang seting-tingginya kepada **Ibu Dra. Risco B. Gobel. M.S.** selaku Pembimbing Utama, **Bapak Drs. As'adi Abdullah M.Si.** selaku Pembimbing Pertama dan **Ibu Dra. Elis Tambaru** selaku Pembimbing Kedua yang secara bersama-sama dengan sabar dan penuh perhatian memberikan petunjuk, bimbingan, bantuan serta dorongan moril selama Penulis menjalani penelitian hingga terselesaikannya penyusunan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada **Ibu Irma Andriani S.Pi. M.Si** selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan bimbingan dan dorongan selama mengikuti pendidikan.

Terkhusus untuk kedua orang tua tercinta Ayahanda **Singke** dan Ibunda **Sajiyem**, adik-adik tersayang **Ani, Yan** dan **Tika**, ribuan terima kasih atas segala dukungan, kasih sayang, do'a yang tulus, juga pengertiannya yang selama ini selalu menyertai Penulis serta **Agil** dan **Dika** yang *lucu dan selalu mewarnai hari-hariku.*

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

- ❖ **Bapak Prof. Dr. H. Alfian Noor** selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin beserta staf yang telah memberikan bimbingan kepada Penulis selama mengikuti pendidikan.
- ❖ **Bapak Drs. Karunia Alie** selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin beserta **staf pegawai** dan **staf dosen** atas bimbingan yang telah diberikan kepada Penulis.
- ❖ **Ibu Ir. St. Halisa Hanna** yang banyak membantu Penulis selama penelitian di Laboratorium.
- ❖ **Bapak Yusuf Lahadassy** yang banyak membantu selama penelitian.
- ❖ Adik-adik **mahasiswa Biologi**, teristimewa untuk **Muhlis** dan rekan-rekan angkatan 2001 : **Sumarni, Nursyaharillah, Syumi, Serli, Santi, Hikma, Saiful, Nanda, Nurnaningsih, Yusmiati, Titis dan Deva, Nurul, Misna, Tuty, Musda, Vendi, Subair, Praba, Anita, Sadly** serta semua tanpa terkecuali.

Akhirnya, semoga dalam kesederhanaannya, tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Makassar, Juni 2006

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri yang berperan pada proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. Ex Walp, yang dilaksanakan pada bulan Maret-April 2006 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar. Penelitian ini mencakup isolasi dan perhitungan jumlah total bakteri dengan metode Standart Plate Count (SPC). Pengamatan koloni bakteri dilakukan secara makroskopis dengan melihat bentuk, elevasi, tepi, warna dan struktur dalam, pengamatan mikroskopis dilakukan dengan melakukan pengecatan gram dan pewarnaan spora serta dilakukan uji biokimia. Dari hasil uji biokimia diketahui bahwa bakteri yang berhasil diisolasi ada 5 genus bakteri yang berperan dalam dekomposisi tersebut yaitu *Clostridium*, *Bacillus*, *Mikrobacterium*, *Nocardia* dan *Cellulomonas*. Dari kelima genus bakteri tersebut hanya *Clostridium* yang mampu berperan sampai minggu-6 proses dekomposisi *Bacillus* sampai pada minggu-4 sedangkan *Mikrobacterium*, *Nocardia* dan *Cellulomonas* dijumpai pada minggu-1 sampai pada minggu-5.

Kata kunci : Bakteri, isolasi dan identifikasi, dekomposisi *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. ex. Walp.

ABSTRACT

A research about the isolation and identification bacteria in the process of decomposition on Gamal leaf *Glyricida sepium* (Jacq.) Kunth. ex Walp has been done from March to April 2006 at Microbiology Laboratory, Biology Department, Faculty of Math and Science, Hasanuddin University, Makassar. This research started from isolation and conducted the calculation of total bacteria with Standard Plate Count (SPC). The observation to bacteria colony has been done with macroscopy by seeing the form, elevation, color and structure from the colony, microscopy observation conducted by painting Gram and spora color and also biochemical test. The result of biochemical test has been founding 5 group bacteria an important to decomposite, that is *Clostridium*, *Bacillus*, *Microbacterium*, *Nocardia* and *Cellulomonas*. From that 5 group bacteria, only *Clostridium* capable to survive until 6 weeks of decomposite process. *Bacillus* found in 4 weeks and *Microbacterium*, *Nocardia* and *Cellulomonas* found in 1 week until 5 weeks.

Key words: Isolation and identification, decomposite, *Glyricida sepium* (Jacq.) Kunth. ex. Walp.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Tujuan Penelitian.....	2
I.3. Waktu dan Tempat Penelitian	2
I.4. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	
II.1. Uraian Umum Tanaman Gamal	4
II.2. Pengertian Dekomposisi	5
II.3. Proses Pengomposan Sebagai Aktifitas Mikroorganisme	7
II.4. Faktor-Faktor yang mempengaruhi Aktifitas Mikroorganisme	
II.4.1. Suhu.....	12

II.4.2. pH	13
II.6. Metode Identifikasi Mikroorganisme.....	13
BAB III. METODE PENELITIAN.....	
III.1. Alat	18
III.2. Bahan	18
III.3. Cara Kerja.....	19
III.3.1. Sterilisasi Alat.....	19
III.3.2. Pembuatan Medium	19
III.3.3. Proses Dekomposisi Sampel yang digunakan	22
III.3.4. Pengambilan Sampel	22
III.3.5. Parameter yang diamati	23
III.3.6. Pemiakan Bakteri.....	23
III.3.7. Pengamatan Dan Karakterisasi	
A. Pengamatan Makroskopis Bakteri.....	24
B. Pengamatan Mikroskopis	24
C. Uji Biokimia	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
IV.1. Perhitungan Jumlah Total bakteri Dengan metode SPC	28
IV.2. Pengukuran suhu dan pH.....	29
IV.3. Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Bakteri secara Makroskopis	31
IV.4. Pengamatan Morfologi Isolat Bakteri secara Mikroskopis	39
IV.4.1. Pengecatan Gram.....	39

IV.4.2. Pewarnaan Spora	41
IV.5. Pengamatan Uji Biokimia Isolat Bakteri	41
IV.6. Peranan Bakteri selama Proses Dekomposisi	57
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	61
V.1. Kesimpulan	61
V.2. Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil perhitungan rata-rata jumlah total bakteri dengan menggunakan metode SPC selama proses dekomposisi daun gamal <i>Glyricidia sepium</i>	28
2. Hasil pengukuran pH dan suhu selama proses dekomposisi daun gamal <i>Glyricidia sepium</i>).....	29
3. Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) Minggu-0.....	32
4. Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) minggu-1	33
5. Pengamatan morfologi koloni isolasi bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) minggu-2	34
6. Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) minggu-3	36
7. Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) minggu-4	37
8. Pengamatan morfologi koloni isolasi bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) minggu- 5	38
9. Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>) minggu-6	39
10. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai sebelum dekomposisi (minggu-0) daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>).....	43
11. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-1 (K1) dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	43
12. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-2 (K2) dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	44
13. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-3 (K3) dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	44

14. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-4 (K4) dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	45
15. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-5 (K5) dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	45
16. Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-6 (K6) dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	46
17. Jumlah dan genus bakteri yang berperan pada dekomposisi daun gamal (<i>Glyricidia sepium</i>)	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Penampakan morfologi koloni isolat bakteri pada medium NA cawan umur 24 jam	40
2. Pengamatan uji H ₂ S, Laktosa, sukrosa dan glukosa pada medium TSIA.....	48
3. Pengamatan uji motilitas dan indol pada medium SIMA	49
4. Uji Methyl Red terhadap isolat bakteri pada medium MR-VP.....	50
5. Hasil uji sitrat pada medium SCA.....	52
6. Uji reduksi nitrat	55
7. Tanaman gamal	69
8. Daun gamal	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja.....	64
2. Contoh perhitungan SPC.....	65
3. Uji fisiologi/biokimia bakteri menurut Holt <i>at al</i> (1994) dan Mc Fadden (1981).....	65
4. Bahan-bahan untuk medium	66
5. Skema Uji Biokimia.....	68

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Salah satu habitat mikroba dalam ekosistem daratan adalah tanah. Berbagai mikroba dapat ditemukan misalnya bakteri, jamur, khamir, mikroalgae, dan protozoa yang merupakan bagian dari tanah dan memegang peranan penting dalam menentukan bentuk, tekstur dan kesuburan tanah. Proses dekomposisi merupakan salah satu proses yang melibatkan mikroorganisme, dimana dalam proses tersebut bahan organik berupa sisa tumbuhan dan hewan yang berada di permukaan tanah akan diuraikan menjadi humus yang merupakan sumber unsur-unsur kimia.

Pengelolaan kesuburan tanah selama ini hanya ditekankan pada penggantian hara dengan penambahan pupuk anorganik berkonsentrasi tinggi secara berlebihan tanpa adanya upaya untuk mempertahankan tanah secara menyeluruh yang mencakup kesuburan fisik, kimia maupun biologi tanah.

Bahan organik dari daun gamal (*Glyricidia sepium* (Jacq). Kunth ex. Walp) mempunyai kandungan nitrogen yang cukup tinggi dengan C/N rendah, menyebabkan tanaman ini mudah mengalami dekomposisi. Tanaman ini mudah diperoleh dan berpeluang untuk tersedia lebih banyak dalam lingkungan. Keunggulan tanaman ini antara lain adalah 1). dapat dengan mudah dibudidayakan, 2). pertumbuhannya cepat. 3). berpotensi sebagai tanaman konservasi (Anonim, 2002).

Berbagai peranan mikroorganisme tanah diantaranya dalam menghasilkan senyawa-senyawa organik dengan bobot molekul rendah (Rao, 1994) dan dengan mempertimbangkan potensi bahan organik daun gamal dan peranan beberapa jenis mikroorganisme tanah terutama yang berhubungan dengan ketersediaan hara tanaman maka perlu diupayakan keterpaduan diantara keduanya dalam bentuk pupuk organik.

Pada proses dekomposisi, bakteri dan jamur memegang peranan yang sangat penting. Dari hasil penelitian tentang pembuatan kompos jerami untuk media tanam jamur merang (*Volvariella volvaceae*) menunjukkan bahwa jamur dan bakteri memiliki kemampuan untuk melakukan biodegradasi yang akan mengakibatkan terjadinya kenaikan suhu seiring dengan proses dekomposisi yang dilakukannya.

Atas pertimbangan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri yang berperan dalam proses dekomposisi daun gamal.

1.2. Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang berperan pada proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. ex. Walp.

1.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar dari bulan Maret - April 2006.

I.4. Manfaat penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mengenai bakteri yang berperan pada proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium* (Jaqc.) Kunth. Ex. Walp.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA



II. 1. Uraian Umum Tanaman Gamal

Menurut Tjitrosoepomo (2000), klasifikasi tanaman gamal adalah sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Subclassis	: Dialypetalae
Ordo	: Rosales
Familia	: Papilionaceae
Genus	: <i>Glyricidia</i>
Spesies	: <i>Glyricidia sepium</i> (Jacq). Kunth. ex. Walp

Tanaman gamal merupakan tanaman berbatang tunggal dengan ketinggian hingga mencapai 2 - 25 m. Batang tegak dan pangkalnya berdiameter 5 - 30 cm dengan atau tanpa cabang di dekat pangkal tersebut. Kulit batang berwarna coklat keabu-abuan dengan alur-alur kecil pada batang yang telah tua. Daun majemuk menyirip, panjang 19 - 30 cm, terdiri dari 7 - 17 helai anak daun. Anak daun saling berhadapan, panjang 4 - 8 cm dengan ujung runcing. Bunga berwarna merah muda sampai kemerahan dengan panjang 2,5 - 15 cm. Buah polong, panjang sekitar 10 - 17

cm, berwarna coklat kemerahan, tangkai buah pendek dan tiap buah terdapat 3 - 10 biji polong (Joker, 2005).

Hasil penelitian diketahui bahwa daunnya sangat mudah terdekomposisi, sehingga sangat baik untuk dijadikan pupuk. Selanjutnya dijelaskan juga bahwa gamal sebagai pupuk hijau mengandung N 3,64 %, P 0,31 % dan K 0,77 % (Martroatmojo, 1983).

Tanaman gamal mengandung berbagai senyawa, salah satunya yaitu tanin. Tanin berikatan dengan protein. Komponen lainnya yaitu : Aformosin (suatu isoflavan yang merupakan anti tumor), formononetin, Gliricidin-6a, Gliricidin-9a, medicarpin (suatu antifungal), 7,4-dihidroxy-3, -methoxysoflavin, 2, -methylsepiol, 7, 3,, 4, - Trihidroxyflavanone. Tanin dilaporkan berpotensi sebagai antidisentri, antifungal, mencegah kanker, dan juga pestisida (Anonim, 2002).

Menurut Ma'sum dkk.(2003), bahan organik yang terdapat di dalam tanah terutama berasal dari sisa – sisa jaringan tanaman yang umumnya mengandung karbohidrat dari bentuk monosakarida hingga polisakarida, lignin, senyawa-senyawa yang mengandung N, lemak dan mineral. Komposisi jaringan tanaman segar tersusun atas selulosa (20% - 50%), hemiselulosa (10% - 30%), lignin (5% - 30%), protein (1% - 5%), zat-zat terlarut seperti gula, asam organik asam-asam amino (1% - 10%).

II. 2. Pengertian dekomposisi

Dekomposisi didefinisikan sebagai proses biologi oleh kegiatan mikroorganisme dalam mengurai bahan organik menjadi humus. Bahan yang

cm, berwarna coklat kemerahan, tangkai buah pendek dan tiap buah terdapat 3 - 10 biji polong (Joker, 2005).

Hasil penelitian diketahui bahwa daunnya sangat mudah terdekomposisi, sehingga sangat baik untuk dijadikan pupuk. Selanjutnya dijelaskan juga bahwa gamal sebagai pupuk hijau mengandung N 3,64 %, P 0,31 % dan K 0,77 % (Martoatmojo, 1983).

Tanaman gamal mengandung berbagai senyawa, salah satunya yaitu tanin. Tanin berikatan dengan protein. Komponen lainnya yaitu : Afromosin (suatu isoflavan yang merupakan anti tumor), formononetin, Gliricidin-6a, Gliricidin-9a, medicarpin (suatu antifungal), 7,4'dihidroxy-3, -methoxysoflavin, 2, -methylsepiol, 7, 3,, 4, - Trihidroxyflavanone. Tanin dilaporkan berpotensi sebagai antidisentri, antifungal, mencegah kanker, dan juga pestisida (Anonim, 2002).

Menurut Ma'sum dkk.(2003), bahan organik yang terdapat di dalam tanah terutama berasal dari sisa – sisa jaringan tanaman yang umumnya mengandung karbohidrat dari bentuk monosakarida hingga polisakarida, lignin, senyawa-senyawa yang mengandung N, lemak dan mineral. Komposisi jaringan tanaman segar tersusun atas selulosa (20% - 50%), hemiselulosa (10% - 30%), lignin (5% - 30%), protein (1% - 5%), zat-zat terlarut seperti gula, asam organik asam-asam amino (1% - 10%).

II. 2. Pengertian dekomposisi

Dekomposisi didefinisikan sebagai proses biologi oleh kegiatan mikroorganisme dalam mengurai bahan organik menjadi humus. Bahan yang

terbentuk mempunyai berat volume yang lebih rendah dari bahan dasarnya, bersifat stabil, dekomposisi lambat dan sebagai sumber pupuk organik (Sutanto, 2002 : Subroto dan Yusrani, 2005).

Sutedjo dkk., (1991) menyatakan bahwa bahan-bahan tanaman yang tinggi kandungan nitrogennya dengan cepat didekomposisi, sebagian besar nitrogen dibebaskan sebagai amonia dan sedikit humus ditinggalkan. Bahan-bahan yang rendah kandungan nitrogennya didekomposisi secara lambat. Tanaman polong-polongan diketahui mengandung kadar nitrogen yang tinggi dibandingkan dengan tanaman lain (Sugito dkk., 1995).

Ma'sum dkk. (2003) menggambarkan proses dekomposisi beberapa bahan organik sebagai berikut :

❖ **Sellulosa**

Pada penguraian selulosa, sebagai hasil pertamanya adalah disakarida sellobiose, yang selanjutnya akan dihidrolisis menjadi glukosa. Glukosa yang terbentuk di dalam tanah akan digunakan oleh mikroba tanah sebagai sumber C dan energi dan sebagian lagi akan bereaksi dengan C-organik, dan yang lainnya membentuk zat humus. Mikroorganisme yang berperan dalam dekomposisi selulosa antara lain : *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Cellulomonas*, *Chromobacterium*, *Bacillus*, *Athrobacter*, *Clostridium*, dan *Micromonospora*. Sedangkan dari kelompok fungi antara lain: *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Penicillium* dan *Fusarium*.

❖ Hemiselulosa

Kajian mengenai senyawa ini telah banyak dilakukan, hasilnya menunjukkan bahwa senyawa tersebut mudah diuraikan menjadi senyawa C-organik yang melibatkan beberapa enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Berbagai macam fungi, aktinomicetes, dan bakteri menghasilkan hemiselulose yang menghancurkan hemiselulosa. *Bacillus*, *Streptomyces*, *Verticellum* dan *Clostridium* adalah organisme yang merombak pektin.

❖ Lignin

Lignin adalah senyawa organik yang sifatnya sangat resisten terhadap proses penguraian. Mikroba yang berperan dalam menguraikan lignin adalah fungi. Jamur akar putih (*white-rot fungi*) merupakan mikroba yang paling aktif pada penguraian lignin. Jamur akar putih yang lignolitik dikenal terdapat beberapa kelompok, misalnya *Coriolus*. Kelompok lainnya yang dapat menguraikan lignin adalah *soft-rot fungi* yaitu *Chaetomium* dan *Preussia*. Dari kelompok bakteri yaitu *Streptomyces*, *Nocardia* dan *Pseudomonas*.

II.3. Proses Pengomposan sebagai Aktifitas Mikroorganisme

Kompos sebagaimana diketahui tak lain dari hasil pelapukan bahan-bahan berupa daun-daunan, jerami, alang-alang, rumput, kotoran hewan, sampah, dan lain sebagainya yang proses pelapukannya bisa dipercepat dengan bantuan manusia. Tetapi secara garis besar pengomposan berarti merangsang perkembangan bakteri atau jasad-jasad renik melakukan penghancuran bahan-bahan yang dikomposkan sehingga menjadi senyawa lain. Hasil terpenting dari penguraian bahan-bahan

tersebut ialah unsur hara yang terikat dalam senyawa organik yang sukar larut diubah menjadi senyawa organik yang mudah larut sehingga berguna bagi tanaman (Sutedjo dkk., 1991).

Kompos terbuat dari bahan organik yang berasal dari bermacam-macam sumber. Bahan dasar kompos mengandung selulosa 15%-16%, hemiselulosa 10% - 30%, lignin 5%-30%, protein 5%-40%, bahan mineral (abu) 3%-5% dan terdapat juga bahan larut air panas dan dingin (gula, pati, asam amino, urea, garam amonium) sebanyak 2%-30% dan 1%-15% lemak larut eter dan alkohol, minyak dan lilin. Komponen organik ini mengalami proses dekomposisi di bawah kondisi mesofilik dan termofilik. Pengomposan dengan menggunakan metode timbunan di permukaan tanah, lubang galian tanah menghasilkan bahan yang terhumifikasi berwarna gelap setelah 3 – 4 bulan dan merupakan sumber bahan organik bagi tanaman (Sutanto, 2002).

Pembuatan kompos diperlukan waktu sekitar 3-4 bulan. Namun waktu ini dapat juga dipercepat menjadi 4-6 minggu dengan memberi tambahan aktivator berupa bakteri pengurai (Murbandono, 2004). Soeyanto (1983) dan Russel (1973) mengemukakan bahwa cara pembuatan kompos adalah sebagai berikut: bahan kompos ditimbun secara berlapis-lapis dalam bak tempat pengomposan yang diberi alas dengan tanah setebal 2-3 cm, tiap lapisan bahan kompos tebalnya 30 cm, kemudian di antara lapisan bahan kompos tersebut diberikan pupuk kandang, pupuk buatan (urea), kapur dan tanah lapisan atas (top soil).

Bahan organik yang berasal dari sisa-sisa tanaman dan kotoran hewan mengalami proses perombakan oleh mikroorganisme. Akibatnya, sebagian besar zat arang akan hilang, menguap ke udara. Kadar senyawa N yang larut (amoniak) akan meningkat. Peningkatan ini tergantung pada perbandingan C/N bahan asal.

Ada tiga faktor utama yang mempengaruhi laju dekomposisi (Deshmukh, 1992), yaitu :

1. Kualitas material yang diuraikan (misalnya kayu akan terurai lambat dibanding dengan daun)
2. Lingkungan abiotik
3. Organisme - organisme pengurai, yang seluruh aktivitasnya ditunjukkan oleh respirasi tanah.

Faktor-faktor abiotik tidak hanya mempengaruhi dekomposisi, tetapi juga mampu menyebabkan penghancuran langsung seresah itu. Sifat dan ukuran bahan asal, kandungan N, P, C, dan K bahan asal, kandungan kelembaban tanah, temperatur, pH, dan aerasinya, ciri – ciri mikroorganisme yang terlibat, dan adanya senyawa – senyawa penghambat (seperti tanin) merupakan sebagian faktor – faktor utama yang dapat mempengaruhi laju dekomposisi bahan organik (Deshmukh, 1992; Rao, 1994).

Dwijosoepuro (1976) melaporkan bahwa cendawan yang memegang peranan penting pada penguraian bahan organik adalah :

- a. *Ceratimyxa fruticulosa*, hidup pada daun-daun yang sudah lapuk dan dapat membantu proses pengomposan.

- b. *Dipodascus*, *Saccharomyces* dan *Albicus*, dapat menguraikan senyawa-senyawa organik.

Pada umumnya dekomposisi paling cepat terjadi di lingkungan tropika yang lembab. Di daerah tersebut dekomposisi seresah berlangsung sepanjang tahun, sedangkan di daerah iklim sedang dekomposisi itu sebenarnya akan terhenti selama musim dingin, karena suhu rendah. Akan tetapi di lingkungan tropika musiman dekomposisi akan terhenti sama sekali selama musim kering, terutama bilamana tidak ada rayap (Deshmukh, 1992).

Organisme tanah melaksanakan dua proses yang berlainan dalam dekomposisi. Yang pertama, pengecilan (comumination) adalah reduksi ukuran partikel organik, yang terjadi berkat aktifitas makan binatang-binatang tanah. Kedua, katabolisme (catabolism) adalah pemecahan secara biokimia molekul organik kompleks karena proses pencernaan fauna dan mikroflora tanah (Deshmukh, 1992)

Selama proses dekomposisi berlangsung, perubahan secara kualitatif dan kuantitatif terjadi, pada tahap awal akibat perubahan lingkungan beberapa spesies flora menjadi aktif dan berkembang dalam waktu singkat, dan kemudian hilang untuk memberikan kesempatan pada jenis lain untuk berkembang (Sutedjo dkk., 1991). Pada minggu kedua dan ketiga, kelompok fisiologi yang berperan aktif dalam proses pengomposan dapat diidentifikasi : bakteri $10^9 - 10^7$, bakteri amonifikasi 10^4 , proteolitik 10^4 , pektinolitik 10^3 dan bakteri penambat Nitrogen 10^3 . Mulai hari ke-7 kelompok mikroba tinggi dan setelah hari ke-14 terjadi penurunan jumlah kelompok. Kemudian terjadi kenaikan populasi kembali selama minggu ke-4. Mikroorganisme

yang berperan adalah mikroorganisme selulolitik, lignolitik dan fungi (Sutanto, 2002).

Rao (1994) dan Sutanto dkk. (2002) menjelaskan bahwa proses dekomposisi ada dua macam, yaitu :

a. Proses Dekomposisi Secara Aerob

Dalam sistem ini, kurang lebih 2/3 unsur karbon (C) menguap menjadi CO₂ dan sisanya bereaksi dengan nitrogen dalam sel hidup. Selama proses dekomposisi aerob tidak timbul bau busuk dan terjadi kenaikan suhu akibat pelepasan energi.

b. Proses Dekomposisi Secara Anaerob.

Dekomposisi anaerob, dekomposisi sampah organik terjadi sebagai akibat kegiatan mikroorganisme yang mesofilik dan termofil. Bakteri fakultatif penghasil asam yang mula-mula menguraikan bahan organik menjadi asam asetat, format, laktat, suksinat, butirat, lemak, dan aldehyd, kemudian bakteri lain mengubah asam lemak menjadi metana, amoniak, CO₂ dan hidrogen. Oksigen juga diperlukan untuk proses dekomposisi anaerob tetapi sumbernya senyawa kimia yang tidak terlalu larut oleh oksigen. Apabila dibandingkan dengan proses aerob yang melepaskan energi lebih besar (484 – 674 kkal/mol glukosa) hanya 26 kkal/mol glukosa yang dilepaskan pada kondisi anaerob. Proses dekomposisi bahan organik di dalam tanah memiliki beberapa tahapan proses. Tahapan pertama adalah tahap penghancuran bahan organik segar menjadi partikel yang berukuran kecil yang utamanya dilakukan oleh cacing dan makrofauna yang lain. Tahapan selanjutnya yaitu tahap transformasi, yang mana pada tahap ini sebagian senyawa organik akan

terurai menjadi cepat, sebagian terurai dengan kecepatan sedang dan sebagian lagi terurai secara lambat (Ma'sum dkk., 2003).

II. 4. Faktor – faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Mikroorganisme

II.4.1. Suhu

Ketika bahan organik ditumpukkan menjadi satu untuk pengomposan, sebagian energi yang dilepaskan sebagai panas oleh mikroorganisme pengurai, sehingga menyebabkan kenaikan suhu. Hubungan suhu-waktu normal dari tumpukan bahan menunjukkan bahwa tumpukan melalui tahap-tahap penghangatan, suhu puncak, pendinginan dan pematangan (Outerbridge, 1991).

Pada awal proses bahan berada pada suhu sekeliling. Tahap awal penghangatan, mikroorganisme yang ada pada bahan berkembangbiak dengan cepat dan suhu naik. Pada saat ini semua senyawa yang mudah terurai seperti gula, tepung, dan lemak habis terpakai. Ketika suhu mencapai 60 °C jamur berhenti bekerja dan penguraian diteruskan oleh Actinomycetes dan galur bakteri penbentuk spora, penguraian menjadi lambat dan suhu puncak dicapai. Pada suhu puncak, tumpukan juga kehilangan panas sebanyak yang dihasilkan mikroorganisme (Outerbridge, 1991).

Pada masa akhir pendinginan, kebanyakan pasokan makanan sudah habis, persaingan antara mikroorganisme dimulai, antibiotik dilepaskan dan hewan tanah yang lebih besar, seperti cacing masuk untuk beberapa minggu. Proses pematangan dengan jumlah penguraian yang rendah dan panas yang dilepaskan kecil. Jumlah waktu yang digunakan dari konstruksi tumpukan sampai pematangan tergantung

pada sifat bahan organik, kondisi aerasi dan air dalam tumpukan serta kondisi sekeliling. Reaksi berlangsung cepat di daerah tropis dan di bawah kondisi yang optimum akan selesai dalam waktu 3 bulan (Outerbridge, 1991).

Berdasarkan toleransi terhadap perubahan suhu, maka bakteri dibagi atas 3 tingkatan, yaitu bakteri psikrofilik yaitu bakteri – bakteri yang dapat hidup dalam temperatur 20 °C kebawah sampai 5 °C. Bakteri mesofilik yaitu bakteri yang dapat hidup dalam temperatur 25 °C hingga 40 °C. Bakteri termofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada temperatur optimal 55 °C hingga maksimum 70 °C (Ma'sum dkk., 2003).

II. 4.2. pH

Pada prinsipnya bahan organik dengan nilai pH 3 – 11 dapat dikomposkan, pH optimum berkisar antara 5,5 - 8,0. Bakteri lebih menyukai kondisi pH netral dan fungi berkembang cukup baik pada kondisi pH agak asam (Sutanto, 2002).

Pada awal pengomposan bahan menjadi agak asam karena hasil awal penguraian aktifitas bakteri adalah bahan organik sederhana. Dengan munculnya mikroorganisme lain dari bahan yang didekomposisi, maka tumpukan kemudian berubah menjadi sedikit lebih basa setelah beberapa hari karena protein dan amonia dilepaskan (Outerbridge, 1991 ; Ma'sum dkk., 2003).

II.5. Metode identifikasi mikroorganisme

Identifikasi kebanyakan mikroorganisme tergantung pada suatu gambaran yang menyeluruh dari karakteristik morfologi dan biokimianya. Untuk prosedur identifikasi yang benar, penting untuk memisahkan populasi campuran menjadi

spesies-spesies tunggal yang berbeda sebagai biakan yang murni. Mikroorganisme dibiakkan di laboratorium pada bahan nutrien yang disebut medium. Medium yang digunakan sangat bervariasi tergantung tujuan dan jenis mikroorganisme yang akan ditumbuhkan. Untuk tujuan identifikasi, maka organisme harus ditumbuhkan pada medium selektif atau medium difrensial (Madigan, 1997).

Karakter morfologi suatu mikroorganisme dapat diamati secara makroskopik dengan cara menginokulasikan bahan ke dalam medium agar dengan metode cawan gores atau metode cawan tuang. Setelah diinkubasi selama waktu tertentu, akan terbentuk massa sel yang dapat dilihat dengan mata bugil yang dinamakan koloni. Adapun pengamatan morfologi secara mikroskopik dapat dilakukan dengan teknik pewarnaan. Teknik pengecatan gram merupakan salah satu cara untuk membedakan bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Latar belakang dilakukannya pengecatan ini adalah adanya perbedaan struktur, komposisi kimiawi dan ketebalan dinding sel bakteri (Pelczar & Chan, 1996).

Bakteri gram positif mempunyai tipe dinding sel yang relatif tebal (30-100 nm) dan komposisi yang lebih sederhana, sekitar 40-80 % terdiri atas peptidoglikan dan senyawa asam Teikoat. Dan jika diberi pengecatan gram, warnanya menjadi ungu, dan tidak tercuci ketika diberi zat peluntur.

Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih tipis (20-30 um) dengan lapisan yang nampak jelas kenampakannya di bawah mikroskop elektron. Lapisan dalam terdiri atas gel periplasmik dari peptidoglikan. Lapisan luar berupa protein yang mengandung lipid bilayer. Lipid bilayer terdiri atas fosfolipid dan

lipopolisakarida . Pada pengecatan gram, warna bakteri gram negatif adalah merah karena kristal violet dan iodine luntur pada saat diberi zat peluntur sehingga ketika diberi cat akhir safranin akan berwarna merah . Hal ini karena banyaknya kandungan lemak pada dinding sel bakteri (Singleton, 1992).

Selain pewarnaan gram, pewarnaan spora juga perlu dilakukan dalam identifikasi suatu bakteri. Jenis-jenis bakteri tertentu, membentuk suatu struktur di dalam sel pada tempat-tempat yang khas, disebut endospora. Endospora mempunyai kemampuan adaptasi yang tinggi, sehingga untuk mengamatinya diperlukan perlakuan yang khusus, yaitu dengan pemanasan yang cukup. Pewarna yang sesuai dapat menembus endospora, tetapi sekali zat warna tersebut memasuki endospora, akan sukar dihilangkan. Ada dua metode yang umum digunakan yaitu Schalfer-fulton dan metode dorner. Ukuran dan letak endospora dalam sel merupakan ciri yang digunakan untuk membedakan jenis bakterinya (Hadioetomo, 1990).

Uji motilitas, juga merupakan salah satu uji yang digunakan dalam mengidentifikasi suatu mikroorganisme. Motilitas bakteri dapat diuji dengan menggunakan preparat tetes gantung di bawah mikroskop. Bahkan tanpa pengecatan dan mikroskop medan terang, motil tidaknya suatu sel bakteri dapat diamati. Motilitas dapat diamati dengan cara menumbuhkan mikroorganisme pada media padat, pertumbuhan sel bakteri akan bergerak menyebar dari daerah inokulasi sebagai organisme yang berenang pada lapisan tipis dari permukaan media.

Identifikasi bakteri pada tingkat genus dan spesies, tidak terbatas hanya dengan melihat karakter morfologi, tetapi sangat penting untuk melakukan uji-uji biokimia (Lay, 1994 ; Hadioctomo, 1990 ; Singleton, 1992).

a. Uji IMViC

Uji IMViC merupakan sejumlah uji yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri golongan Enterobacteriaceae. IMViC merupakan singkatan dari: Indole, Methyl red, Voges-Proskauer, dan Citrat.

Bakteri yang ditumbuhkan dalam medium yang mengandung triptofan, kemudian diberi 3-5 tetes pereaksi kovacs yang mengandung amil alkohol atau kristal kalsium oksalat. Adanya Indol akan menyebabkan amil alkohol berubah warnanya menjadi merah muda. Uji dengan amil alkohol, disebut metode kovacs sedangkan uji dengan asam oksalat disebut metode Gnezda.

Uji Methyl red didasarkan pada pembentukan asam, dimana Methyl red yang ditetaskan pada medium MR-VP yang telah diinkubasi selama 1-2 x 24 jam akan berwarna merah jika hasilnya positif, sedangkan warna kuning menunjukkan hasil uji negatif atau medium tidak mengalami perubahan warna.

Uji Voges-proskauer didasarkan pada pembentukan asetil metil karbinol (asetoin). Ke dalam 1 ml kultur dari medium MR-VP, ditambahkan 0,6 ml larutan 0,5 % alfa-naftol di dalam alkohol absolut, dan 0,2 ml larutan KOH 40 %, kemudian dikocok. Terbentuknya warna merah muda atau merah menunjukkan terbentuknya asetil metil karbinol. Asetil metil karbinol dengan adanya KOH dan udara akan

teroksidasi menjadi diasetil, kemudian diasetil dengan adanya alfa -naphthol dan asam amino yang terdapat dalam medium akan membentuk warna merah.

Uji sitrat didasarkan pada penggunaan sitrat di dalam medium oleh bakteri dimana sitrat merupakan satu-satunya sumber karbon di dalam medium. Adanya pertumbuhan yang menunjukkan penggunaan sitrat sebagai sumber karbon dapat dilihat dari perubahan warna medium dari hijau menjadi biru.

b. Uji katalase

Katalase adalah enzim yang mengandung zat besi (Fe) yang mengkatalisis reaksi dekomposisi H_2O_2 membentuk air dan oksigen yang dibentuk oleh sebagian besar bakteri aerobik. Uji ini sangat penting untuk membedakan, bakteri asam laktat dengan bakteri anaerob (katalase negatif) dengan mikroba lainnya. Penentuan adanya katalase diuji dengan larutan 3 % H_2O_2 pada koloni terpisah. Pada bakteri yang bersifat katalase positif, terlihat pembentukan gelembung udara di sekitar koloni.

BAB III

METODE PENELITIAN

III. 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan petri (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), mikroskop (Nikon), inkubator (Heraeus), oven (Heraeus), neraca analitik (Ohaus), gelas objek, gelas penutup, otoklaf (All American), enkas, termometer, batang pengaduk, penangas, botol pengenceran, dan lampu spiritus.

III. 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini anatara lain : daun gamal (*Glyricidia sepium* (Jacq) Kunth. Ex Walp), medium nutrien agar (Difco), medium sulfid indol motile agar (Merck), medium triple sugar iron agar (Difco), medium simmon sitrat agar (SCA), medium nutrien broth (Merck), medium gelatin, ekstrak daging, ekstrak khamir, pepton, Gram A (kristal violet), Gram B (kristal iodum), Gram C (Alkohol asam), Gram D (Safranin), larutan H_2O_2 3%, KNO_2 0,5%, larutan KOH 40%, bubuk Zn, NaCl fisiologi, reagen kovacs, reagen methyl red, reagen methyl blue, asam sulfanilat, larutan HCl 0,1 M dan NaOH 0,1 M, alpha-naftilamin, air suling, minyak imersi, aluminium foil, kapas, alkohol 70%, alpha-naphtol, plastik polybag, dan pH meter.

III. 3. Cara kerja

III.3.1. Sterilisasi alat (Dwijosoeputro, 1990 : Sutedjo dkk., 1996)

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu untuk mematikan semua bentuk kehidupan khususnya dari mikroorganisme. Untuk alat yang terbuat dari bahan gelas dicuci dengan deterjen, dibilas sampai bersih dan dikeringanginkan. Kemudian dibungkus dengan kertas perkamen lalu disterilkan di oven dengan suhu 180 °C selama 2 jam, sedangkan alat yang tidak tahan panas yaitu alat-alat non gelas dan medium disterilkan di dalam otoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 atm selama 15 menit. Alat yang terbuat dari logam disterilkan dengan pemijaran di atas lampu spiritus.

III.3.2. Pembuatan medium (Hadioetomo, 1990 : Lay, 1994)

Medium yang digunakan antara lain :

a. Medium Nutrien Agar (NA)

Medium Nutrien Agar (NA) ditimbang sesuai dengan kebutuhan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Air suling ditambahkan ke dalam erlenmeyer tersebut, dan dididihkan hingga semua bahan terlarut sempurna, lalu volumenya dicukupkan dengan menambahkan air suling dan diatur pHnya yaitu antara 6,6-7 dengan menambahkan HCl 0,1 M atau NaOH. Kemudian ditutup dengan kapas dan aluminium foil, lalu disterilkan di dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C pada tekanan 15 atm.

b. Medium Sulfida Indol Motility (SIM)

Medium SIM ditimbang sesuai dengan kebutuhan dan dimasukkan dalam erlenmeyer. Air suling ditambahkan ke dalam erlenmeyer tersebut, dan dididihkan hingga semua bahan terlarut sempurna, lalu volumenya dicukupkan dengan menambahkan air suling dan diatur pHnya menjadi 7 dengan menambahkan HCl 0,1 M atau NaOH. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5-7 ml, ditutup dengan kapas dan disterilkan di dalam otoklaf selama 15 menit dengan suhu 121° C dan tekanan 15 atm. Setelah steril, dikeluarkan dan diletakkan secara tegak hingga medium memadat.

c. Medium Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Medium TSIA ditimbang sesuai dengan kebutuhan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan air suling lalu dididihkan sampai larut. Setelah itu dicukupkan volumenya dan diatur pHnya yaitu 6,6 – 7,0. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil sebanyak 5-6 ml, ditutup dengan kapas dan disterilkan didalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 atm. Setelah steril, dikeluarkan dan diletakkan setengah miring hingga memadat.

d. Medium Simmon Citrat Agar (SCA)

Medium SCA ditimbang sesuai dengan kebutuhan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi air suling lalu dipanaskan sampai larut. Setelah itu dicukupkan volumenya dan diatur pHnya menjadi 7,0 dengan menambahkan HCl 0.1 M atau NaOH. Kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 ml, ditutup dengan kapas lalu disterilkan di dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu

121 °C dengan tekanan 15 atm. Setelah steril diletakkan setengah miring dan dibiarkan memadat.

e. Medium Nutrien Broth (NB) + KNO₂ 0,5%,

Medium NB ditimbang sesuai dengan kebutuhan lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi air suling dan dididihkan sampai semua bahan terlarut, dicukupkan volumenya lalu diatur pHnya yaitu antara 6,6 – 7,0, dengan menambahkan HCl 0,1 M atau NaOH dan ditambahkan KNO₂ 0,5%, lalu kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 6-7 ml, ditutup dengan kapas dan disterilkan di dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 atm.

f. Medium MR-VP

Medium MR-VP ditimbang sesuai dengan kebutuhan lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi air suling dan dididihkan sampai semua bahan terlarut, lalu dicukupkan volumenya dan diatur pHnya yaitu antara 6,6 – 7,0 dengan menambahkan HCl 0,1 M atau NaOH. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml setiap tabung dan disterilkan di dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 atm.

g. Medium Gelatin

Medium gelatin ditimbang sesuai dengan kebutuhan lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi air suling dan dididihkan sampai semua bahan terlarut, dicukupkan volumenya dan diatur pHnya yaitu antara 6,6 – 7,0 dengan menambahkan HCl 0,1 M atau NaOH, lalu dimasukkan ke dalam beberapa tabung

reaksi sebanyak 5 ml setiap tabung, ditutup dengan kapas dan disterilkan di dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 atm. Setelah steril, dikeluarkan dan diletakkan pada posisi tegak hingga memadat.

III.3. 3. Proses Dekomposisi Sampel yang Digunakan

Untuk mendapatkan sampel daun gamal yang telah mengalami dekomposisi dilakukan dengan memetik daun gamal segar dan ditimbang sebanyak 6 kg. Daun gamal dipotong-potong sampai halus lalu dijemur sampai layu dan dimasukkan ke dalam plastik polybag sambil ditekan agar memadat. Polybag yang berisi sampel selanjutnya diletakkan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari selama proses dekomposisi berlangsung dan diukur suhunya setiap pagi hari. Satu minggu pertama, masing-masing polybag yang berisi daun gamal dikeluarkan dan dilakukan pengadukan. Jika tumpukan daun gamal tersebut tampak kering maka ditambahkan air. Penambahan air harus diperhatikan jangan sampai kondisi tumpukan itu menjadi kebanyakan air. Demikian seterusnya sampai pada minggu ke-6.

II.3.4. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan mulai dari minggu awal-0 sebagai kontrol sampai minggu ke-6 proses dekomposisi, setelah dilakukan pengadukan. Sampel dimasukkan ke dalam plastik dan diberi label untuk selanjutnya dilakukan isolasi dan identifikasi di laboratorium.

III.3.5. Parameter yang diamati

Bersamaan dengan pengambilan sampel juga dilakukan :

a. Pengukuran pH

Pengukuran pH dimaksudkan untuk mengetahui adanya perubahan kimiawi yang terjadi selama proses dekomposisi yang dapat berpengaruh terhadap aktifitas mikroorganisme.

b. Pengukuran suhu

Suhu diukur dengan menggunakan termometer dan dilakukan ketika tumpukan sampel telah diaduk.

III.3.6. Pembiakan Mikroba

A. Pembuatan Suspensi Sampel

Sampel diambil dan ditimbang sebanyak 25 gram dibuat suspensinya dengan menambahkan 225 ml air suling steril lalu dikocok sampai homogen, dan diperoleh pengenceran 10^{-1} .

B. Pengenceran dan Isolasi

Hasil suspensi sampel yang telah diperoleh pengenceran (10^{-1}), selanjutnya diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam botol pengenceran yang berisi 9 ml air suling steril sehingga diperoleh pengenceran (10^{-2}). Demikian seterusnya hingga mencapai botol pengenceran yang sesuai. Dari 3 pengenceran terakhir, masing-masing diambil 3 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang berbeda kemudian dituangi medium Nutrient Agar (NA) cair dengan suhu diperkirakan antara $45 - 47^{\circ}$ C dan dihomogenkan dengan cara menggoyangkan cawan petri tersebut. Medium

dibiarkan memadat kemudian diinkubasi dalam posisi cawan terbalik selama 1 x 24 jam pada suhu 37 ° C. Setelah diinkubasi dilakukan perhitungan jumlah mikroba dengan menggunakan metode Standar Plate Count (SPC). Selanjutnya koloni yang tumbuh dengan berbagai morfologi diisolasi kembali pada medium NA miring dan dijadikan sebagai stok biakan yang akan dipergunakan untuk uji berikutnya.

III.3.7. Pengamatan dan Karakterisasi

A. Pengamatan Makroskopis Bakteri(Lay, 1994 ; Sutedjo dkk., 1996)

Koloni yang tumbuh pada cawan petri diamati morfologinya meliputi warna, bentuk koloni, elevasi, tepi koloni, dan struktur dalam koloni.

B. Pengamatan Mikroskopis Bakteri

a. Pengecatan Gram

Objek gelas dibersihkan dengan alkohol 70% lalu dipanaskan diatas api bunsen. Kemudian air suling steril diteteskan pada gelas objek sebanyak satu tetes. Biakan murni diambil dengan menggunakan ose steril dicampur dengan aquades tersebut, kemudian dihomogenkan. Suspensi bakteri lalu diratakan dan kemudian dikeringanginkan, difiksasi dengan cara dilewatkan di atas nyala api bunsen beberapa kali. Selanjutnya preparat olesan dibubuhi dengan larutan cat Gram A, didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Kemudian diberi cat Gram B dan didiamkan selama 1 menit. Lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Selanjutnya diberi cat Gram C dan didiamkan selama 30 detik, dibilas dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Pada tahap pengecatan Gram yang terakhir, larutan Gram D diteteskan pada preparat olesan, lalu didiamkan selama 2

menit dan dibilas dengan air kemudian dikeringanginkan. Selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000.

b. Pewarnaan Spora

Pengecatan diawali dengan membuat preparat olesan masing-masing isolat bakteri pada gelas objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%. Setelah dikeringanginkan kemudian difiksasi. Ditetesi dengan larutan malacit green berlebih dan dipanaskan di atas penangas air selama 5 menit (diperhatikan agar cat tidak mengering dan tidak mendidih). Setelah itu dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan lagi. Setelah kering, ditetesi larutan safranin dan dibiarkan selama 1 – 2 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000. Bakteri yang membentuk spora ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau pada spora dan selnya berwarna merah.

C.Uji Biokimia (Lay, 1994 : Hadioetomo, 1990)

❖ Uji Katalase

Masing-masing isolat diletakkan pada permukaan objek gelas kemudian ditetesi dengan pereaksi Hidrogen peroksida (H_2O_2) 3 %. Reaksi positif jika terbentuk gelembung – gelembung udara yang menunjukkan pemecahan H_2O_2 .

❖ Uji Indol

Medium SIM agar tegak diinokulasi dengan isolat bakteri secara tusukan, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 1-2 x 24 jam. Biakan bakteri ditetesi dengan reagen Kovac's. Jika pada bagian atas segera terbentuk lapisan berwarna

merah berarti reaksi positif.

❖ Uji Motilitas

Medium SIM agar tegak diinokulasi dengan isolat bakteri secara tusukan, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 1-2 x 24 jam. Adanya pertumbuhan menyebar disekitar tusukan menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat motil.

❖ Uji Hidrogen Sulfida

Masing-masing isolat diinokulasikan pada medium TSIA secara goresan dan tusukan, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C. Terbentuknya warna hitam pada medium menunjukkan adanya produksi H₂S sedangkan jika medium terangkat berarti dapat menghasilkan gas. Warna merah pada bagian Slant menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa dan kuning menunjukkan adanya fermentasi laktosa atau sukrosa.

❖ Uji Hidrolisis Gelatin

Masing-masing isolat diinokulasikan pada medium gelatin sedalam $\frac{3}{4}$ bagian, kemudian diinkubasi pada selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu dimasukkan ke dalam lemari es selama 30 menit, reaksi positif jika gelatin tetap cair setelah dikeluarkan dari lemari es dan reaksi negatif bila medium membeku.

❖ Uji Reduksi Nitrat

Masing-masing isolat diinokulasikan pada medium NB yang mengandung KNO₂ 5%, kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu ditambahkan 1 ml asam sulfanilat dan 1 ml alpha-naftilamin ke dalam tabung biakan. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna medium menjadi merah atau merah

muda. Jika tidak menunjukkan perubahan warna ditambahkan bubuk Zn, reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau merah muda.

❖ Uji Sitrat

Masing-masing isolat diinokulasikan pada medium SCA dengan cara goresan, lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C. Reaksi positif jika medium berubah dari warna hijau menjadi biru.

❖ Uji Methyl Red

Masing-masing isolat diinokulasikan pada medium MR-VP lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C. Kemudian biakan ditetesi dengan reagen methyl red. Uji positif jika medium berwarna merah setelah penambahan reagen dan negatif jika medium berwarna kuning setelah penambahan reagen.

❖ Uji Voges Proskauer

Biakan bakteri pada medium MR-VP yang telah diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C ditambahkan dengan 10 tetes KOH 40% dan 15 tetes larutan alpha naphthol kemudian dikocok. Hasil reaksi dapat dilihat setelah 30 menit. Uji positif bila medium berwarna merah setelah penambahan reagen dan uji negatif bila tidak memperlihatkan perubahan warna.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1. Perhitungan jumlah total bakteri dengan menggunakan metode SPC

Tabel 1 : Hasil perhitungan rata-rata jumlah total bakteri dengan menggunakan metode SPC selama proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium*

Waktu pengomposan	Total bakteri (sel/ml)
K0	$1,8 \times 10^{10}$
K1	$5,1 \times 10^{10}$
K2	$5,2 \times 10^{11}$
K3	$6,9 \times 10^{11}$
K4	$9,5 \times 10^{11}$
K5	$3,7 \times 10^{11}$
K6	$1,5 \times 10^{11}$

Keterangan :

- SPC : Standar Plate Count
- K0 : Sebelum terjadinya dekomposisi
- K1 : Waktu dekomposisi minggu-1
- K2 : Waktu dekomposisi minggu-2
- K3 : Waktu dekomposisi minggu-3
- K4 : Waktu dekomposisi minggu-4
- K5 : Waktu dekomposisi minggu-5
- K6 : Waktu dekomposisi minggu-6

Selama proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium* (Jaqc.) Kunth. Ex Walp. diperoleh jumlah koloni bakteri yang berbeda-beda. Perhitungan jumlah total bakteri dilakukan dengan menggunakan metode SPC (Standart Plate Count). Dari tabel 1 di atas, nampak bahwa jumlah koloni bakteri dari sebelum proses dekomposisi sampai pada minggu-6 mengalami perubahan. Sebelum proses dekomposisi (K0), jumlah total bakteri sekitar $1,83 \times 10^{10}$ sel/ml, namun setelah didekomposisi jumlah total bakteri terus mengalami peningkatan sampai pada

minggu-4 yaitu sekitar $9,5 \times 10^{11}$ sel /ml. Hal ini disebabkan karena daun gamal mengandung bahan organik yang cukup sehingga mampu menyediakan kebutuhan bakteri akan sumber energi dan nutrisi untuk proses pertumbuhannya (Martoaatmojo, 1983). Sedangkan pada minggu-5, jumlah total bakteri mengalami penurunan yaitu sekitar $3,7 \times 10^{11}$ sel /ml dan terus menurun pada minggu-6 yaitu sekitar $1,5 \times 10^{11}$ sel /ml. Penurunan ini disebabkan karena pada minggu ini terjadi defisiensi nutrisi, sehingga terjadi kematian bakteri. Selain itu, adanya produk metabolit sekunder yang bersifat toksik yang dapat membunuh bakteri yang tidak dapat menetralkan zat toksik tersebut (Pelczar, 1986). Hasil keseluruhan dapat dilihat pada tabel 1.

IV.2. Pengukuran suhu dan pH

Tabel 2. Hasil pengukuran pH dan suhu selama proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium*

Lama dekomposisi (minggu)	Pengukuran suhu (°C)	Pengukuran pH
K0	33,43	5,82
K1	42,86	5,57
K2	51,86	5,33
K3	58,14	5,34
K4	59,57	5,36
K5	45,71	5,42
K6	41,71	5,49

a. Suhu

Selama proses pengomposan akan terjadi perubahan suhu. Dari hasil pengamatan yang ditunjukkan pada Tabel 2, kisaran suhu dalam tumpukan daun gamal sebelum terjadinya dekomposisi (K0) yaitu 33,43 °C. Nilai ini terus meningkat sampai pada minggu-4 (K4) yaitu 59,57 °C. Terjadinya kenaikan suhu ini disebabkan karena populasi mikroorganisme juga mengalami kenaikan dan

aktifitasnya dalam memanfaatkan bahan atau senyawa-senyawa yang mudah diurai sebagai sumber energi dalam proses metabolismenya. Dalam aktifitas penguraian oleh mikroorganisme tersebut, sebagian energi akan dilepaskan sebagai panas dan akan menyebabkan kenaikan suhu pada tumpukan seresah (Outerbridge, 1991).

Selanjutnya, pada minggu-5 dan minggu-6 suhu tumpukan gamal cenderung mengalami penurunan yang berkisar pada $45,71^{\circ}\text{C}$ dan $41,71^{\circ}\text{C}$ dan juga disertai dengan penurunan jumlah total bakteri yaitu $3,7 \times 10^{11}$ dan $1,5 \times 10^{11}$. Hal tersebut disebabkan karena bahan atau senyawa-senyawa sumber energi mulai berkurang, sehingga energi dalam bentuk panas yang dilepaskan oleh mikroorganisme akan berkurang dan menyebabkan suhu dalam tumpukan akhirnya akan sama dengan kondisi suhu disekelilingnya.

b. pH

Pada proses dekomposisi terjadi perubahan struktur kimia yang diakibatkan oleh aktivitas mikroorganisme. Pengukuran pH merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui perubahan struktur kimia tersebut. Di samping itu, perubahan secara fisik dapat dilihat dengan adanya perubahan warna daun gamal dari hijau menjadi coklat kehitaman serta adanya gas amonia (NH_3) yang dihasilkan. Pada prinsipnya proses dekomposisi dapat terjadi pada pH 3 – 11 dan pH optimum berkisar antara pH 5,5 – 8,0 (Sutanto, 2002).

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel 2, tingkat keasaman (pH) pada tumpukan daun gamal diawal proses dekomposisi berkisar pH 5,8 dan setelah dekomposisi berumur 1 minggu (K1) pH berkisar 5,57. Hal ini menunjukkan bahwa

diawal proses dekomposisi tumpukan daun gamal menjadi agak asam disebabkan produk awal hasil penguraian oleh aktivitas mikroorganisme adalah senyawa-senyawa yang berupa asam organik sederhana (Outerbridge, 1991 : Sutanto, 2002). Tingkat keasaman (pH) pada minggu-2 (K2) berkisar pH 5,33, hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang diuraikan masih berupa asam-asam organik. Munculnya bakteri lain di dalam tumpukan daun gamal menyebabkan nilai pH pada minggu-3 meningkat sampai pada minggu -6 (K6). Tingkat keasaman (pH) tumpukan daun gamal tidak berbeda nyata pada tiap minggunya. Pada proses dekomposisi ini, sejumlah protein juga diuraikan dan gas amoniak dilepaskan yang ditandai dengan adanya bau busuk dari tumpukan daun gamal tersebut.

IV.3. Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Bakteri Secara Makroskopik

Hasil pengujian karakteristik morfologi secara makroskopik dilakukan dengan mengamati bentuk pertumbuhan koloni masing-masing isolat bakteri di atas medium nutrien agar cawan. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini:



Tabel 3: Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) Minggu-0.

Isolat	Koloni					Pengamatan mikroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	Spora	Bentuk sel
K0-1	Irreguler	Effuse	Lobate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K0-2	Circular	Convex	Entire	Smooth	Crem	Positif	Ada	Batang
K0-3	Circular	Convex	Undulate	Smooth	Kuning	Positif	Ada	Batang
K0-4	Circular	Convex	Entire	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K0-5	Irreguler	Effuse	Erose	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K0-6	Filamentous	Effuse	Erose	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K0-7	Circular	Unbonate	Entire	Opaque	Kuning	Positif	Ada	Batang
K0-8	Circular	Raised	Undulate	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K0-9	Irreguler	Raised	Filamentous	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K0-10	Irreguler	Convex	Entire	Smooth	Merah	Positif	Ada	Batang

Keterangan :

Smooth	: halus	Undulate	: bergelombang
Circular	: bulat	Entire	: rata
Irreguler	: tidak beraturan	Opaque	: tidak tembus cahaya
Convex	: cembung	Effuse	: pertumbuhan tipis
Lobate	: seperti telinga	Filamentous	: berupa rambut
Erose	: seperti potongan yang tidak teratur		
Raised	: pertumbuhan dengan percabangan teratur		
Unbonate	: pertumbuhan tebal dengan tonjolan tumpul		

Adanya perbedaan bentuk pertumbuhan koloni, menurut Volk dan Wheeler (1988) dapat dijadikan sebagai dasar dalam identifikasi bakteri. Dari table 3 di atas, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K0-2, K0-3, K0-4, K0-7, dan K0-8 berbentuk tidak beraturan (irregular) ada pada isolat K0-1, K0-5, K0-9 dan K0-10. Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K0-3 dan K0-8 bentuknya bergelombang (undulate), isolat bakteri K0-2, K0-4, K0-7 dan K0-10 tepi koloninya berbentuk rata (entire), isolat K0-5, dan K0-6 berbentuk seperti potongan yang tidak teratur (erosce), isolat K0-9 berbentuk rambut (filamentous) sedangkan isolat K0-1 seperti telinga (lobate). Isolat K0-2, K0-3, K0-4 dan K0-10 elevasinya cembung (convex), K0-1, K0-5 dan K0-6 elevasinya seperti pertumbuhan tipis (effuse) sedangkan K0-8 dan

K0-9 elevasinya berupa pertumbuhan dengan percabangan teratur (raised) serta K0-7 pertumbuhannya tebal dengan tonjolan tumpul (unbonate). Struktur dalam isolat K0-1, K0-5 dan K0-7 tidak tembus cahaya (opaque) sedangkan isolat lainnya berstruktur halus (smooth). Koloni isolat K0-3 dan K0-7 memperlihatkan warna kuning, K0-2 berwarna krem, isolat K0-10 berwarna merah sedangkan isolat lainnya berwarna putih.

Tabel 4: Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) minggu-1.

Isolat	Koloni					Pengamatan Mikroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	Spora	Bentuk sel
K1-1	Irregular	Effuse	Undulate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K1-2	Circular	Convex	Filamentous	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K1-3	Circular	Effuse	Erose	Opaque	Putih	Positif	Tidak ada	Batang
K1-4	Irregular	Unbonate	Entire	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K1-5	Irregular	Effuse	Lobate	Opaque	Putih	Positif	Tidak ada	Batang
K1-6	Circular	Convex	Undulate	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K1-7	Irregular	Effuse	Erose	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K1-8	Circular	Convex	Undulate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K1-9	Filamentous	Effuse	Entire	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang

Keterangan :

Smooth	: halus	Undulate	: bergelombang
Circular	: bulat	Entire	: rata
Irregular	: tidak beraturan	Opaque	: tidak tembus cahaya
Convex	: cembung	Lobate	: seperti telinga
Filamentous	: berupa rambut	Effuse	: pertumbuhan tipis
Erose	: seperti potongan yang tidak teratur		
Unbonate	: pertumbuhan tebal dengan tonjolan tumpul		

Dari tabel 4 di atas, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K1-2, K1-3, K1-6, dan K1-8 bentuk tidak beraturan (irregular) ada pada isolat K1-1, K1-4, K1-5 dan K1-7 sedangkan isolat K1-9 berbentuk serupa rambut (filamentous). Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K1-1, K1-6 dan K1-8 bentuknya bergelombang

(undulate), isolat bakteri K1-4, dan K1-9 tepi koloninya berbentuk rata (entire), isolat K1-3, dan K1-7 berbentuk seperti potongan yang tidak teratur (erose), isolat K1-2 berbentuk serupa rambut (filamentous) sedangkan isolat K1-5 seperti telinga (lobate). Isolat K1-2, K1-6, dan K1-8 elevasinya cembung (convex), isolat K1-1, K1-3, K1-5 dan K1-7 elevasinya seperti pertumbuhan tipis (effuse) sedangkan K1-4 elevasinya tebal dengan tonjolan tumpul (unbonate) dan isolat K1-9 berupa rambut (filamentous). Struktur dalam isolat K1-1, K1-2, K1-3, K1-5 dan K1-8 tidak tembus cahaya (opaque) sedangkan isolat lainnya berstruktur halus (smooth). Pengamatan warna koloni seluruh isolat memperlihatkan warna putih.

Tabel 5: Pengamatan morfologi koloni isolasi bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) minggu-2.

Isolat	Koloni					Pengamatan Makroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	Spora	Bentuk sel
K2-1	Circular	Convex	Undulate	Smooth	Krem	Positif	Ada	Batang
K2-2	Irregular	Effuse	Filamentous	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K2-3	Circular	Effuse	Entire	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K2-4	Irregular	Effuse	Undulate	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K2-5	Circular	Effuse	Erose	Smooth	Putih	Positif	Tidak ada	Batang
K2-6	Irregular	Effuse	Erose	Arborescent	Putih	Positif	Ada	Batang
K2-7	Circular	Effuse	Lobate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K2-8	Filamentous	Effuse	Entire	Smooth	Kuning	Positif	Tidak ada	Batang
K2-9	Circular	Convex	Lobate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K2-10	Circular	Effuse	Undulate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang

Keterangan :
 Smooth : halus
 Circular : bulat
 Irregular : tidak beraturan
 Convex : cembung
 Filamentous : berupa rambut
 Erode : seperti potongan yang tidak teratur
 Effuse : pertumbuhan tipis

Undulate : bergelombang
 Entire : rata
 Opaque : tidak tembus cahaya
 Lobate : seperti telinga
 Arborescent : berserat halus

Dari tabel 5 di atas, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K2-1, K2-3, K2-5, K2-7,

K2-9 dan K2-10, bentuk tidak beraturan (irregular) ada pada isolat K2-2, K2-4, dan K2-6 sedangkan isolat K2-8 berbentuk rambut (filamentous). Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K2-1, K2-4 dan K2-10 bentuknya bergelombang (undulate), isolat bakteri K2-3, dan K2-8 tepi koloninya berbentuk rata (entire), isolat K2-5 dan K2-6 berbentuk seperti potongan yang tidak teratur (erose), isolat K2-2 berbentuk rambut (filamentous) sedangkan isolat K2-7 dan K2-9 seperti telinga (lobate). Isolat K2-1 dan K2-9 elevasinya cembung (convex), sedangkan isolat lainnya nampak seperti pertumbuhan tipis (effuse) . Struktur dalam isolat K2-6 berserat halus (arborescent), isolat K2-7 dan K2-9 tidak tembus cahaya (opaque) sedangkan isolat lainnya berstruktur halus (smooth). Pengamatan warna koloni isolat K2-1 memperlihatkan warna Krem, K2-9 berwarna kuning dan isolat lainnya berwarna putih.

Tabel 6: Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) minggu-3.

Isolat	Koloni					Pengamatan makroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	Spora	Bentuk sel
K3-1	Ireguler	Effuse	Entire	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K3-2	Ireguler	Effuse	Erose	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K3-3	Circular	Effuse	Entire	Smooth	Putih	Positif	Tidak ada	Batang
K3-4	Circular	Effuse	Lobate	Opaque	Kuning	Positif	Tidak ada	Batang
K3-5	Rhizoid	Effuse	Filamentous	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K3-6	Rhizoid	Effuse	Filamentous	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K3-7	Ireguler	Effuse	Filamentous	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K3-8	Circular	Effuse	Undulate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K3-9	Rhizoid	Effuse	Lobate	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang

Keterangan :

Smooth	: halus	Undulate	: bergelombang
Circular	: bulat	Entire	: rata
Convex	: cembung	Lobate	: seperti telinga
Filamentous	: berupa rambut	Opaque	: tidak tembus cahaya
Effuse	: pertumbuhan tipis		
Rhizoid	: Pertumbuhan dengan cabang tidak teratur seperti akar		
Erose	: seperti potongan yang tidak teratur		

Dari tabel 6 di atas, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K3-3, K3-4, dan K3-8 bentuk tidak beraturan (irregular) ada pada isolat K3-1, K3-2 dan K3-7 sedangkan isolat lainnya pertumbuhannya seperti cabang yang tidak beraturan seperti akar(rhizoid). Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K3-8 bentuknya bergelombang (undulate), isolat bakteri K3-1 dan K3-3 tepi koloninya berbentuk rata (entire), isolat K3-2 berbentuk seperti potongan-potongan yang tidak teratur (erose), isolat K3-5, K3-6 dan K3-7 berbentuk serupa rambut (filamentous) sedangkan isolat K3-4 dan K3-9 seperti telinga (lobate) dan isolat K3-8 berbentuk seperti gelombang. Semua isolat elevasinya seperti pertumbuhan tipis (effuse). Struktur dalam isolat K3-1, K3-2, K3-3, K3-6 dan K3-7 berstruktur halus (smooth)

sedangkan isolat lainnya tidak tembus cahaya (opaque). Pengamatan warna koloni isolat K3-4 berwarna kuning dan isolat lainnya memperlihatkan warna putih.

Tabel 7: Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) minggu-4.

Isolat	Koloni					Pengamatan mikroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	spora	Bentuk sel
K4-1	Ireguler	Effuse	Filamentous	Opaque	Putih	Positif	Tidak ada	Batang
K4-2	Circular	Effuse	Filamentous	Smooth	Krem	Positif	Ada	Batang
K4-3	Circular	Convex	Filamentous	Opaque	Krem	Positif	Tidak ada	Batang
K4-4	Ireguler	Effuse	Filamentous	Arborescent	Krem	Positif	Ada	Batang
K4-5	Ireguler	Effuse	Erose	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K4-6	Circular	Convex	Entire	Opaque	Putih	Positif	Ada	Batang
K4-7	Ireguler	Effuse	Filamentous	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K4-8	Ireguler	Effuse	Entire	Smooth	Putih	Positif	Ada	Batang
K4-9	Circular	Effuse	Filamentous	Arborescent	Merah	Positif	Ada	Batang
K4-10	Filamentous	Effuse	Lobate	Opaque	Krem	Positif	Ada	Batang

Keterangan :

Smooth	: halus	Effuse	: pertumbuhan tipis
Circular	: bulat	Entire	: rata
Irreguler	: tidak beraturan	Opaque	: tidak tembus cahaya
Convex	: cembung	Lobate	: seperti telinga
Filamentous	: berupa rambut	Arborescent	: berserat halus
Erose	: seperti potongan yang tidak teratur		

Dari tabel 7 di halaman sebelumnya, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K4-2, K4-3, K4-6, dan K4-9 bentuk tidak beraturan (irregular) ada pada isolat K4-1, K4-4, K4-5, K4-7 dan K4-8 sedangkan isolat K4-10 pertumbuhannya seperti rambut (filamentous). Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K4-6 dan K4-8 tepi koloninya berbentuk rata (entire). isolat K4-5 berbentuk seperti potongan-potongan yang tidak teratur (erose), dan isolat lainnya berbentuk serupa rambut (filamentous), serta K4-10 seperti telinga (lobate). Isolat K4-3 dan K4-6 cembung (convex) sedangkan isolat lainnya mempunyai elevasi seperti pertumbuhan tipis (effuse).

Struktur dalam isolat K4-2, K4-7 dan K4-8 berstruktur halus (smooth), isolat K4-4 dan K4-6 berserat halus, sedangkan yang lainnya lainnya tidak tembus cahaya (opaque). Pengamatan warna koloni isolat K4-9 berwarna merah, isolat K4-2, K4-3 dan K4-4 berwarna krem serta isolat lainnya memperlihatkan warna putih.

Tabel 8: Pengamatan morfologi koloni isolasi bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) minggu- 5.

Isolat	Koloni					Pengamatan Mikroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	Spora	Bentuk sel
K5-1	Rhizoid	Effuse	Erose	Smooth	Krem	Positif	Tidak ada	Batang
K5-2	Circular	Convex	Filamentous	Arborescent	Krem	Positif	Tidak ada	Batang
K5-3	Irreguler	Effuse	Filamentous	Opaque	Krem	Positif	Ada	Batang

Keterangan :

Smooth	: halus	Effuse	: pertumbuhan tipis
Circular	: bulat	Arborescent	: berserat halus
Irreguler	: tidak beraturan	Opaque	: tidak tembus cahaya
Convex	: cembung		
Erose	: seperti potongan yang tidak teratur		
Filamentous	: berupa rambut		
Rhizoid	: Pertumbuhan dengan cabang tidak teratur seperti akar		

Dari tabel 8 di atas, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K5-2, bentuk tidak beraturan (irreguler) ada pada isolat K5-3 sedangkan isolat K5-1 pertumbuhannya bercabang dan tidak beraturan seperti akar. Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K5-1 berbentuk seperti potongan-potongan yang tidak teratur (erose), dan isolat lainnya berbentuk serupa rambut (filamentous). Isolat K5-2 elevasinya cembung (convex) sedangkan isolat lainnya mempunyai elevasi seperti pertumbuhan tipis (effuse). Struktur dalam isolat K5-1 berstruktur halus (smooth), isolat K5-2 berserat halus (arborescent) sedangkan K5-3 tidak tembus cahaya (opaque). Pengamatan warna koloni semua isolat berwarna krem.

Tabel 9: Pengamatan morfologi koloni isolat bakteri yang diisolasi dari sampel pupuk daun gamal (*Glyricidia sepium*) minggu-6.

Isolat	Koloni					Pengamatan Mikroskopis		
	Bentuk koloni	Elevasi	Tepi	Struktur dalam	Warna	Gram	Spora	Bentuk sel
K6-1	Circular	Effuse	Undulate	Smooth	krem	Positif	Ada	Batang
K6-2	Rhizoid	Effuse	Undulate	Arborescent	krem	Positif	Ada	Batang
K6-3	Rhizoid	Effuse	Lobate	Smooth	krem	Positif	Ada	Batang
K6-4	Irreguler	Effuse	Erose	Smooth	krem	Positif	Ada	Batang

Keterangan :

Smooth	: halus	Effuse	: pertumbuhan tipis
Circular	: bulat	Arborescent	: berserat halus
Irreguler	: tidak beraturan		
Erose	: seperti potongan yang tidak teratur		
Rhizoid	: Pertumbuhan dengan cabang tidak teratur seperti akar		

Dari tabel 9 di atas, nampak bahwa bentuk pertumbuhan koloni pada medium agar cawan ada yang berbentuk bulat (circular) yakni isolat K6-1, bentuk tidak beraturan (irregular) pada isolat K6-4 sedangkan isolat K6-2 dan K6-3 berbentuk seperti cabang yang tidak teratur (rhizoid). Pengamatan tepi koloni bakteri untuk isolat K6-1 dan K6-2 bentuknya bergelombang (undulate), isolat bakteri K6-4 berbentuk seperti potongan – potongan yang tidak teratur (erose), sedangkan isolat K6-3 seperti telinga (lobate). Pengamatan elevasi semua isolat nampak seperti pertumbuhan tipis (effuse) . Struktur dalam isolat K6-2 berserat halus (arborescent), sedangkan isolat lainnya berstruktur halus (smooth). Pengamatan warna koloni semua isolat memperlihatkan warna krem.



Gambar 1 : Penampakan morfologi koloni isolat bakteri pada medium NA cawan umur 24 jam

Berdasarkan pengamatan makroskopik terlihat bahwa koloni dari isolat bakteri yang berperan selama proses dekomposisi daun gamal bervariasi baik dalam bentuk, tepi, dan elevasi. Berdasarkan ciri-ciri morfologi koloni dari isolat tersebut nampak adanya persamaan dari minggu sebelum dekomposisi hingga minggu-6.

IV.4. Pengamatan Isolat Bakteri Secara Mikroskopik

IV.4.1 Pengecatan Gram

Pengecatan gram merupakan salah satu teknik pewarnaan differensial yang paling penting dan paling luas digunakan. Pengecatan ini bertujuan untuk membagi bakteri menjadi dua kelompok yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Volk & Wheeler, 1998). Mekanisme pewarnaan didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam presentase lebih tinggi (11-22 %) yang dikandung oleh bakteri gram positif (1-4 %). Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis

dibandingkan dinding sel bakteri gram positif. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa selama prosedur pewarnaan perlakuan dengan etanol (alkohol) terhadap bakteri gram negatif menyebabkan terekstrasinya lipid, sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel gram negatif. Jadi kompleks ungu kristal-yodium (UK-Y), yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan, dapat diekstraksi. Oleh karena itu, bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut, kemudian dinding sel bakteri akan menyerap warna dari cat lawan yaitu safranin, sehingga dinding bakteri gram negatif akan berwarna merah atau orange. Bakteri gram positif memiliki kandungan lipid yang lebih rendah, dinding sel bakteri gram positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan etanol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks UK-Y tidak dapat terekstraksi karena terperangkap di dalam sel, sehingga dinding sel bakteri gram positif tidak terwarnai oleh cat lawan safranin, dan mempertahankan warna dari kompleks UK-Y, yaitu ungu kebiruan (Pelczar & Chan, 1986).

Dari tabel 3 sampai tabel 9 dapat dilihat bahwa setelah dilakukan pengecatan gram diketahui pada proses dekomposisi daun gamal banyak bakteri gram positif yang berperan. Dari semua isolat yang diperoleh merupakan bakteri yang berbentuk batang (bacil). Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop perbesaran 1000 dengan menggunakan minyak imersi.

IV.4.2 Pewarnaan Spora

Spesies-spesies tertentu bakteri dapat menghasilkan spora baik itu di dalam sel vegetatif (endospora) ataupun di luar sel (eksospora). Spora merupakan bagian

tubuh yang secara metabolik berperan dalam masa dorman, yang dihasilkan pada fase lanjut dari pertumbuhan sel, dan pada kondisi-kondisi yang tidak sesuai. Spora bersifat tahan terhadap gangguan fisik misalnya panas dan juga gangguan kimiawi misalnya desinfektan. Spora di dalam sel bakteri dapat terletak secara sentral, terminal dan subterminal (Pelczar & Chan, 1986).

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa sebelum proses dekomposisi, semua isolat bakteri yang terdapat didalam tumpukan tersebut merupakan bakteri pembentuk spora. Hal ini dapat dilihat dengan jelas karena ketika dilakukan pewarnaan dengan cat malachyt green, spora akan tampak berwarna hijau dan selnya akan berwarna merah. Dari tabel 4 diketahui bahwa bakteri yang tidak mempunyai spora mulai muncul pada minggu-1 dekomposisi yaitu isolat K1-3 dan K1-5. Adanya bakteri non spora ini berkelanjutan sampai pada minggu-5 proses dekomposisi yaitu isolat K2-6, K2-9, K3-3, K3-4, K4-1, K4-3, K5-1 dan K5-2 sedangkan isolat lainnya merupakan bakteri berspora. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop perbesaran 1000 dengan menggunakan minyak imersi.

IV.5. Pengamatan Uji Biokomia Isolat Bakteri

Uji fisiologis isolat bakteri meliputi uji katalase, uji reduksi nitrat, uji MR-VP, uji TSIA, uji hidrolisis gelatin, uji indol, uji sitrat dan juga uji motilitas.

Tabel 10 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai sebelum dekomposisi (minggu-0) daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Ind	Uji fisiologi/biokimia									Keterangan
			MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K0-1	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K0-2	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K0-3	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K0-4	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K0-5	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K0-6	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K0-7	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K0-8	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K0-9	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K0-10	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfita

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

Tabel 11 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-1 (K1) dekomposisi daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Uji fisiologi/biokimia										Keterangan
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K1-1	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K1-2	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K1-3	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	<i>Mikrobacterium</i>
K1-4	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K1-5	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Nocardia</i>
K1-6	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>Bacillus</i>
K1-7	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	<i>Clostridium</i>
K1-8	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	<i>Clostridium</i>
K1-9	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	<i>Mikrobacterium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfita

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

Tabel 12 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-2 (K2) dekomposisi daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Uji fisiologi/biokimia										Keterangan
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K2-1	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	<i>Nocardia</i>
K2-2	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K2-3	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	<i>Nocardia</i>
K2-4	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K2-5	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K2-6	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K2-7	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K2-8	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K2-9	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K2-10	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfit

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

Tabel 13 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-3 (K3) dekomposisi daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Uji fisiologi/biokimia										Keterangan
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K3-1	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i>
K3-2	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K3-3	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K3-4	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K3-5	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K3-6	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K3-7	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K3-8	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K3-9	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfit

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

Tabel 14 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-4 (K4) dekomposisi daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Uji fisiologi/biokimia										Keterangan
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K4-1	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	<i>Nocardia</i>
K4-2	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	<i>Bacillus</i>
K4-3	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Nocardia</i>
K4-4	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K4-5	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K4-6	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	<i>Clostridium</i>
K4-7	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i>
K4-8	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	<i>Bacillus</i>
K4-9	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K4-10	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfit

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

Tabel 15 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-5 (K5) dekomposisi daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Uji fisiologi/biokimia										Keterangan
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K5-1	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K5-2	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K5-3	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	<i>Clostridium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfit

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

Tabel 16 : Hasil pengamatan uji fisiologis isolat bakteri yang dijumpai pada minggu-6(K6) dekomposisi daun gamal (*Glyricidia sepium*).

Isolat	Mot	Uji fisiologi/biokimia										Keterangan
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S	
K6-1	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K6-2	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K6-3	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>
K6-4	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Clostridium</i>

Keterangan :

Kat : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfida

+ = Hasil uji positif

- = Hasil uji negatif

A. Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

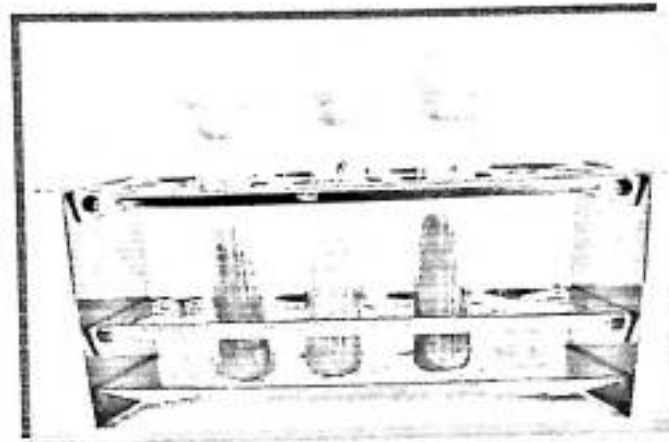
Medium TSIA mengandung tiga macam gula (glukosa, laktosa dan sukrosa). Uji TSIA dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa, produksi gas dari glukosa, dan produksi Hidrogen Sulfida (H₂S) ditunjukkan dengan adanya endapan hitam (Lay, 1994).

Fermentasi glukosa dapat diamati pada bagian bawah (butt) dari medium TSIA. Bila hanya glukosa yang difermentasikan maka konsentrasi glukosa dalam medium akan berkurang, sehingga akan dihasilkan asam. Sedangkan fermentasi laktosa dan sukrosa dengan mengamati permukaan atas (slant). Warna merah menunjukkan reaksi basa sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi asam. Produksi gas dari glukosa ditandai dengan terbentuknya rongga pada bagian bawah atau terangkatnya medium ke atas. Sedangkan kemampuan bakteri dalam menghasilkan gas H₂S ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada bagian bawah

medium, hal ini disebabkan oleh terjadinya penguraian asam amino sistein yang mengandung sulfur sebagai penyusun pepton (Cappucino, 1992).

Dari tabel 10, sebelum proses dekomposisi dapat dilihat bahwa isolat K0-10 tidak dapat memfermentasikan glukosa, sukrosa maupun laktosa sedangkan isolat lainnya dapat memfermentasikan glukosa. Pada proses dekomposisi minggu-1 (tabel 11), hanya isolat K1-7 dan K1-8 yang tidak memfermentasikan ketiga gula tersebut sedangkan isolat lainnya dapat memfermentasikan glukosa. Pada minggu-2 (tabel 12) semua isolat mampu memfermentasikan glukosa kecuali isolat K2-10 tidak dapat memfermentasi ketiga gula (laktosa, sukrosa dan glukosa). Pada minggu-3 (tabel 13) isolat yang tidak memfermentasikan ketiga gula tersebut adalah K3-1, K3-3 dan K3-9, sedangkan isolat lainnya mampu memfermentasikan glukosa. Pada minggu-4 (tabel 15) dapat dilihat bahwa isolat yang memfermentasikan glukosa yaitu K4-3, K4-4, K4-5, K4-8, K4-9, dan K4-10, sedangkan K4-1, K4-2, K4-6, dan K4-7, tidak memfermentasikan ketiga gula tersebut. Untuk minggu-5, isolat K5-1 dan K5-2 mampu memfermentasikan glukosa, sedangkan K5-3 tidak memfermentasikan ketiga gula tersebut. Proses dekomposisi minggu-6 semua isolat bakteri (K6-1, K6-2 dan K6-3) mampu memfermentasikan glukosa.

Pada uji produksi H_2S dan gas tidak ada isolat bakteri yang mampu menghasilkan H_2S dan gas, hal ini terlihat dari tidak ada medium yang bagian bawahnya berwarna hitam dan juga tidak ada medium yang terangkat atau terpotong. Hasil dari uji TSIA dapat dilihat pada tabel 10, 11, 12, 13, 14, 15 dan 16 sedangkan sebagai visualisasi dapat dilihat pada gambar 2.



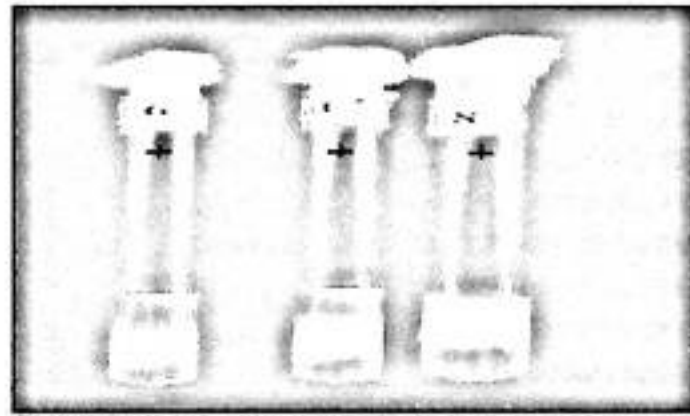
Gambar 2. Pengamatan uji H₂S, Laktosa, sukrosa dan glukosa pada medium TSIA

B. Uji Indol

Pada uji indol semua isolat bakteri ditumbuhkan pada medium SIM Agar yang mengandung triptofan. Menurut Hadioetomo (1990), asam amino triptofan merupakan asam amino yang lazim terdapat pada protein sehingga mudah digunakan oleh mikroorganisme. Menurut Pelczar & Chan (1986) kemampuan untuk menghidrolisis triptofan menjadi indol tidak dapat dilakukan oleh semua bakteri dan karenanya dapat dijadikan ciri fisiologis. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan penambahan reagen Kovac's yang mengandung amil alkohol, akan bereaksi dengan indol yang terbentuk dari triptofan, sehingga menyebabkan terbentuknya lapisan merah pada permukaan medium (Lay, 1992).

Berdasarkan hasil pengamatan uji indol terhadap semua isolat bakteri baik pada masa sebelum dekomposisi dan sesudah dekomposisi, dimana semua koloni yang tumbuh memperlihatkan hasil yang negatif, yang ditandai dengan tidak terbentuknya lapisan warna merah pada permukaan medium setelah ditetesi dengan

reagen Kovac's, Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat bakteri tidak mampu menggunakan senyawa triptofan sebagai sumber karbon. Hasil pengamatan untuk uji indol dapat dilihat pada tabel 10, 11, 12, 13, 14, 15, dan 16 sedang sebagai visualisasi dapat dilihat pada gambar 3.



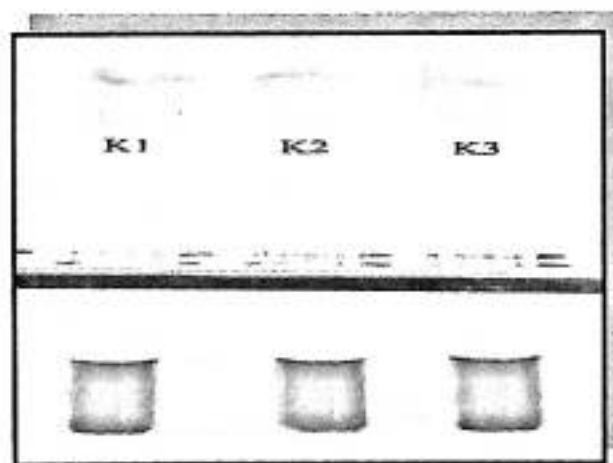
Gambar 3 : Pengamatan uji motilitas dan indol pada medium SIMA

C. Uji Methyl Red (MR)

Uji Methyl Red merupakan uji yang digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran oleh bakteri. Menurut Hadioetomo (1990), sejumlah besar bakteri gram negatif dapat dikenali berdasarkan produksi akhir yang dihasilkannya. Bila memfermentasi glukosa di dalam medium MR-VP, produk yang dihasilkan biasanya asam laktat, asam asetat, asam suksinat dan asam format. Akumulasi dari asam-asam ini dapat menurunkan pH sampai 5,0 atau kurang. Bila indikator merah metal (Methyl-Red) ditambahkan pada biakan tersebut, maka indikator menjadi merah. Hal ini menandakan bahwa organisme ini merupakan peragi asam campuran.

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, untuk 10 isolat bakteri sebelum proses dekomposisi atau minggu-0, isolat K0-2, K0-3, K0-4 dan K0-5

menunjukkan hasil yang negatif dan isolat lainnya menunjukkan hasil yang positif. Pada minggu-1 dekomposisi isolat K1-1, K1-2, K1-3, K1-6 dan K1-8 menunjukkan hasil yang positif dan isolat lainnya negatif. Pada minggu-2 dekomposisi isolat K2-2, K2-4 dan K2-5 menunjukkan hasil yang positif dan isolat lainnya negatif. Pada minggu-3 dekomposisi isolat K3-1, K3-3, K3-4, K3-5 dan K3-6 menunjukkan hasil yang positif sedangkan isolat K3-2, K3-7, K3-8 dan K3-9 negatif. Untuk minggu-4 hanya isolat K4-6 yang negatif sedangkan isolat lainnya positif. Minggu-5 dekomposisi isolat isolat K5-1, dan K5-2 menunjukkan hasil positif sedangkan K5-3 negatif. Sedangkan dekomposisi minggu-6 semua isolat bakteri menunjukkan hasil yang positif. Hasil positif ditandai dengan adanya warna merah dalam medium biakan. Hal ini menandakan bahwa isolat tersebut merupakan peragi asam campuran. Hasil positif dari uji ini dapat dilihat pada tabel 7, 8, 9, 10 dan 11 sedang sebagai visualisasi dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4 : Uji Methyl Red terhadap isolat bakteri pada medium MR-VP

D. Uji Voges-Proskauer (VP)

Uji Voges-Proskauer digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang dapat melakukan fermentasi 2,3-butanadiol. Bila bakteri memfermentasi karbohidrat menjadi 2,3-butanadiol sebagai produk utama akan terjadi penumpukan bahan tersebut. Adanya asetoin sebagai senyawa pemuka (prekursor) ditunjukkan dengan perubahan warna medium MR-VP menjadi merah muda.

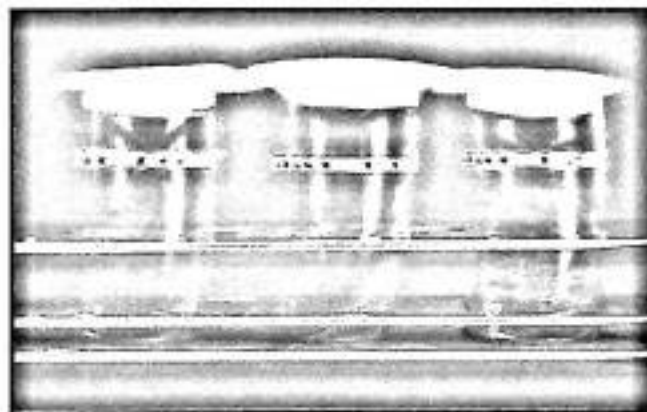
Dari hasil pengamatan, isolat bakteri sebelum dekomposisi (minggu-0) menunjukkan hasil yang negatif, demikian pula pada dekomposisi minggu-1 dan minggu-2). Pada minggu-3 dari 9 isolat yang ada hanya K3-3, dan K3-4 yang menunjukkan hasil yang positif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil negatif. Pada minggu-4 sampai pada minggu-6 semua isolat bakteri menunjukkan hasil yang negatif. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan medium MR-VP menjadi merah jambu yang mengindikasikan bahwa bakteri tersebut mampu melakukan fermentasi 2,3-butanadiol. Hasil dari uji ini dapat dilihat pada tabel 10, 11, 12, 13, 14, 15 dan 16.

E. Uji Sitrat

Uji sitrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri tertentu dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya. Medium yang digunakan adalah SCA (Simmon Citrat Agar). Bila mikroorganisme mampu menggunakan sitrat, maka asam akan dihilangkan dari medium biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru (Lay, 1994).

Hasil yang diperoleh pada kelompok bakteri sebelum dekomposisi menunjukkan bahwa semua isolat menunjukkan hasil yang negatif, kecuali isolat K0-10 yang hasilnya positif. Pada minggu-1 dekomposisi, dari 10 isolat yang ada K1-1, K1-3, K1-7, K1-8 dan K1-9 menunjukkan hasil yang positif sedang isolat lainnya negatif. Pada minggu-2 dekomposisi dari 10 isolat bakteri K2-3, K2-4, dan K2-6 menunjukkan hasil yang negatif, sementara isolat lainnya bereaksi positif. Pada minggu-3, semua isolat menunjukkan hasil yang negatif kecuali isolat K3-4 yang bereaksi positif. Pada minggu-4 dekomposisi hanya isolat K4-6 yang menunjukkan hasil positif dan 9 isolat lainnya bereaksi negatif pada minggu-5 dekomposisi hanya isolat K5-1 yang menunjukkan hasil negatif sedangkan K5-2 dan K2-3 menunjukkan hasil positif. Untuk dekomposisi minggu -6 dari 4 isolat yang ada semua menunjukkan hasil yang negatif.

Hasil negatif ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada medium SCA (Simmon Citrat Agar). Hasil pengamatan dari uji sitrat dapat dilihat pada tabel 10, 11, 12, 13, 14, 15 dan 16 sedang sebagai visualisasi dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil uji sitrat pada medium SCA

F. Uji Katalase

Uji katalase merupakan salah satu uji dalam metode identifikasi untuk melihat kemampuan bakteri tertentu dalam menghasilkan enzim katalase. Kebanyakan bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif yang menggunakan oksigen menghasilkan hidrogen peroksida yang sesungguhnya bersifat racun bagi sistem-sistem enzimnya sendiri. Namun organisme tersebut dapat tetap hidup dengan adanya antimetabolit tersebut karena dihasilkannya enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Hadioetomo, 1990).

Hasil pengamatan sebelum dekomposisi (tabel 10) menunjukkan hasil yang positif pada semua isolat kecuali isolat K0-10 yang menunjukkan hasil negatif. Pada dekomposisi minggu-1 (tabel 11) hanya isolat K1-5 yang menunjukkan hasil negatif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil positif. Dekomposisi minggu- 2 (tabel 12) isolat K2-2 dan K2-4 menunjukkan hasil yang positif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil yang positif. Pada dekomposisi minggu-3 (tabel 13) untuk isolat K3-2, K3-3, K3-6 dan K3-8 menunjukkan hasil yang positif sedangkan K3-1, K3-4, K3-5, K3-7 dan K3-9 menunjukkan hasil yang negatif. Minggu-4 dekomposisi (tabel 14) diperoleh isolat K4-2, K4-6 dan K4-8 menunjukkan hasil yang positif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil negatif. Untuk dekomposisi minggu-5 (tabel 15) dan minggu-6 (tabel 16) diperoleh hasil semua isolat menunjukkan reaksi negatif.

G. Uji Motilitas

Uji motilitas bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan bakteri. Pergerakan bakteri disebabkan oleh adanya flagel (Pelczar & Chan, 1986). Sifat

motilitas atau pergerakan bakteri dapat diketahui dengan melihat adanya pertumbuhan bakteri tidak hanya disekitar tusukan ose dalam medium.

Hasil pengamatan sebelum dekomposisi (tabel 10) menunjukkan hasil negatif terhadap isolat K0-2, K0-4, dan K0-5 dan positif terhadap semua isolat yang lain. Minggu-1 dekomposisi (tabel 11) isolat K1-2, K1-4 dan K1-5 menunjukkan hasil negatif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil positif. Minggu-2 dekomposisi (tabel 12) isolat K2-1 dan K2-2 menunjukkan hasil negatif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil positif. Minggu-3 dekomposisi (tabel 13) semua isolat menunjukkan hasil positif. Minggu-4 dekomposisi (tabel 14) isolat K4-1 dan K4-3 menunjukkan hasil negatif sedangkan isolat lainnya menunjukkan hasil positif. Minggu-5 dan minggu-6 dekomposisi semua isolat menunjukkan hasil positif. Hasil pengamatan uji motilitas dapat dilihat pada tabel 10, 11, 12, 13, 14, 15 dan 16.

H. Uji Reduksi Nitrat

Beberapa mikroorganisme mampu menggunakan nitrat (NO_3^-) sebagai akseptor elektron terakhir, nitrat direduksi menjadi nitrit (NO_2^-). Nitrit kemudian direduksi menjadi N_2 oleh mikroorganisme tertentu. Keberadaan nitrit dalam medium dapat diuji dengan asam sulfanilat dan alfa-naftilamin. Nitrit dalam biakan akan bereaksi dengan kedua bahan tersebut dan terlihat sebagai warna merah atau merah muda.

Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa semua isolat bakteri mempunyai kemampuan untuk mereduksi nitrat menjadi nitrit. Hal ini dapat dilihat

pada tabel 10,11,12,13,14,15, dan 16. Kenampakan hasil uji reduksi nitrat dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Uji reduksi nitrat

I. Uji Hidrolisis Gelatin

Gelatin merupakan protein yang diperoleh dari rebusan tulang rawan atau tendon hewan lainnya. Protein ini bila didinginkan akan membentuk gel. Beberapa mikroorganisme mampu menguraikan molekul protein tersebut dengan bantuan eksoenzim yang disebut gelatinase, sehingga asam amino yang dihasilkan dapat digunakan sebagai zat hara. Gelatin yang telah diuraikan oleh mikroorganisme tidak dapat membentuk gel sehingga akan tetap bersifat cair (Lay, 1994).

Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa isolat bakteri yang mampu menghidrolisis gelatin antara lain K2-3, K2-6, K2-9, K3-3, K3-4, K4-1, K4-5, dan K4-6, sedangkan isolat bakteri yang lain tidak mampu menghidrolisis gelatin. Hasil keseluruhan dapat dilihat pada tabel 10, 11, 12, 13, 14, 15, dan 16.

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni, morfologi sel dan uji fisiologis yakni uji TSIA, uji motilitas, indol, sitrat, reduksi nitrat, uji hidrolisis gelatin, pembentukan H_2S dan gas sebelum dilakukannya dekomposisi (minggu-0)

untuk isolat K0-1, K0-3, K0-6, K0-8 dan K0-9 memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri dari genus *Bacillus*. Menurut Holt *et al* (1994) dan Mac fadden (1991), genus *Bacillus* termasuk bakteri gram positif, berspora, katalase positif, reduksi nitrat positif atau negatif, MR positif atau negatif, VP positif atau negatif, hidrolisis gelatin positif ataupun negatif dan bersifat motil atau nonmotil serta menunjukkan hasil yang negatif terhadap indol. Sedang untuk isolat K0-2, K0-4, K0-5, K0-7 dan K0-10 memiliki karakter yang sama terhadap kelompok bakteri dari genus *Clostridium*. Menurut Holt *et al* (1994) dan Mac fadden (1981), genus *Clostridium* termasuk bakteri gram positif, berspora, katalase negatif, reduksi nitrat positif atau negatif, hidrolisis gelatin positif atau negatif, VP negatif, dan bersifat motil atau nonmotil serta menunjukkan hasil yang negatif terhadap indol.

Dari tabel 11, dilihat bahwa pada dekomposisi minggu-1 terdapat isolat K1-6 memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri dari genus *Bacillus*. Sedang untuk isolat K1-1, K1-2, K1-4, K1-7 dan K1-8 memiliki karakter yang sama terhadap kelompok bakteri dari genus *Clostridium*. Untuk isolat K1-3 dan K1-9 memiliki kesamaan ciri dengan kelompok bakteri *Mikrobacterium*. Menurut Holt *et al* (1994) genus *Mikrobacterium* termasuk bakteri gram positif, nonspora, sitrat positif, katalase positif, reduksi nitrat positif atau negatif, MR positif atau negatif, VP positif atau negatif, hidrolisis gelatin positif ataupun negatif dan bersifat motil atau nonmotil serta menunjukkan hasil yang negatif terhadap indol. Isolat K1-5 memiliki kesamaan ciri dengan bakteri kelompok *Nocardia* dimana menurut Holt *et al* (1994) genus *Nocardia* termasuk bakteri gram positif, nonspora, sitrat positif atau negatif, katalase

negatif, reduksi nitrat positif atau negatif, MR positif atau negatif, VP positif atau negatif, hidrolisis gelatin positif ataupun negatif dan bersifat nonmotil serta menunjukkan hasil yang negatif terhadap indol.

Dari tabel 12, dilihat bahwa pada dekomposisi minggu-2 terdapat isolat K2-2 dan K2-4 memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri dari genus *Bacillus*. Sedang untuk isolat K2-5, K2-7, K2-8 dan K2-10 memiliki karakter yang sama terhadap bakteri dari genus *Clostridium*. Isolat K2-1 dan K2-3 memiliki kesamaan ciri dengan bakteri genus *Nocardia*. Untuk isolat K2-6 dan K2-9 memiliki kesamaan ciri dengan genus bakteri *Cellulomonas*. Menurut Holt *et al* (1994) genus *Cellulomonas* termasuk bakteri gram positif, nonspora, sitrat positif atau negatif, katalase positif atau negatif, reduksi nitrat positif, hidrolisis gelatin positif, bersifat motil serta menunjukkan hasil yang negatif terhadap indol.

Dari tabel 13, dilihat bahwa pada dekomposisi minggu-3 terdapat isolat K3-2, K3-6 dan K3-8 memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri dari genus *Bacillus*. Sedang untuk isolat K3-1, K3-5, K3-7 dan K3-9 memiliki karakter yang sama terhadap bakteri dari genus *Clostridium*. Untuk isolat K3-3 dan K3-4 memiliki kesamaan ciri dengan bakteri genus *Cellulomonas*.

Dari tabel 14, dilihat bahwa pada dekomposisi minggu-4 terdapat isolat K4-2 dan K4-8 memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri dari genus *Bacillus*. Sedang untuk isolat K4-4, K4-5, K4-6, K4-7 dan K4-9 memiliki karakter yang sama terhadap bakteri dari genus *Clostridium*. Untuk isolat K4-1 dan K4-3 memiliki kesamaan ciri dengan bakteri dari genus *Nocardia*.

Dari tabel 15, dilihat bahwa pada dekomposisi minggu-5 terdapat isolat K5-3 memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri dari genus *Clostridium*. Untuk isolat K5-1 dan K5-2 memiliki kesamaan ciri dengan bakteri dari genus *Cellulomonas*, sedangkan pada dekomposisi minggu-6 semua isolat yaitu K6-1, K6-2 dan K6-3 memiliki karakter yang sama terhadap bakteri dari genus *Clostridium* (dapat dilihat pada tabel 16).

IV. 6. Peranan Bakteri selama Proses Dekomposisi Daun Gamal

Tabel 17. Jumlah dan genus bakteri yang berperan selama dekomposisi daun gamal (*Glyrcidia sepium*).

Lama Dekomposisi (minggu)	Jumlah Bakteri sel/ml (SPC)	Genus Bakteri				
		1	2	3	4	5
K0	$1,8 \times 10^{10}$	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>	-	-	-
K1	$5,1 \times 10^{10}$	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Nocardia</i>	<i>Mikrobacterium</i>	-
K2	$5,2 \times 10^{11}$	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Nocardia</i>	-	<i>Cellulomonas</i>
K3	$6,9 \times 10^{11}$	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K4	$9,5 \times 10^{11}$	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Nocardia</i>	-	-
K5	$3,7 \times 10^{11}$	<i>Clostridium</i>	-	-	-	<i>Cellulomonas</i>
K6	$1,5 \times 10^{11}$	<i>Clostridium</i>	-	-	-	-

Berdasarkan tabel 17 dapat dilihat bahwa terjadi pergantian genus bakteri yang berperan dalam proses dekomposisi daun gamal. Sebelum proses dekomposisi (M0), diperoleh jumlah total bakteri $1,8 \times 10^{10}$ sel/ml dengan menggunakan metode SPC. Bakteri yang ditemukan ada 2 genus yaitu *Clostridium* dan *Bacillus* dengan Minggu-1 (K1), jumlah total bakteri $5,1 \times 10^{10}$ sel/ml dan terdapat 4 genus bakteri, selain *Clostridium* dan *Bacillus* juga terdapat *Nocardia* dan *Mikrobacterium*. Bertambahnya kelompok bakteri dalam tumpukan daun gamal,



dengan jumlah populasi yang meningkat menyebabkan kenaikan suhu oleh aktifitasnya dimana suhu sebelum dekomposisi yang mencapai 33, 43 °C meningkat hingga 42,86 °C. *Mikrobacterium* pada minggu-2 (K2) tidak dijumpai lagi. Hal ini disebabkan karena pada minggu ini terjadi kenaikan suhu sampai pada 51, 86 °C sementara itu menurut Holt *et al* (1994) *Mikrobacterium* mempunyai pertumbuhan optimum pada suhu 33,5°C sehingga bakteri ini termasuk dalam bakteri mesofilik. Pada kondisi ini ditemukan bakteri genus *Cellulomonas* sehingga jumlah populasinya semakin meningkat sampai pada minggu-4 dekomposisi.

Clostridium, *Bacillus* dan *Cellulomonas* memegang peranan dalam proses dekomposisi minggu-3 (K3) sedangkan *Nocardia* tidak ditemukan. Menurut Holt *et al.* (1994) *Nocardia* mampu tumbuh pada suhu optimum pertumbuhan 37 °C sedangkan suhu tumpukan mencapai 58,14 °C dengan pH 5,34, dan termasuk bakteri mesofilik sehingga pada minggu ini kelompok bakteri ini tidak nampak. Kenaikan suhu ini disebabkan karena aktifitas dari bakteri tersebut dalam memanfaatkan bahan-bahan organik yang terdapat didalam daun gamal (Outerbridge, 1991).

Menurut Holt *et al* (1994) *Clostridium* dapat tumbuh optimum pada suhu 45°C dengan kondisi pH 5 – 7. Melihat karakter tersebut maka bakteri ini mampu bertahan dari awal sampai minggu-6 dekomposisi. Pada Minggu-4 *Nocardia* muncul kembali sedangkan *Cellulomonas* tidak muncul. Pada minggu ini tumpukan mencapai suhu klimaks yaitu berkisar pada 59,57 °C dengan kondisi pH 5,36. Ketidakhadiran *Cellulomonas* disebabkan karena kondisi lingkungan yang sangat ekstrim bagi bakteri ini dan menurut Holt *et al.* (1994) suhu optimum pertumbuhan

Cellulomonas yaitu 36– 43 °C dengan kondisi pH netral. Minggu-5 dekomposisi hanya melibatkan 2 genus bakteri saja yaitu kelompok *Clostridium* dan *Cellulomonas*. Pada minggu ini suhu mulai menurun yaitu berkisar pada 45,71 °C. Kondisi ini masih bersifat ekstrim bagi *Cellulomonas* namun ada jenis *Cellulomonas* tertentu yang mampu bertahan pada kondisi tersebut.

Bacillus diketahui umumnya bersifat termofilik sehingga tidak dijumpai lagi pada minggu-5 dan minggu-6. Hal ini disebabkan karena kondisi lingkungan yang semakin buruk sehingga kemungkinan bakteri ini tidak mati melainkan membentuk endospora untuk melindungi diri dari lingkungan yang ekstrim tersebut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

- Bakteri yang berperan dalam proses dekomposisi daun gamal *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. ex. Walp diperoleh lima genus bakteri yaitu genus *Clostridium*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Mikrobacterium*, dan *Cellulomonas*.
- Genus *Clostridium* berperan selama proses dekomposisi yaitu dari minggu-0 sampai minggu-6, *Bacillus* berperan dari minggu-0 sampai pada minggu-4, *Nocardia* berperan pada minggu-1, minggu-2 dan minggu-4, *Cellulomonas* berperan pada minggu-2, minggu-3 dan minggu-5 dan *Mikrobacterium* berperan hanya pada minggu-1.

V.2. Saran

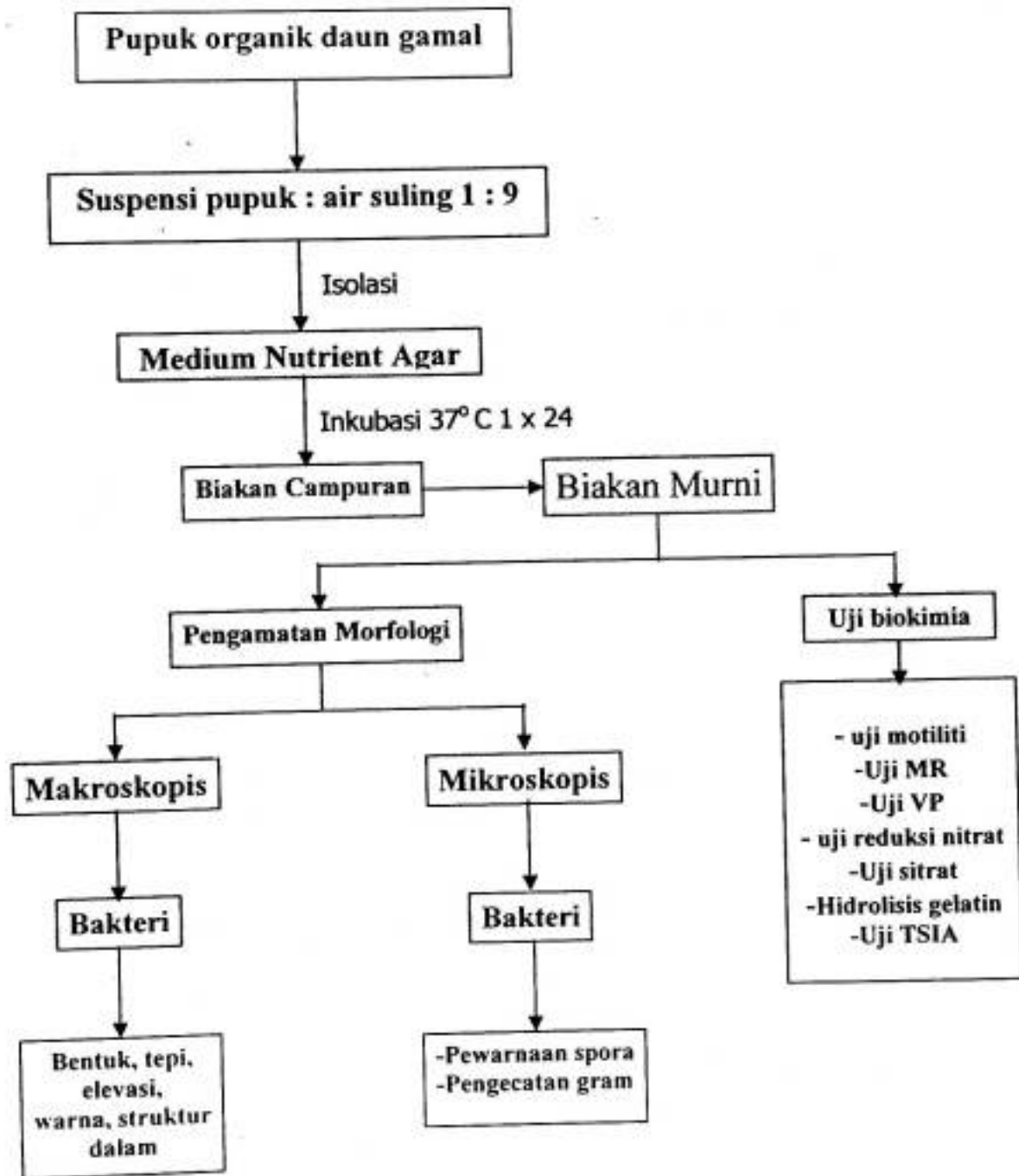
Sebaiknya perlu dilakukan uji fisiologis lebih lanjut untuk mengetahui spesies dari genus bakteri yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2002. **Pengenalan Jenis dan Daya Guna Gamal**. Htm@yahoo.com.
Akses
20 juni 2005.
- Deshmukh, I., 1992. **Ekologi dan Biologi Tropika**. Yayasan Obor Indonesia :
Jakarta.
- Dwijosoeputro, D., 1990. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Djambatan : Jakarta
- , 1976. **Pengantar Mikologi**. Penerbit Alumni : Bandung.
- Tjitrosoepomo, G., 2000. **Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta**. UGM-Press :
Yogyakarta.
- Hadioetomo, R. S., 1990. **Mikrobiologi dalam Praktek Teknik & Prosedur
Laboratorium**. Gramedia : Jakarta.
- Holt, J. G., *et al.* 1994. **Bergeys Manual of Determinative Bacteriology**. Baltimore
maryland : USA.
- Joker, D., 2002, *Glyricidia sepium* (Jacq.) Steud, dalam Makalah Informasi Singkat
Benih. No 27. Desember 2002. <http://www.yahoo.com>. Akses 1 maret 2005.
- Lay, B. W., 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium**. Raja Grafindo Persada :
Jakarta.
- Mac Fadden, J. F., 1981. **Biochemical Tests for Identification of Medical bacteria**.
Baltimore Maryland : USA.
- Madigan, 1997. **Biology of Microorganism 8th ed**. Prentice Hal International Inc.
- Ma'sum, M., J. Soedarsono & E. Susilowati, 2003. **Biologi Tanah**. CPIU Pasca
IAEUP : Jakarta.
- Martoatmojo, 1983. **Gamal Tanaman Serba Guna**. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Murbandono, L. H. S., 2004. **Membuat Kompos**. Cetakan 31 Penebar Swadaya :
Jakarta.

- Outerbridge, B., 1991. **Limbah padat di Indonesia. : Masalah atau Sumber Daya.** Yayasan Obor Indonesia : Jakarta.
- Pelczar, M, J., & Chan E, C, S., 1996. **Dasar-dasar Mikrobiologi cet. I.** UI-Press : Jakarta.
- Rao, S, N, S., 1994. **Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman.** UI-Press : Jakarta.
- Russel, E, W., 1973. **Soil Condition and Plant Growth.** Tenth Ed. Lagunan London and New York.
- Subroto, dan Yusrani, A., 2005. **Kesuburan dan Pemanfaatan Tanah.** Banyumedia : Malang.
- Soeyanto, 1983. **Cara membuat Sampah Jadi Arang dan Kompos.** Yudhistira : Jakarta.
- Sugito, Y.,Y, Nur'aeni dan E, Nihaya, 1995. **Sistem Pertanian Organik.** Fakultas Pertanian UNIBRA : Malang.
- Singleton, P.,1992. **Introduction to Bacteria.** John Wiley & Sons Ltd : England.
- Sutedjo, M. M., A.G. Kartasapoetra & S. Sastroatmodjo, 1996. **Mikrobiologi Tanah.** Rineke Cipta : Jakarta.
- Sutanto, R., 2002. **Penerapan Pertanian Organik.** Kanisius : Yogyakarta.

Skema Kerja



ampiran 2.

Contoh perhitungan populasi dengan metode SPC

Sampel	Tingkat pengenceran			Total Bakteri Sel/ml	keterangan
	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹		
K0	183	7	2	1,8 x 10 ¹⁰	Hitung Pengenceran 10 ⁻⁹
K1	TBUD	51	22	5,1 x 10 ¹⁰	Hitung pengenceran 10 ⁻⁹
K2	52	16	3	5,2 x 10 ¹¹	Hitung pengenceran 10 ⁻¹⁰
K3	TBUD	69	15	6,9 x 10 ¹¹	Hitung pengenceran 10 ⁻¹⁰
K4	TBUD	95	3	9,5 x 10 ¹¹	Hitung pengenceran 10 ⁻¹⁰
K5	TBUD	37	16	3,7 x 10 ¹¹	Hitung pengenceran 10 ⁻¹⁰
K6	152	16	3	1,5 x 10 ¹¹	Hitung pengenceran 10 ⁻¹⁰

eterangan :

- BUD : Terlalu banyak untuk dihitung
- 0 : Sebelum terjadinya dekomposisi
- 1 : Waktu dekomposisi minggu-1
- 2 : Waktu dekomposisi minggu-2
- 3 : Waktu dekomposisi minggu-3
- 4 : Waktu dekomposisi minggu-4
- 5 : Waktu dekomposisi minggu-5
- 6 : Waktu dekomposisi minggu-6

ampiran 3.

Uji Fisiologi/biokimia terhadap beberapa genus bakteri menurut Holt *et al* (1994) dan Mc Fadden (1981)

Genus	Mot	Uji fisiologi/biokimia									
		Ind	MR	VP	Nit	Cit	Gel	Kat	Glu	Lak	H ₂ S
<i>Clostridium</i>	+	-	+	-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	-	+/-
<i>Bacillus</i>	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	-	-
<i>Nocardia</i>	-	-	+/-	+/-	+/-	+	+/-	-	+/-	-	-
<i>Mikrobacterium</i>	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	+/-
<i>Cellulomonas</i>	+	-	+	-	+	+	+	+/-	+	+/-	-

eterangan :

- at : Katalase, Nit : Nitrat, MR : Methyl Red, VP : Voges Proskauer, Mot : Motilitas, Lakt : Laktose, Suk : Sukrose, Glu : Glukose, Ind : Indol, Sit : sitrat, H₂S : Hidrogen Sulfida
- = Hasil uji positif
- = Hasil uji negatif

Bahan Untuk Pembuatan Medium

a. Medium Nutrient Agar (NA)

Komposisi medium NA untuk 1000 ml adalah : aquades 1000 ml, beef ekstrak (3,0 g), pepton (5,0 g), agar-agar (15,0 g).

b. Medium SIM Agar (Sulfide Indol Motility Agar)

Komposisi medium SIM Agar untuk 500 ml adalah : air suling 500 ml, beef ekstrak (1,5 g), pepton (15 g), peptonized iron (0,1 g), natrium thiosulfat (0,0125 g), agar-agar (1,5 g).

c. Medium MR-VP (Methyl Red Voges Proskauer)

Komposisi medium MR-VP untuk 500 ml adalah : air suling 500 ml, peptone (3,5 g), dekstrosa (2,5 g), dikalium fosfat (2,5 g).

d. Medium TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Komposisi medium TSIA untuk 500 ml adalah : air suling 500 ml, ekstrak khamir (1,5 g), ekstrak daging (1,5 g), pepton (7,5 g), protease pepton (2,5 g), laktosa (5,0 g), sukrosa (5,0 g), dekstrosa (0,5 g), ferrous sulfat (0,10 g), NaCl (2,5 g), natrium thiosulfat (0,15 g), agar-agar (6,0 g), phenol red (0,012 g).

e. Medium Simmon's Citrat Agar (SCA)

Komposisi medium SCA untuk 500 ml adalah : air suling 500 ml, natrium citrat (1,0 g), NaCl (2,5 g), magnesium sulfat (0,1 g), monoamonium sulfat (0,5 g), dikalimn fosfat (0,5 g), agar-agar (7,5 g), bromthimol blue (0,04 g).

f. Medium Nutrien Broth (NB)

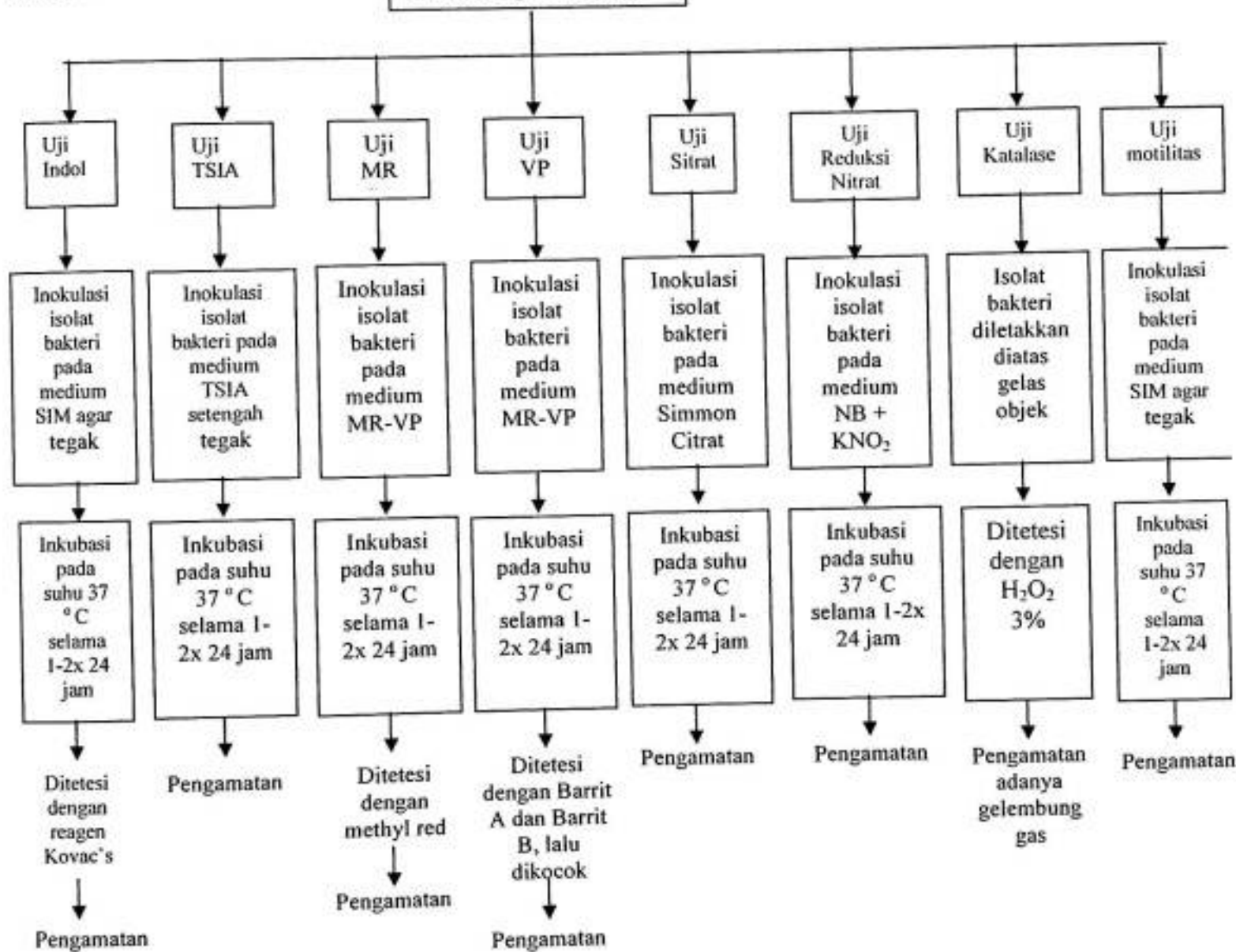
Komposisi medium Nutrient Broth untuk 1000 ml adalah : air suling 1000 ml, pepton (5,0 g), ekstrak daging (0,3 g) dan KNO_2 0,5 %.

g. Medium Gelatin

komposisi medium gelatin untuk 1000 ml adalah : air suling 1000 ml, pepton (5,0 g), ekstrak daging (3,0 g) dan gelatin (12,0 g).

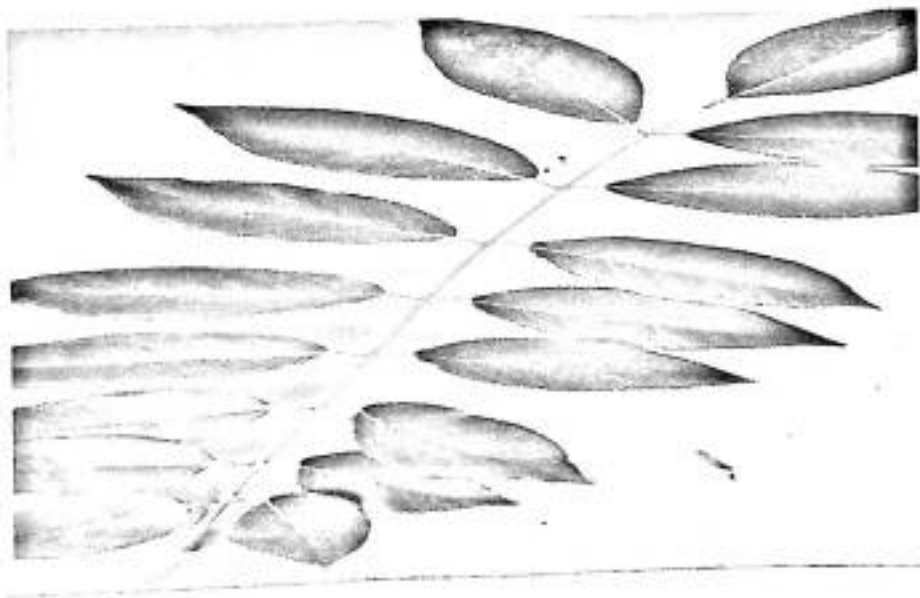
Lampiran 5

Skema Uji Fisiologi





Gambar 7 tanaman gamal *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex. Walp.



Gambar 8 Daun gamal *Glyricidia sepium* (Jacq.) Kunth. Ex Walp.