

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA**

**ASAL SALURAN PENCERNAAN RAYAP KASTA PEKERJA**

*Cryptotermes cynocephalus* Light.

**MUHAMMAD RHOFLI NUR IRSYAH**

**H041 17 1313**



**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2021**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA**

**ASAL SALURAN PENCERNAAN RAYAP KASTA PEKERJA**

*Cryptotermes cynocephalus* Light.

**SKRIPSI**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin*



**MUHAMMAD RHOFLI NUR IRSYAH**

**H041 17 1313**

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2021**

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA  
ASAL SALURAN PENCERNAAN RAYAP KASTA PEKERJA**

*Cryptotermes cynocephalus* Light.

**Disusun dan diajukan oleh**

**MUHAMMAD RHOFLI NUR IRSYAH**

**H041 17 1313**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Program Sarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal 23-02-2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Dr. Nur Haedar, M.Si  
NIP. 196801291997022001

Pembimbing Pertama



Drs. As'adi Abdullah, M.Si  
NIP. 196203031989031007

Ketua Program Studi,



  
Dr. Nur Haedar, M.Si  
NIP. 196801291997022001

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Muhammad Rhofli Nur Irsyah  
NIM : H041171313  
Program Studi : Biologi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Asal Saluran Pencernaan

Rayap Kasta Pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light.

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 23-02-2021

Yang menyatakan



Muhammad Rhofli Nur Irsyah

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warrohmatullahi Wabarokatuh*

*Alhamdulillah rabbil 'alamin* puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat, nikmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam tak lupa pula kita haturkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW, sosok pemimpin dan suri tauladan yang telah diutus untuk membawa rahmat berupa ajaran Islam dan yang telah mengangkat derajat umat manusia dari peradaban jahiliyah menuju peradaban yang penuh dengan ilmu pengetahuan, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Asal Saluran Pencernaan Rayap Kasta Pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light.**" dengan baik.

Skripsi ini merupakan hasil penelitian yang diajukan untuk memenuhi syarat dalam menyelesaikan program pendidikan Sarjana (S1) pada Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

Upaya perwujudan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dalam setiap untaian doa, kasih sayang yang tulus, serta semangat yang tak pernah berhenti untuk penulis. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima

kasih yang sebesar besarnya kepada kedua orang tua tercinta Harinal dan Riri Syahriaty, yang selalu mendoakan dan memotivasi serta menasehati penulis selama proses perkuliahan dan penyusunan skripsi ini. Tak lupa penulis sampaikan rasa terima kasih yang sama kepada seluruh anggota keluarga dan kerabat yang selalu

memberikan semangat selama penulis menduduki bangku kuliah hingga penyusunan skripsi ini.

Terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya penulis haturkan kepada ibu Dr. Nur Haedar, M.Si selaku Pembimbing Utama, dan bapak Drs. As'adi Abdullah, M.Si selaku Pembimbing Pertama, atas setiap ilmu, perhatian dan waktu yang diberikan dalam membimbing dan mengarahkan penulis serta memberi motivasi dan saran-saran yang membangun dalam proses penyusunan skripsi ini hingga selesai, tanpa beliau penulis tidak akan dapat menyelesaikan skripsi ini.

Berbagai kendala penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini, namun atas dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melalui kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada :

- ❖ Ibu Prof. Dr. Dwia Aries Tina P., M.A, selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
- ❖ Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, beserta staf pegawainya.
- ❖ Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si, selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- ❖ Ibu Dr. Masniawati, S.Si., M.Si. selaku Penasehat Akademik (PA), yang senantiasa memberikan arahan kepada penulis sejak penulis memulai studinya hingga selesai.

- ❖ Kepada ibu Dr. Syahribulan, M.Si dan Ibu Dr. Masniawati, S.Si., M.Si. selaku Tim Penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan kritik dan saran yang tentunya sangat bermanfaat bagi penulis.
- ❖ Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- ❖ Kepada Kak Fuad Gani S.Si penulis haturkan banyak terima kasih atas bantuan yang diberikan selama berkuliah, baik berupa ilmu, kritik, dan saran yang sangat berharga bagi penulis.
- ❖ Kepada Kak Nenis Sardiani S.Si, Kak Heriyadi, S.Si, Kak Rihuh Wardhani S.Si, Kak Syafrian Nur Muhammad, Kak Muhammad Syahdan Aska dan Kak Shafira Chaerunnisa penulis haturkan banyak terima kasih atas bantuan, bimbingan, dan nasehatnya yang sangat berharga bagi penulis.
- ❖ Teman-teman seperjuangan di Lab Mikrobiologi yaitu Donny Suherman dan Masykur yang telah menemani penulis selama penelitian ini.
- ❖ Saudara-saudariku Bioverge17t dan Biologi 2017 yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu terima kasih atas segala ukiran cerita yang menarik baik suka maupun duka serta pelajaran besar dalam dinamika kehidupan mahasiswa.
- ❖ Saudara-saudariku Proton dan Boys yang tidak dapat disebutkan namanya satu per satu terima kasih atas segala dukungan dan motivasinya selama mengerjakan hingga menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Semua pihak yang ikut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan

*Wassalamu 'alaikum Warrohmatullahi Wabarokatuh*

Makassar, 23 Februari 2021

Muhammad Rhofli Nur Irsyah

## ABSTRAK

Rayap merupakan serangga sosial yang hidup secara berkoloni dan memiliki peranan besar dalam proses dekomposisi material organik tanah dan kayu yang mati. Kemampuan yang dimiliki rayap dalam merombak material-material organik seperti selulosa tidak terlepas dari keberadaan bakteri selulolitik di dalam saluran pencernaannya. Bakteri selulolitik memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim selulase yang mampu merombak selulosa dengan mengubah monomer-monomer glukosa menjadi sumber karbon dan sumber energi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan kapasitas degradasi selulosa bakteri selulolitik asal saluran pencernaan rayap kasta pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light. Karakteristik bakteri ditentukan berdasarkan uji morfologi dan uji fisiologis sedangkan uji kapasitas degradasi selulosa dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media minimal yang ditambahkan Whatman Filter Paper sebagai sumber selulosa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat RPe 5 dan RPe 9 diduga termasuk ke dalam genus *Bacillus* sedangkan isolat RPe 7 dan RPe 11 diduga termasuk ke dalam genus *Microbacterium*. Kapasitas degradasi selulosa tertinggi ditunjukkan oleh isolat RPe 5 yaitu 90,10%.

Kata Kunci: Rayap, Bakteri Selulolitik, Degradasi Selulosa

## ABSTRACT

Termites are social insects that live in colonies and have a big role in the decomposition of soil organic material and deadwood. The ability of termites to remodel organic materials such as cellulose cannot be separated from the presence of cellulolytic bacteria in their digestive tract. Cellulolytic bacteria can produce cellulase enzymes that can remodel cellulose by converting glucose monomers into carbon and energy sources. This study aims to determine the characteristics and capacity of cellulose degradation of cellulolytic bacteria from the digestive tract of the worker caste *Cryptotermes cynocephalus* Light. Bacterial characteristics were determined based on morphological and physiological tests, while the cellulose degradation capacity test was carried out by growing bacteria on minimal media added by Whatman Filter Paper as a source of cellulose. The results showed that RPe 5 and RPe 9 isolates were thought to belong to the genus *Bacillus* while RPe 7 and RPe 11 isolates were suspected to belong to the genus *Microbacterium*. The highest cellulose degradation capacity was shown by RPe 5 isolates, namely 90.10%

Keywords: Termites, Cellulolytic Bacteria, Cellulose Degradation

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Tujuan Penelitian .....	3
I.3 Manfaat Penelitian .....	4
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
II.1 Tinjauan Umum Rayap .....	5
II.2 Selulosa .....	11
II.3 Bakteri Selulolitik .....	14

II.4 Karakterisasi Bakteri .....	17
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
III.1 Alat .....	19
III.2 Bahan .....	19
III.3 Cara Kerja .....	19
III.3.1 Sterilisasi .....	19
III.3.2 Pembuatan Media CMC .....	20
III.3.3 Pengambilan Sampel Rayap .....	20
III.3.4 Isolasi Bakteri Pendegradasi Selulosa .....	20
III.3.5 Pembuatan Stok Kultur .....	21
III.3.6 Uji Kapasitas Hidrolisis Selulosa .....	21
III.3.7 Uji Degradasi Selulosa .....	21
III.3.8 Karakterisasi Bakteri .....	23
III.3.9 Analisis Data .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
IV.1 Isolasi Bakteri Selulolitik .....	26
IV.2 Uji Kapasitas Hidrolisis Selulosa .....	28
IV.3 Uji Degradasi Selulosa .....	30
IV.3.1 Hasil Perhitungan Jumlah Total Bakteri .....	30
IV.3.2 Kapasitas Degradasi Selulosa .....	31
IV.4 Karakterisasi Bakteri Selulolitik .....	34
IV.4.1 Pengamatan Morfologi Koloni dan Morfologi Sel .....	34

IV.4.2 Pengamatan Uji Biokimia .....	35
IV.4.2.1 Uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> ) .....	37
IV.4.2.2 Uji SIM ( <i>Sulfide Indole Motility</i> ) .....	38
IV.4.2.3 Uji Sitrat .....	39
IV.4.2.4 Uji Fermentasi Karbohidrat .....	40
IV.4.2.5 Uji Katalase .....	42
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>44</b>
V.1 Kesimpulan .....	44
V.2 Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Pengamatan Morfologi Secara Makroskopik pada Media CMC Agar .....	26
2. Hasil Pengukuran Indeks Selulolitik .....	29
3. Hasil Pengamatan Morfologi dan Morfologi Sel Isolat Bakteri Selulolitik .....	34
4. Hasil Pengujian Biokimia Bakteri Selulolitik .....	36
5. Hasil Perhitungan Total Bakteri .....	57
6. Hasil Perhitungan Berat Kering Whatman Filter Paper .....	57
7. Hasil Perhitungan Kapasitas Degradasi Selulosa .....	57
8. Tabel Hasil Karakterisasi Bakteri Selulolitik .....	59

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Morfologi Rayap Kasta Pekerja <i>Cryptotermes cynocephalus</i> .....	9
2. Mekanisme Pencernaan Rayap .....	10
3. Struktur Serat Selulosa .....	13
4. Hasil Pemurnian Isolat Bakteri Selulolitik .....	27
5. Hasil Uji Kapasitas Hidrolisi Selulosa Bakteri Selulolitik .....	28
6. Grafik Hasil Perhitungan Total Bakteri .....	30
7. Grafik Hasil Perhitungan Kapasitas Degradasi Selulosa .....	32
8. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dibawah Mikroskop Stereo dengan Perbesaran 30X .....	35
9. Hasil Pengecatan Gram Bakteri Selulolitik dengan Perbesaran 1000X .....	35
10. Hasil Uji TSIA pada Bakteri Selulolitik .....	37
11. Hasil Uji SIM pada Bakteri Selulolitik .....	39
12. Hasil Uji Sitrat pada Bakteri Selulolitik .....	40
13. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat pada Bakteri Selulolitik .....	41
14. Hasil Uji Katalase pada Bakteri Selulolitik .....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Skema Kerja Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Asal Rayap Pekerja..	51
2. Skema Kerja Uji Hidrolisis Selulosa .....	52
3. Skema Kerja Kapasitas Degradasi Selulosa .....	53
4. Skema Kerja Karakterisasi Bakteri Selulolitik .....	54
5. Identifikasi Rayap <i>Cryptotermes cynocephalus</i> Light. ....	56
6. Hasil Perhitungan .....	57
7. Perhitungan Kapasitas Degradasi Selulosa .....	58
8. Tabel Hasil Karakterisasi Bakteri Selulolitik .....	59
9. Foto Prosedur Penelitian .....	60
10. Gambar Hasil Degradasi Whatman Filter Paper .....	61
11. Gambar Kultur Degradasi Whatman Filter Paper .....	62

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1 Latar Belakang**

Rayap merupakan serangga sosial yang hidup secara berkoloni dalam suatu komunitas dan memiliki tatanan kasta dalam koloninya. Setiap kasta memiliki bentuk fisik yang berbeda dan berfungsi sesuai dengan tugas masing-masing kasta. Sebagai hewan yang hidup berkoloni, rayap umumnya membuat sarang pada tempat yang mengandung material-material organik. Rayap sering diidentikkan dengan kerusakan-kerusakan bangunan, komponen kayu dalam rumah, buku-buku arsip, dokumen serta beberapa jenis tanaman pertanian maupun perkebunan yang tak luput dari serangan rayap (Habibi *et al.*, 2017). Rayap memiliki peranan besar dalam proses dekomposisi material organik tanah dan mendekomposisi kayu yang mati. Rayap biasanya dikategorikan sebagai hama karena dapat menyerang tanaman apabila material-material organik yang berperan sebagai bahan makanannya tidak terpenuhi. Hal tersebut menyebabkan rayap bersifat parasit karena sering membangun sarang pada tempat-tempat yang mengandung material organik sehingga dapat merusak struktur dari tempat tersebut seperti bangunan, perabotan, kayu dan buku-buku atau bahan yang mengandung selulosa (Tampubolon *et al.*, 2015).

Kemampuan yang dimiliki rayap dalam merombak material-material organik seperti selulosa tidak terlepas dari keberadaan mikroorganisme di dalam saluran pencernaannya. Kemampuan rayap dalam mendegradasi selulosa ini dimungkinkan karena keberadaan bakteri selulolitik di dalam saluran cernanya (Ristianti *et al.*, 2016). Saluran pencernaan rayap merupakan tempat bagi sebagian

besar simbiosis untuk hidup, dimana rayap sangat bergantung pada keberadaan bakteri untuk mencerna selulosa dalam ususnya. Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan dalam mencerna selulosa dengan mengubah monomer-monomer glukosa menjadi sumber karbon dan sumber energi. Keberadaan bakteri di dalam usus rayap merupakan suatu bentuk interaksi yang menguntungkan (simbiosis mutualisme). Rayap memberikan perlindungan berupa tempat yang anaerob dan makanan bagi bakteri sementara bakteri tersebut menyumbangkan enzim selulase untuk merombak selulosa bagi rayap (Ristianti *et al.*, 2016).

Bakteri yang bersimbiosis dalam usus rayap berperan penting dalam fungsi fisiologis rayap misalnya pencernaan selulosa dan hemiselulosa, asetogenesis, hidrogenesis, metanogenesis, reduksi sulfat, dan fiksasi nitrogen. Selain itu, bakteri pada usus rayap juga menciptakan kondisi yang optimal untuk melakukan simbiosis melalui produksi nutrisi dan pemeliharaan pH serta kondisi anaerobik dalam usus (Antriana, 2014). Proses perombakan selulosa didasari oleh enzim selulase yang mampu mereduksi selulosa menjadi bentuk yang lebih sederhana (Rangaswamy *et al.*, 2015).

Degradasi selulosa dilakukan oleh enzim selulase yang berfungsi melakukan hidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4 glikosidik dalam selulosa (Lakhundi *et al.*, 2015). Enzim selulase merupakan enzim yang mampu mendegradasi selulosa dengan produk utamanya yaitu glukosa, selobiosa dan selooligosakarida. Selulase memiliki 3 jenis sistem enzim yang terdiri dari endo-1,4- $\beta$ -glukanase, ekso-1,4- $\beta$ -glukanase dan  $\beta$ -D-glukosidase. Ketiga sistem ini bekerja secara sinergis untuk menghasilkan hidrolisis selulosa yang efektif dengan mendegradasi selulosa dan melepaskan gula

pereduksi sebagai produk akhirnya. Endo-1,4-  $\beta$ -glukanase memotong ikatan rantai dalam selulosa menghasilkan molekul selulosa yang lebih pendek, ekso-1,4- $\beta$  glukanase memotong ujung rantai selulosa menghasilkan molekul selobiosa, sedangkan  $\beta$ -D-glukosidase memotong molekul selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Purkan *et al.*, 2015).

Selulosa merupakan salah satu polisakarida yang paling melimpah di bumi dan banyak di temukan pada jamur dan tumbuhan (Liu *et al.*, 2019). Ketersediaan ini memberikan berbagai interaksi antar organisme yang terjadi di lingkungan. Dekomposisi selulosa yang dilakukan oleh sejumlah besar bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase memberikan ketersediaan senyawa organik dan energi yang dapat digunakan oleh organisme lain (Bethera *et al.*, 2016).

Bakteri pendegradasi selulosa yang berada pada saluran pencernaan rayap memiliki potensi tinggi dalam proses degradasi selulosa. Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian mengenai Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Asal Saluran Pencernaan Rayap Kasta Pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light.

## **I.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui karakteristik isolat bakteri pendegradasi selulosa yang berasal dari saluran pencernaan rayap *Cryptotermes cynocephalus* Light.
2. Mengetahui kapasitas degradasi selulosa oleh isolat bakteri pendegradasi selulosa asal saluran pencernaan rayap *Cryptotermes cynocephalus* Light.

### **I.3 Manfaat Penelitian**

Sebagai sumber informasi ilmiah mengenai potensi isolat bakteri asal saluran pencernaan rayap kasta pekerja *Cryptotermes cynocephalus* Light. dalam mendegradasi selulosa.

### **I.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2020 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Tinjauan Umum Rayap**

Rayap merupakan serangga yang termasuk ke dalam Ordo Isoptera, memiliki tubuh yang lunak dan berwarna terang. Rayap hidup secara berkoloni, dan memiliki tatanan kasta dalam koloninya. Dalam satu koloni rayap terdiri atas tiga kasta dengan pembagian tugas yang jelas. Jumlah spesies rayap di dunia ada sekitar 2.648 spesies yang digolongkan ke dalam tujuh famili dan 281 genus. Rayap yang hidup di Indonesia dapat dibagi ke dalam tiga famili besar yaitu; famili Kalotermitidae, famili Rhinotermitidae, dan famili Termitidae (Savitri *et al.*, 2016). Famili Termitidae merupakan famili dengan jumlah anggota spesies yang terbanyak. Sekitar 85% total spesies rayap yang telah diidentifikasi merupakan anggota famili Termitidae. Famili Kalotermitidae memiliki 411 spesies, famili Rhinotermitidae memiliki 305 spesies rayap. Famili rayap lainnya seperti famili Mastotermitidae dan family Serritermitidae hanya memiliki satu anggota spesies rayap (Ristiati *et al.*, 2016).

Beberapa jenis rayap di Indonesia yang secara ekonomi sangat merugikan karena menjadi hama adalah jenis rayap tanah seperti *Coptotermes curvignathus*, *Macrotermes gilvus*, *Schedorhinotermes javanicus*. Selain itu, jenis rayap kayu kering seperti *Cryptotermes Cynocephalus* juga menjadi hama dalam kehidupan manusia (Tampubolon, 2015). Rayap kayu kering adalah hama serius yang banyak merusak struktur kayu di negara Filipina. Hampir tidak ada rumah di negara ini yang bebas dari serangan rayap kayu kering, utamanya rumah yang penuh dengan kayu struktural, furnitur, lantai kayu keras, dan artikel kayu lainnya. Dua spesies

yang dikaitkan dengan infestasi rayap kayu kering di Filipina, yaitu *Cryptotermes cynocephalus* Light. dan *C. dudleyi* Banks. Spesies ini dianggap asli dari wilayah Indonesia dan didistribusikan secara luas dari Hawaii ke Trinidad. Rayap kayu kering hidup di tempat yang kering tanpa ada hubungan dengan tanah atau dengan sumber kelembaban. *C. cynocephalus* dan *C. dudleyi* sering dianggap remeh tetapi memiliki tingkat kerusakan yang sangat tinggi. Meskipun memiliki ukuran yang kecil dalam hal ukuran koloni jika dibandingkan dengan rayap bawah tanah, akan tetapi koloni rayap kayu kering mampu memberikan potensi kerusakan yang serius (Romano & Acda, 2017).

Rayap merupakan serangga sosial yang hidup dalam suatu komunitas yang dikenal dengan istilah koloni. Koloni rayap terdiri dari tiga kasta, yaitu kasta prajurit, kasta pekerja, dan kasta reproduktif. Setiap kasta memiliki bentuk fisik yang berbeda sesuai dengan fungsi tugasnya masing-masing (Habibi *et al.*, 2017).

a) Kasta Prajurit

Golongan kasta ini dapat dengan mudah dikenali dari bentuk kepalanya yang besar dan memiliki kulit kepala yang tebal. Peranan kasta prajurit adalah melindungi koloni dari gangguan luar, khususnya semut dan predator lainnya. Kasta prajurit mampu menyerang musuh dengan mandibel yang dapat menusuk, mengiris, dan menjepit.

b) Kasta Pekerja

Kasta pekerja merupakan anggota yang sangat penting dalam koloni rayap. Sekitar 80-90% dari anggota koloni rayap merupakan individu-individu kasta pekerja. Kasta pekerja umumnya berwarna pucat dengan kutikula (lapisan kulit) hanya sedikit mengalami penebalan sehingga tampak menyerupai nimpa.

Walaupun kasta pekerja tidak terlibat dalam proses perkembangbiakan koloni dan pertahanan, hampir semua tugas koloni dikerjakan oleh kasta ini. Kasta pekerja dapat disebut sebagai “inti koloni rayap.” Mereka berkomunikasi dengan anggota koloni lain dengan menggunakan feromon. Mereka mengandalkan indra pendeteksi (*Olfactory*), pendeteksi rasa (*Gustatory*), dan pendeteksi mekanis (*Mechanoreceptor*).

c) Kasta Reproduksi

Kasta reproduktif merupakan individu-individu rayap yang memiliki kemampuan untuk mendukung proses perkembangbiakan. Mereka dibedakan menjadi dua golongan yaitu:

- 1) Kasta reproduktif primer, terdiri dari laron (alates), ratu, dan raja.
- 2) Kasta reproduktif sekunder atau neoten

Dalam biosfera, rayap memiliki peranan penting sebagai serangga pengurai atau dekomposer yang bermanfaat bagi lingkungan. Namun, semakin meningkatnya jumlah penduduk mengubah habitat rayap menjadi bangunan perumahan yang berdampak pada semakin menyempitnya lingkungan hidup rayap dan mengurangi sumber makanan rayap. Di alam mempertahankan hidupnya rayap memperluas wilayah jelajahnya dalam mencari sumber makanan dengan menyerang apa saja yang ditemui (Savitri *et al.*, 2016). Serangannya pada kayu konstruksi bangunan dan bahan lignoselulosa lainnya telah dilaporkan hampir di seluruh propinsi di Indonesia. Bahkan kerugian ekonomis yang terjadi akibat serangannya pada bangunan gedung terus meningkat dari tahun ke tahun. Pada tahun 2000 kerugian tersebut diperkirakan mencapai Rp. 3,73 triliun. Sejalan dengan meluasnya pembukaan wilayah hutan, reklamasi lahan, pembangunan

pemukiman, serta lahan pertanian dan perkebunan, ancaman serangan rayap pada bangunan gedung, tanaman pertanian, perkebunan dan kehutanan cenderung terus meningkat (Subekti, 2010).

Rayap mampu merusak bangunan gedung, bahkan juga menyerang dan merusak perabotan yang berada di dalamnya seperti perabotan berbahan kayu, buku-buku, kabel listrik dan telepon, serta barang-barang lainnya yang disimpan (Iswanto, 2005). Di antara serangga perusak kayu yang penting di Indonesia adalah rayap kayu kering *Cryptotermes cynocephalus* Light. Rayap ini banyak menyerang komponen rumah di bawah atap misalnya kusen, daun pintu, daun jendela, plafon dan sebagainya. Di samping itu rayap *Cryptotermes cynocephalus* juga menjadikan perabotan atau barang yang mengandung selulosa juga menjadi sasarannya misalnya barang dari rotan atau bambu dan arsip dokumen (Sumarni, 1989).

Sistematika rayap *Cryptotermes cynocephalus* Light adalah sebagai berikut (Scheffrahn *et al.*, 2000):

Filum : Arthropoda  
Classis : Insecta  
Ordo : Isoptera  
Familia : Kalotermitidae  
Genus : *Cryptotermes*  
Species : *Cryptotermes cynocephalus* Light.

*Cryptotermes cynocephalus* merupakan salah satu spesies terkecil dalam genus *Cryptotermes*, dimana alate dari *Cryptotermes cynocephalus* memiliki ukuran lebih kecil dan memiliki sayap yang lebih pendek (sekitar 6 mm) dibandingkan dengan spesies rayap lainnya (Scheffrahn *et al.*, 2000). Menurut Bacchus (1987) bahwa *Cryptotermes cynocephalus* dapat ditemukan di lingkungan

liar maupun domestik dimana habitat utama rayap *Cryptotermes cynocephalus* berada pada kayu kayu kering seperti panel kayu, kusen, lemari, pintu bangunan, dan pohon kayu kering.

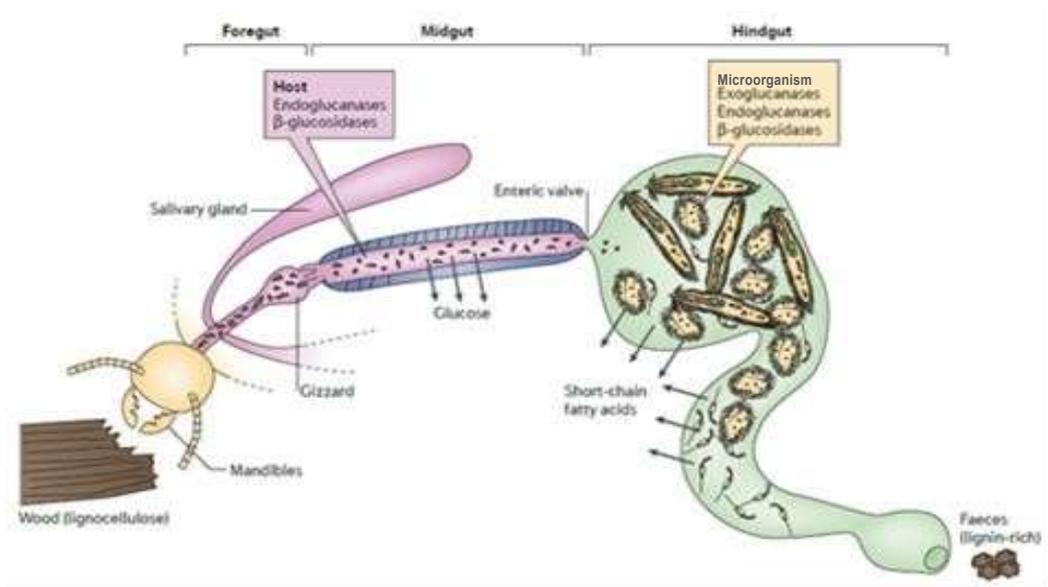
*Cryptotermes cynocephalus* umumnya hidup dalam kayu mati yang telah kering atau tempat lain dengan tingkat kelembaban yang sangat rendah. Hama ini umum terdapat di rumah-rumah dan perabot-perabot seperti meja, kursi, arsip. Tanda serangannya adalah terdapatnya butir-butir ekskremen kecil berwarna kecoklatan yang sering berjatuhan di lantai atau di sekitar kayu yang diserang. Rayap ini juga tidak berhubungan dengan tanah secara langsung (Waryono, 2008).



**Gambar 1.** Morfologi Rayap Kasta Pekerja *Cryptotermes cynocephalus*  
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020)

Menurut Bacchus (1987) dalam bukunya *A Taxonomic and Biometric Study of The Genus Cryptotermes* (Isoptera: Kalotermitidae), menjelaskan bahwa rayap *Cryptotermes cynocephalus* memiliki kepala yang berbentuk bulat dengan tanda Y yang berwarna pucat pada bagian depan kepala. Rayap ini memiliki labrum berwarna kekuningan serta antena dan pronotum yang berwarna pucat. Antena rayap *Cryptotermes cynocephalus* berbentuk moniliform dengan segmen yang berjumlah 10-13 segmen. Bagian thorax rayap *Cryptotermes cynocephalus* terdiri atas 3 segmen sedangkan pada bagian abdomen terdiri atas 8 segmen.

Makanan utama rayap kayu kering *Cryptotermes cynocephalus* adalah selulosa. Selulosa merupakan karbohidrat yang menyusun dinding sel kayu dan merupakan bagian terbesar dari kayu, jumlahnya bervariasi tergantung jenis kayunya. Komponen lain yang penting, yang menyusun dinding sel (pada lamella tengah) ialah lignin. Komponen non karbohidrat ini merupakan senyawa aromatik dalam polimer yang sangat kompleks (Sumarni, 1989).



**Gambar 2.** Mekanisme Pencernaan Rayap  
(Sumber: Brune, 2014)

Saluran pencernaan rayap secara garis besar terbagi menjadi tiga bagian, yaitu usus depan (*foregut*), usus tengah (*midgut*), dan usus belakang (*hindgut*). Usus belakang rayap merupakan tempat utama terjadinya pencernaan selulosa oleh organisme simbiosis (Dwisiska, 2013). Pencernaan selulosa pada rayap melibatkan aktivitas inang dan bakteri pada ususnya. Pada bagian usus depan, partikel kayu yang dimakan oleh rayap akan bercampur dengan enzim dari kelenjar ludah dan selanjutnya dihancurkan oleh ampela otot. Setiap glukosa yang dilepaskan di usus

tengah diserap melalui epitel, sedangkan partikel kayu yang dicerna sebagian melewati katup enterik ke perut usus belakang yang tebal. Partikel tersebut akan difagositosisasi oleh bakteri selulolitik. Polisakarida yang tersisa akan dihidrolisis menggunakan enzim selulase dan hemiselulase yang disekresikan ke dalam vakuola pencernaan rayap. Produk fermentasi mikroba yang sebagian besar merupakan asam lemak rantai pendek diserap oleh inang, dan residu lignin dibuang sebagai feses (Brune, 2014).

Hubungan antara rayap dan bakteri selulolitik merupakan simbiosis mutualisme. Keberadaan bakteri selulolitik bagi rayap sangatlah penting dalam mencerna komponen selulosa yang dimakan oleh rayap, tanpa adanya bakteri selulolitik tersebut rayap tetap akan memakan komponen selulosa tetapi tidak mampu bertahan hidup lama. Hal ini disebabkan karena bakteri selulolitik bertanggung jawab untuk menghasilkan sebagian besar produk fermentasi yang akhirnya diserap oleh rayap. Sementara itu, bakteri selulolitik hanya membutuhkan tempat untuk hidup dan memperoleh selulosa sebagai sumber makanannya (Brune, 2014).

## **II. 2 Selulosa**

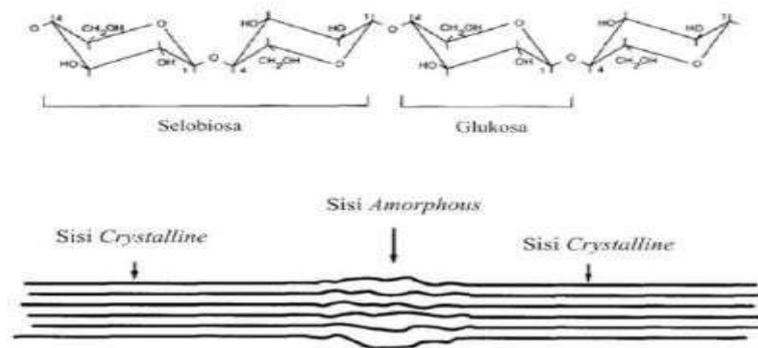
Selulosa dikatakan sebagai bahan organik terbarukan yang paling melimpah di bumi dikarenakan produksi biomassa tahunan yang diperkirakan lebih dari  $1,5 \times 10^{11}$  ton, dan dianggap sebagai sumber bahan baku untuk berbagai macam produk yang berbeda-beda. Selulosa disintesis dalam organisme hidup, dari distribusi yang luas pada tanaman yang lebih tinggi seperti ganggang, jamur, bakteri, invertebrata, dan bahkan beberapa hewan laut seperti tunicata. Selulase adalah sekelompok enzim katalisis hidrolisis selulosa. Mereka diproduksi oleh

jamur, bakteri, dan protozoa, juga oleh organisme lain seperti tanaman dan hewan (Phuong *et al.*, 2015).

Selulosa adalah polisakarida linear residu glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1, 4-glikosida. Ketersediaan selulosa yang melimpah menjadikannya bahan baku yang menarik untuk memproduksi banyak produk komoditas yang penting secara industri. Adanya keberadaan enzim selulase maka selulosa dapat dikonversi menjadi glukosa yang merupakan produk multiutilitas, dalam proses yang jauh lebih murah dan menguntungkan secara biologis (Gupta, 2011). Selulosa merupakan karbohidrat utama yang disintesis oleh tanaman dan menempati hampir 60% komponen penyusun struktur tumbuhan. Jumlah selulosa di alam sangat berlimpah sebagai sisa tanaman atau dalam bentuk sisa pertanian seperti jerami padi, kulit jagung, gandum, kulit tebu dan tumbuhan lainnya (Nofu *et al.*, 2014).

Di alam, selulosa terdapat dalam bentuk serat. Serat-serat selulosa mempunyai kekuatan mekanik yang tinggi. Selulosa merupakan suatu polimer yang berantai lurus yang terdiri dari unit-unit glukosa. Bobot molekul selulosa alamiah sukar diukur, dikarenakan degradasi yang terjadi selama isolasi. Panjang rantainya berbeda-beda dari jenis tumbuhan yang berbeda. Selulosa termasuk senyawa polisakarida yang mempunyai rumus empiris  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , dimana  $n$  berkisar dari 2000 sampai dengan 3000 (Bahri, 2015).

Hidrolisis selulosa secara lengkap merinci selulosa dan konversi biologis berikutnya menjadi glukosa sebagai produk akhir yang difasilitasi oleh aktivitas sinergis dari tiga jenis selulase utama: endoglucanases (EC 3.2.1.4), exocellobiases, termasuk cellobiohydrolases (CBHs) (EC 3.2.1.91), dan  $\beta$  glucosidase (EC 3.2.1.21). Semua enzim ini dihidrolisisasi pada ikatan  $\beta$ -1,4 dalam rantai selulosa (Phuon *et al.*, 2015).



**Gambar 3.** Struktur Serat Selulosa  
(Sumber: Ambriyanto, 2010).

Selulosa adalah polimer yang tidak bercabang yang terdiri dari 100-14.000 monosakarida atau lebih. Ikatan  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) tidak dapat diputuskan oleh enzim  $\alpha$ -amilase. Molekul-molekul selulosa seluruhnya berbentuk linier, dimana setiap molekul glukosa sebagai penyusun polimer dapat berotasi hingga 180° dan mempunyai kecenderungan kuat membentuk ikatan-ikatan hydrogen intra dan intermolekul. Ikatan antar fibril ini yang kemudian membentuk selulosa crystalline. Berkas-berkas molekul sellulosa membentuk agregat bersama-sama dalam bentuk mikrofibril. Mikrofibril memiliki dimensi antara 3-4 nm pada tanaman tingkat tinggi hingga 20 nm pada *Valonia macrophysa*, dimana setiap mikrofibril terdiri dari beberapa rantai selulosa. Mikrofibril ini memiliki orientasi yang sangat besar untuk tersusun secara pararel. Mikrofibril ini berada pada tempat-tempat tertentu dengan struktur yang teratur (*crystalline*) dan pada tempat-tempat tertentu dengan struktur yang kurang teratur (*amorphous*). Struktur amorphous terjadi karena proses kristalisasi tidak berlangsung sempurna pada semua mikrofibril yang terbentuk (Ambriyanto, 2010).

Enzim selulase memainkan peran yang penting dengan aplikasi industri yang berlimpah seperti industri tekstil, deterjen, industri pulp dan kertas, meningkatkan pencernaan pakan ternak, dan industri makanan (Phuong *et al.*, 2015).

Aplikasi selulosa dalam bidang industri salah satunya dapat ditemukan pada industri pulp dan kertas. Kertas adalah bahan yang tipis dan rata yang berperan sebagai media utama untuk menulis, mencetak serta melukis dan banyak kegunaan lain yang dapat dilakukan dengan kertas misalnya kertas pembersih (tissue) yang digunakan untuk hidangan, kebersihan ataupun toilet. Pembuatan kertas merupakan hasil pemisahan serat dari bahan baku berserat (kayu maupun non kayu) melalui berbagai proses (mekanis, semikimia dan kimia) yang dihasilkan dengan kompresi serat yang berasal dari pulp. Serat yang digunakan biasanya adalah alami yang mengandung selulosa dan hemiselulosa (Bahri, 2015). Serat kasar merupakan salah satu komponen polisakarida non-pati yang terdiri atas selulosa (Mulyasari, 2015).

### **II. 3 Bakteri Selulolitik**

Bakteri selulolitik umumnya dijumpai pada habitat yang kaya akan selulosa seperti ekosistem mangrove, sampah, daun, kayu lapuk, dan ditemukan juga pada beberapa organisme yang mampu menggunakan selulosa sebagai sumber makanannya. Selulolitik sendiri berarti proses pemecahan selulosa menjadi senyawa atau unit-unit glukosa yang lebih kecil. Beberapa genus bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik antara lain *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Poliangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* dan *Aeromonas*. Bakteri tersebut mampu mendegradasi selulosa oleh karena kemampuannya dalam menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang akan saling bekerjasama (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

Bakteri pendegradasi selulosa (Bakteri Selulolitik) merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat membantu proses pemecahan selulosa menjadi

senyawa yang lebih sederhana seperti yang terdapat pada sisa pelapukan kayu dan tanaman (Nofu *et al.*, 2014). Bakteri selulolitik memiliki kemampuan untuk mempercepat dekomposisi bahan organik. Adanya bakteri selulolitik yang mampu menghasilkan enzim berguna sebagai agen pendegradasi selulosa di alam. Bakteri selulolitik mampu menghasilkan enzim selulase dan menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa (Kurniawan *et al.*, 2019).

Seperangkat enzim yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik dapat menghidrolisis selulosa kristal secara sinergis menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa yang dapat digunakan oleh mikroorganisme tersebut sebagai sumber karbon bagi pertumbuhannya. Proses hidrolisis berlangsung jika terjadi kontak antara sel bakteri dengan substrat selulosa (Mulyasari *et al.*, 2015). Proses penguraian selulosa secara alami memerlukan bantuan mikroorganisme yang memproduksi enzim selulase. Enzim selulase terdiri atas tiga tipe enzim utama yang berperan dalam penguraian selulosa yaitu endo- $\beta$ -D-1,4-glukanase (CMCase), ekso- $\beta$ -D-1,4-glukanase (selobiohidrolase) dan  $\beta$ -D-1,4-glukosidase (Purwadaria *et al.*, 2003).

Enzim yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik memiliki peran penting dalam berbagai aplikasi bioprocessing serat alami seperti hidrolisis selulosa untuk gula yang dapat difermentasi dalam produksi etanol, biopolishing kain katun untuk meningkatkan kelembutan dan penampilan (Esteghlalian *et al.*, 2002). Tingkat penggunaan enzim yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi selulosa dalam bidang industri terbilang tinggi. Hal ini dikarenakan bakteri pendegradasi selulosa memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan kelompok bakteri lain sehingga waktu yang diperlukan untuk memproduksi enzim selulase terbilang singkat (Yusnia *et al.* 2018).

Bakteri selulolitik dapat mendegradasi molekul kompleks, keadaan dimana substrat tidak larut dalam air dengan menggunakan berbagai enzim dalam memutus bagian yang berbeda di dalam substrat. Efisiensi degradasi kayu dengan menggunakan bakteri selulolitik, merupakan tipe yang mengsekresikan dan mengsinergikan aksi enzim selulase dimana bakteri menggunakan kompleks enzim (*cellulosome*) yang bekerja pada permukaan substrat. Kedua tipe enzim dapat melepaskan ikatan  $\beta$ -1,4-glukosida dengan menggunakan enzim endo atau eksoglukonase yang spesifik yang didasarkan atas topologi dari sisi aktif. Keberadaan nitrogen juga sangat mempengaruhi laju degradasi yang terjadi. Aktivitas bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa dilakukan secara ekstraseluler melalui sistem hidrolitik, dimana produksi enzim hidrolase yang merombak selulosa dan hemiselulosa. (Ambriyanto, 2010).

Selulosa terhidrolisis secara enzimatik dapat dideteksi dengan beberapa cara, salah satunya dengan melihat aktivitas CMCase. Carboxy Methyl Cellulose (CMC) adalah senyawa karbohidrat turunan selulosa, kopolimer dua unit  $\beta$ -D glukosa dan  $\beta$ -D-glukopiranosida 2-O-(karboksilmetil)-garam monosodium yang terikat melalui ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik. CMC memiliki kelarutan lebih tinggi daripada selulosa, sehingga mudah dihidrolisis (Ambriyanto, 2010).

Carboxy Methyl Cellulose (CMC) merupakan derivatif dari selulosa yang mengandung gugus carboxymetyl (-CH<sub>2</sub>COOH) yang dihasilkan dari reaksi selulosa dengan chloroacetate dalam alkali untuk memproduksi substitusi posisi C2, C3 atau C6 pada unit glukosa. Sehingga CMC larut dalam air dan dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas hidrolitik selulase. Media CMC termasuk ke dalam media selektif yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri yang dapat menghidrolisis selulosa (Wahyuningsih & Zulaika, 2018).

## II.4 Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi merupakan salah satu kegiatan dasar yang dilakukan untuk mengidentifikasi mikroba berupa bakteri maupun kapang. Kegiatan karakterisasi dapat dilakukan berdasarkan sifat morfologi dan sifat fisiologisnya. Pengujian sifat morfologi meliputi morfologi koloni dan morfologi sel (Candra, 2007).

Pengamatan morfologi bakteri dilakukan dengan beberapa bagian meliputi: bentuk koloni, bentuk tepian koloni, ukuran koloni, dan warna koloni untuk pengamatan morfologi koloni dan pengamatan gram positif dan negatif serta bentuk mikroskopis dari bakteri tersebut untuk pengamatan morfologi sel. Prinsip pewarnaan Gram adalah kemampuan dinding sel terhadap zat warna dasar (Kristal violet) setelah dilakukan pencucian alkohol. Bakteri gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat aseton alkohol. Hal ini terjadi karena kemampuan dinding selnya mengikat kristal violet lebih kuat sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan pemucat aseton alkohol sehingga mengambil warna merah safranin. Sel Gram negatif mengandung lebih banyak lipid sehingga pori-pori mudah membesar dan kristal violet mudah larut saat pencucian alkohol (Fitri & Yasmin, 2011).

Pengujian reaksi Gram bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri tergolong gram negatif atau positif (Darmansya & Yefriwati, 2018). Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lipid yang tinggi (Fitri & Yasmin, 2011).

Selain pengujian morfologi bakteri, Karakterisasi bakteri juga dapat diuji berdasarkan sifat fisiologisnya dengan melakukan pengujian biokimia. Uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. Proses biokimia erat kaitannya dengan metabolisme sel, yakni selama reaksi kimiawi yang dilakukan oleh sel yang menghasilkan energi maupun yang menggunakan energi untuk sintesis komponen-komponen sel dan untuk kegiatan seluler, seperti pergerakan (Rahayu & Gumilar, 2017). Pengujian biokimia dalam karakterisasi bakteri umumnya meliputi: uji indol, uji katalase, uji MR-VP, uji sitrat, uji fermentasi gula, dan uji motilitas (Triyanto *et al.*, 2008).

Uji indol bertujuan mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim tryptophanase. Produksi indol di dalam media dimungkinkan karena adanya tryptophan. Tryptophan adalah asam amino esensial, yang teroksidasi oleh beberapa bakteri yang mengakibatkan pembentukan indol, asam piruvat, dan amonia. Hasil positif ditandai dengan cincin merah pada bagian atas (Rahayu & Gumilar, 2017). Uji katalase dilakukan untuk mengetahui bakteri dapat menghasilkan enzim katalase yang mampu memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung oksigen (Winarni, 2013).

Pada uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat bahwa bakteri dapat memfermentasikan berbagai jenis gula laktosa, glukosa dan sukrosa serta menghasilkan gas. Hal itu ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning, serta adanya gelembung pada tabung durham (Rahayu & Gumilar, 2017).