

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Deskripsi Lokasi dan Objek Penelitian

Lokasi pengambilan akar tanaman kaktus yaitu di Jalan Gedong Karya, Kecamatan Kumpeh, Kabupaten Muaro Jambi. Kaktus yang digunakan dalam penelitian ini adalah kaktus apel peru (*Cereus repandus* Mill.) dimana lokasi pengambilan sampel ini memiliki kriteria yaitu berupa tanah yang kering dan memiliki batang yang tinggi, selain itu pada lokasi tersebut terdapat beberapa tanaman kaktus yang sama.

4.2 Deskripsi Temuan Penelitian

Hasil isolasi bakteri dari akar tanaman kaktus, didapatkan data yaitu jumlah koloni bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA), pengamatan morfologi koloni yaitu dengan mengamati bentuk koloni, warna koloni, tepi dan permukaan dari koloni, pewarnaan gram untuk mengetahui bakteri tersebut termasuk dalam bakteri gram positif atau negatif, dan uji biokimia yang meliputi uji hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, fermentasi karbohidrat, produksi indol, tes katalase, tes metil merah, tes *voges proskauer*, tes pemanfaatan sitrat dan tes hidrogen sulfida.





4.2.1 Pengamatan Jumlah Koloni Bakteri



Jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media NA dalam seri pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} didapatkan 6 isolat bakteri yang ditandai dengan kode isolat bakteri yaitu A1, A2, A3, A4, A5 dan A6.

4.2.2 Pengamatan Morfologi

Hasil penelitian berupa data pengamatan morfologi isolat bakteri ini dijadikan sebagai salah satu acuan dalam melakukan identifikasi bakteri. Adapun data dari pengamatan morfologi disajikan pada Tabel 4.1 sebagai berikut:

Tabel 4.1 Data pengamatan Morfologi Koloni

| no | Isolat bakteri | Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri | | | | |
|----|---|--|---------------|------------------|-------------|----------------|
| | | Warna Koloni | Bentuk koloni | Permukaan koloni | Tepi koloni | Struktur dalam |
| A1 |  | Putih | Irregular | Low convex | Undulate | Smooth |
| A2 |  | Putih | Circular | Low convex | Lacerate | Smooth |
| A3 |  | Putih | Circular | Low convex | Entire | Smooth |
| A4 |  | Putih | Irregular | Low convex | Undulate | Smooth |

| | | | | | | |
|----|---|------|-----------|------------|----------|--------|
| A5 |  | Krem | Circular | Low convex | Entire | smooth |
| A6 |  | Krem | Irregular | Effuse | Undulate | smooth |

Keterangan:

Circular : Bulat

Irregular : Tidak beraturan

Lacerate : Berfilamen

Smooth : Halus dan licin

Translucent : menembus sinar

Low convex : Cembung

Effuse : Tipis biasanya merata

Lobate : Seperti telinga

Granular : Bergranular

undulate : bergelombang

entire :tepi rata

Hasil pengamatan morfologi bakteri dapat ditentukan dengan melihat bentuk koloni yaitu bulat (*Circular*) dan tidak beraturan (*Irregular*). Permukaan koloni yaitu cembung (*Low convex*), Tipis biasanya merata (*Effuse*), Tebal/RWCBE (*Raised with concave belive edge*). Tepi koloni yaitu rata (*Entire*), berfilamen (*Lacerate*), seperti telinga (*Lobate*). Struktur dalam koloni yaitu halus dan licin (*Smooth*), bergranular (*Granular*), menembus sinar dan membentuk cekungan (*Translucent*).Warna koloni putih dan cream.

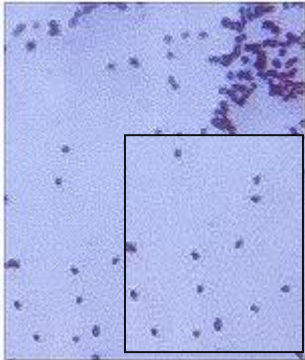
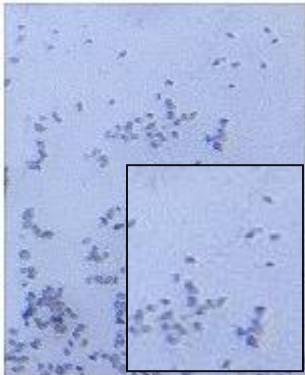
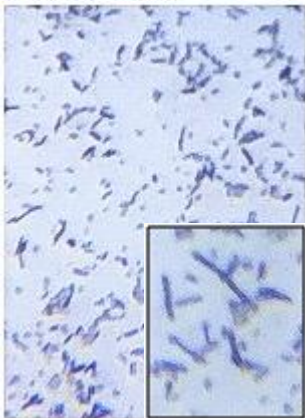
4.2.3 Pewarnaan Gram

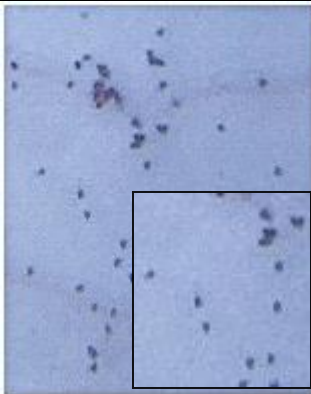
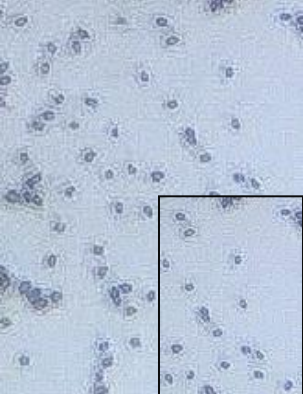
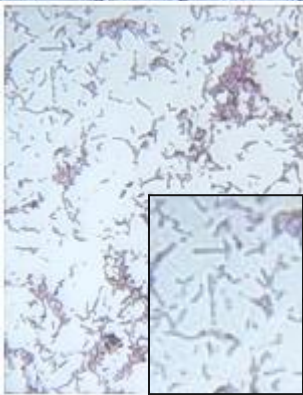
Hasil penelitian berupa data pengamatan pewarnaan gram dapat dijadikan sebagai acuan dalam identifikasi bakteri. Hasil meliputi bentuk sel seperti batang atau bulat, warna sel ungu merupakan gram positif dan merah muda

merupakan gram negatif. Pewarnaan bakteri ini diamatidengan perbesaran 100×100 .

Pada Tabel 4.2 disajikan pewarnaan gram.

Tabel 4.2 Data Pengamatan Pewarnaan Gram

| no | Nama Isolat | Pewarnaan Gram (perbesaran 100x100) | Keterangan |
|----|-------------|---|----------------------|
| 1 | A1 |  | Coccus, gram positif |
| 2 | A2 |  | Coccus, gram positif |
| 3 | A3 |  | Basil, Gram positif |

| | | | |
|---|----|---|----------------------|
| 4 | A4 |  | Coccus, gram positif |
| 5 | A5 |  | Coccus, gram positif |
| 6 | A6 |  | Basil, gram negatif |

Hasil pengamatan pewarnaan gram dari 6 isolat bakteri didapatkan gram positif yang ditandai dengan bakteri berwarna ungu atau kristal violet, berjumlah 4 isolat dan berbentuk coccus dan 1 isolat berbentuk basil. Sedangkan gram negatif yang ditandai dengan bakteri berwarna merah atau safranin, berjumlah 1 isolat dan berbentuk basil.

4.2.4 Uji Biokimia

Hasil penelitian berupa data uji biokimia yang akan dijadikan acuan dalam mengidentifikasi bakteri meliputi uji hidrolisis amilum, hidrolisis gelatin, fermentasi karbohidrat, tes indol, tes katalase, uji metil merah, uji *voges proskauer*, tes pemanfaatan sitrat, dan tes hidrogen sulfida. Data uji biokimia disajikan pada Tabel 4.3 dan disertakan foto reaksi biokimia.

Tabel 4.3. Data Uji Biokimia

| Isolat Bakteri | Hidrolisis amilum | Hidrolisis gelatin | fermentasi karbohidrat | Produksi indol | Tes katalase | Tes methyl red | Tes voges proskauer | Tes pemanfaatan sitrat | Tes hidrogen sulfida |
|----------------|-------------------|--------------------|------------------------|----------------|--------------|----------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| A1 | - | + | - | - | - | + | - | - | - |
| A2 | + | + | + | - | - | + | + | - | - |
| A3 | - | + | - | - | - | - | + | - | - |
| A4 | - | + | - | - | - | - | + | - | - |
| A5 | + | + | - | - | - | - | + | - | - |
| A6 | + | + | + | - | - | + | - | - | - |

Keterangan:(+) menandakan reaksi positif (mampu mengurai substrat)

(-) menandakan reaksi negatif (tidak mampu mengurai substrat)

1. Hidrolisis Amilum



Gambar 4.1 Hidrolisis Amilum

Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+) isolat A2, A5, A6.

Isolat bereaksi negatif (-) isolat A1, A3, A4.

Hasil pengamatan dari uji hidrolisis amilum dapat bereaksi menjadi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif ditandai dengan terbentuknya zona bening yang mengelilingi bakteri setelah ditambahkan iodine pati, sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif tidak terbentuk zona bening yang mengelilingi bakteri dan akan memberikan warna hitam pada media, hal inilah yang mengindikasikan ketidakberadaan enzim pemecah pati dan menunjukkan hasil negatif.

2. Hidrolisis Gelatin





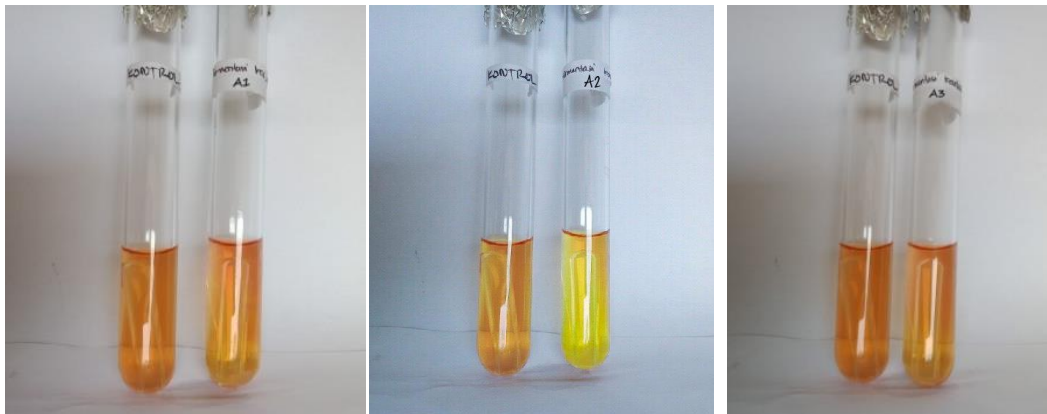
Gambar 4.2 Hidrolisis Gelatin

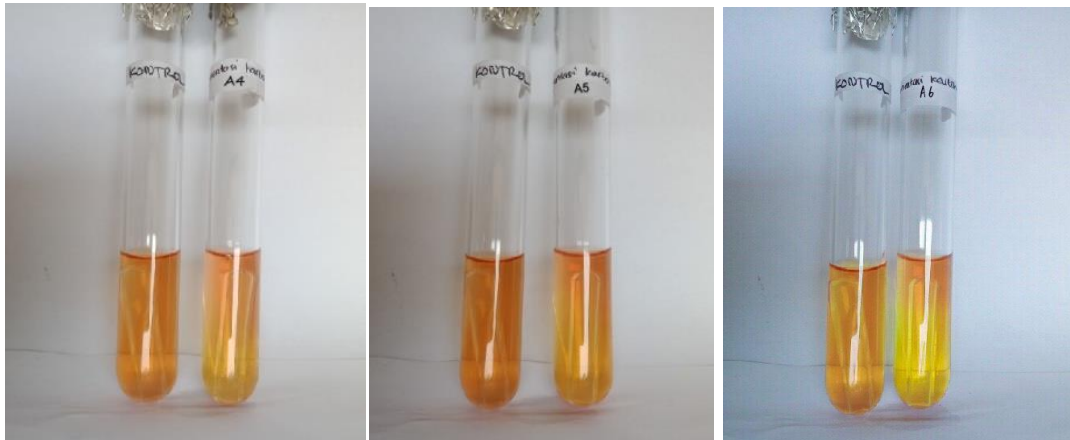
Keterangan:

Isolat A1,A2, A3, A4, A5, A6 bereaksi positif (+)

Hasil pengamatan dari uji hidrolisis gelatin dapat bereaksi menjadi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif ditandai dengan mencairnya media pada tabung reaksi, sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif, media akan membeku pada tabung reaksi.

3. Fermentasi Karbohidrat





Gambar 4.3 Fermentasi karbohidrat

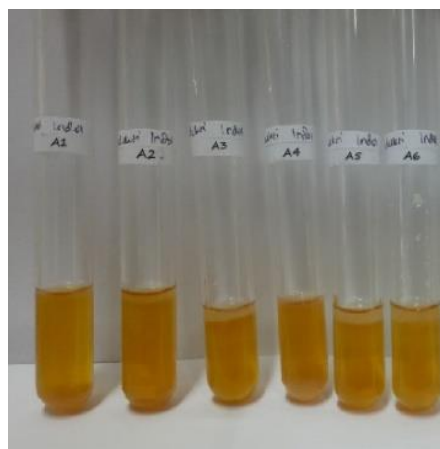
Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+) isolat A2,A6.

Isolat bereaksi negatif (-) isolat A1, A3, A4, A5.

Hasil pengamatan dari fermentasi karbohidrat dapat bereaksi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif dapat dilihat dengan adanya gelembung gas pada tabung durham dan menunjukkan positif asam jika berubah warna. Sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif dapat dilihat dengan tidak terdapatnya gelembung gas pada tabung durham serta tidak adanya perubahan warna.

4. produksi indol



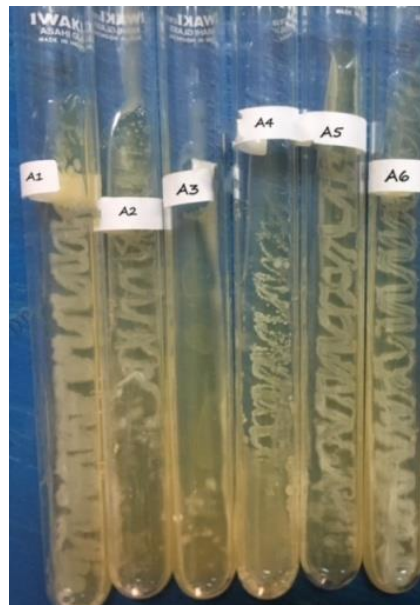
Gambar 4.4 Produksi Indol

Keterangan:

Isolat A1, A2, A3, A4, A5, A6 bereaksi Negatif (-)

Hasil pengamatan dari uji produksi indol dapat bereaksi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif dapat dilihat dengan terbentuknya lapisan merah pada permukaan media. Sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya lapisan merah pada permukaan media.

5. Tes Katalase



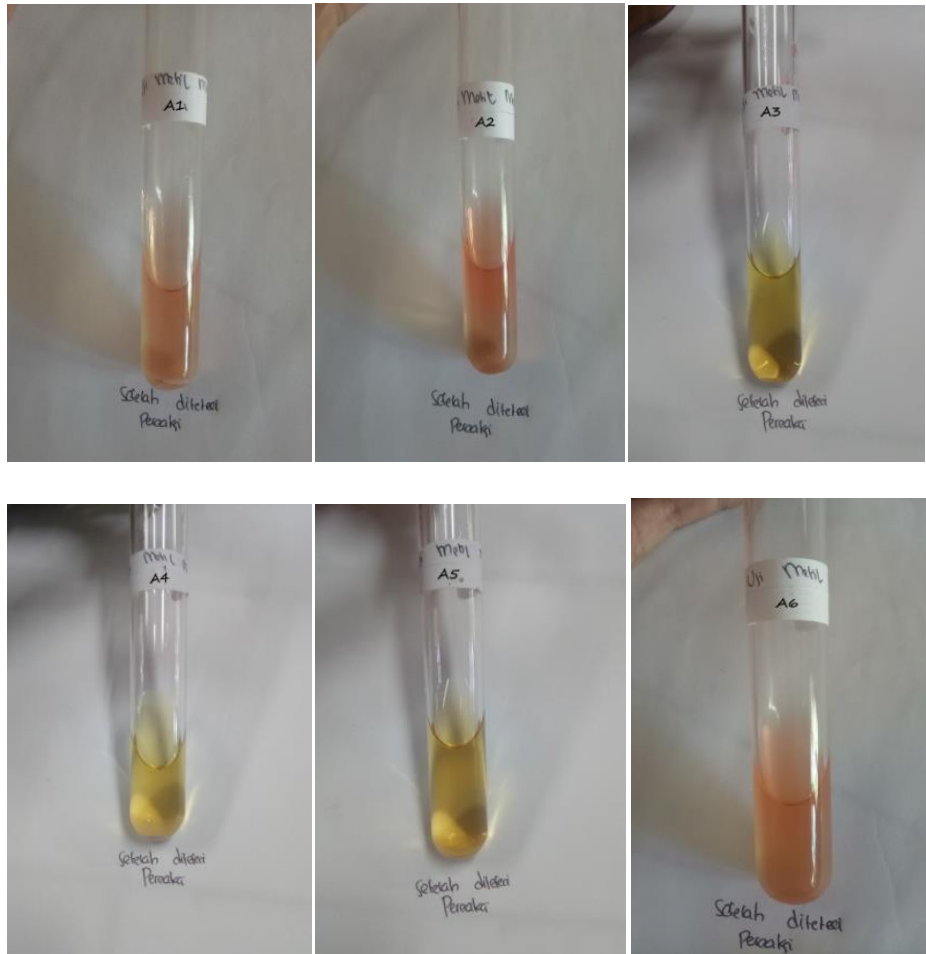
Gambar 4.5 Uji Katalase

Keterangan:

Isolat A1, A2, A3, A4, A5, A6 bereaksi Negatif (-)

Hasil pengamatan dari tes katalase dapat bereaksi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif dapat dilihat dengan terbentuknya buih atau gelembung pada media. Sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya buih atau gelembung pada media.

6. Tes Metil Merah



Gambar 4.6 Uji Metil Merah

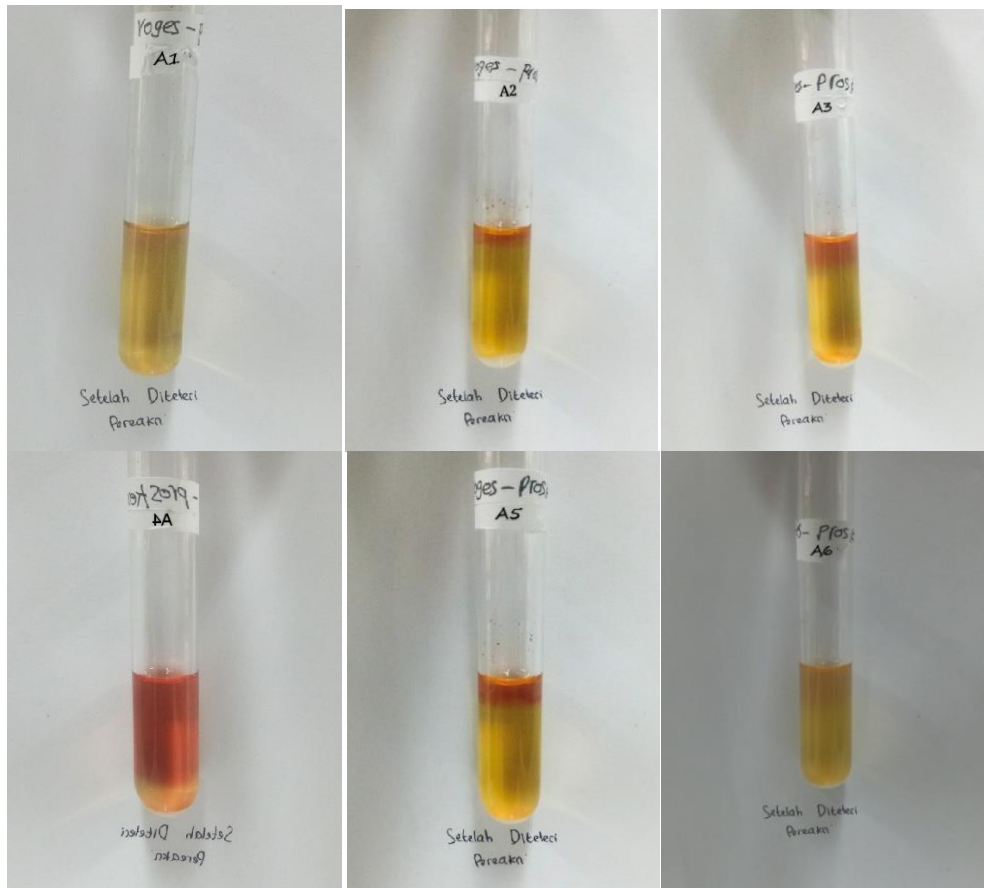
Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+) isolat A1, A2, A6.

Isolat bereaksi negatif (-) isolat A3, A4, A5.

Hasil pengamatan dari uji metil merah menunjukkan hasil reaksi positif yang ditandai dengan terbentuknya warna merah pada isolat bakteri dan hasil reaksi negatif yang ditandai dengan tidak terbentuk warna merah atau menunjukkan warna kuning pada isolat bakteri.

7. Voges Proskauer



Gambar 4.7 Uji Voges Proskauer

Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+) isolat A2, A3, A4, A5

Isolat bereaksi negatif (-) isolat A1 dan A6

Hasil pengamatan dari uji *voges proskauer* dapat bereaksi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif ditandai dengan terbentuk lapisan merah pada media. Sedangkan isolat yang bereaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuk lapisan merah pada media. Pereaksi yang digunakan dalam uji ini, yaitu pereaksi Barrit, yang terdiri atas campuran senyawa alkohol α -naftol dan larutan kalium hidroksida 40%. Pereaksi Barrit ini diteteskan kedalam media secara perlahan, hasilnya akan terbentuk warna merah pada biakan 15 menit setelah penambahan

pereaksi Barrit mengindikasikan adanya asetil metil karbinol dan menyatakan hasil reaksi positif, tidak terbentuknya warna merah akan menunjukkan hasil reaksi negatif.

8. Pemanfaatan sitrat



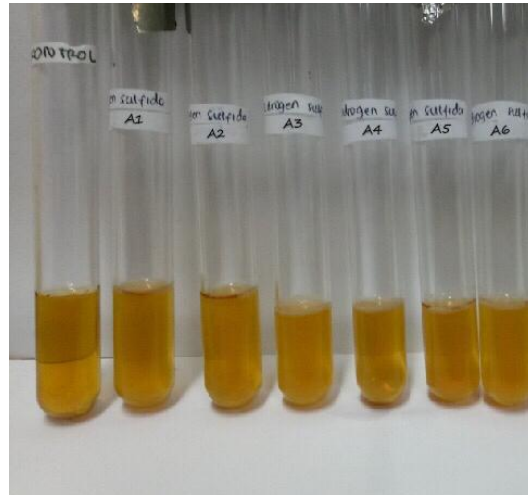
Gambar 4.8 Uji Pemanfaatan Sitrat

Keterangan:

Isolat A1, A2, A3, A4, A5, A6 bereaksi Negatif (-)

Hasil dari uji pemanfaatan sitrat dapat bereaksi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi biru pada media. Sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif ditandai dengan warna media tetap hijau.

9. Hidrogen Sulfida



Gambar 4.9 Uji Hidrogen Sulfida

Keterangan:

Isolat A1, A2, A3, A4, A5, A6 bereaksi Negatif (-)

Hasil pengamatan dari uji hidrogen sulfida dapat bereaksi positif dan negatif. Isolat bakteri yang bereaksi positif ditandai dengan terbentuk warna hitam pada tusukan dimedia. Sedangkan isolat bakteri yang bereaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuk warna hitam pada tusukan dimedia.

Data dari ketiga bakteri yang terdapat pada Tabel 4.1, Tabel 4.2, dan Tabel 4.3 dicocokkan buku Buchanan dan Gibbons.

Didapatkan hasil yang disajikan pada Tabel 4.4 sebagai berikut.

Tabel 4.4 Data Genus Bakteri Berdasarkan Kecocokan pada Hasil Pengamatan Morfologi, Pewarnaan Gram dan Uji Biokimia Bakteri pada akar kaktus

| Kode koloni | Morfologi Koloni Bakteri | | | | | Bentuk | Warna Gram (+/-) |
|-------------|--------------------------|------------|-------|----------|----------------|--------|------------------|
| | Bentuk | Permukaan | Warna | Tepi | Struktur dalam | | |
| A1 | Irregular | Low Convex | Putih | Undulate | Smooth | Coccus | Ungu (+) |
| A2 | Circular | Low Convex | Putih | Lacerate | Smooth | Coccus | Ungu (+) |
| A3 | Circular | Low Convex | Putih | Entire | Smooth | Basil | Ungu (+) |
| A4 | Irregular | Low Convex | Putih | Undulate | Smooth | Coccus | Ungu (+) |
| A5 | Circular | Low Convex | Krem | Entire | Smooth | Coccus | Ungu (+) |
| A6 | Irregular | Low Convex | Krem | Lobate | Granular | Basil | Merah muda (-) |

| Kode koloni | Uji Biokimia | | | | | | | | | Genus |
|-------------|--------------|---------|------------------------|-------|----------|-------------|-----------------|--------|------------------|-----------------------|
| | Amilum | Gelatin | Fermentasi karbohidrat | Indol | Katalase | Metil merah | Voges proskauer | Sitrat | H ₂ S | |
| A1 | - | + | - | - | - | + | - | - | - | <i>Listeria</i> |
| A2 | + | + | + | - | - | + | + | - | - | <i>Staphylococcus</i> |
| A3 | - | + | - | - | - | - | + | - | - | <i>Bacillus</i> |
| A4 | - | + | - | - | - | - | + | - | - | <i>Listeria</i> |
| A5 | + | + | - | - | - | - | + | - | - | <i>Planococcus</i> |
| A6 | + | + | + | - | - | + | - | - | - | <i>Cytophaga</i> |

4.3 Pembahasan

4.3.1 Morfologi Bakteri Hasil Identifikasi

Bakteri hasil isolasi perlu dilakukan identifikasi untuk mengetahui karakteristik masing-masing koloni. Salah satu cara yang digunakan yaitu dengan melakukan pengamatan pada morfologi koloni mikroba hasil isolasi. Sifat-sifat koloni bakteri yang tumbuh di permukaan medium ialah seperti besar kecilnya koloni, bentuk koloni, kenaikan permukaan, dan halus kasarnya permukaan koloni tersebut (Lestari dan Hartati, 2017:34)

Berdasarkan hasil data identifikasi terhadap 6 isolat bakteri yang terdapat pada akar tanaman kaktus memiliki bakteri yang berwarna koloni putih dan krem. Berbentuk bulat (*circular*) dan berbentuk tak beraturan (*irregular*). Permukaan koloni yaitu cembung (*low convex*), dan tipis biasanya merata (*effuse*). Tepi koloni yaitu rata (*Entire*), bergelombang (*undulate*), berfilamen (*Lacerate*), dan seperti telinga (*Lobate*). Struktur dalam koloni yaitu halus dan licin (*Smooth*), bergranular (*Granular*), serta menembus sinar dan membentuk cekungan (*Translucent*).

4.3.2 Pewarnaan Gram Bakteri Hasil Identifikasi

Pengamatan pewarnaan gram berdasarkan hasil data identifikasi terhadap 6 isolat bakteri yang diberi kode A1, A2, A3, A4, A5, A6 menunjukkan 5 isolat bersifat gram positif yang menghasilkan warna ungu dan 1 isolat bersifat gram negatif yang menghasilkan warna merah muda dengan bentuk sel basil dan kokus. Hal ini sesuai dengan Fitri dan Yasmin (2011:20-25) bahwa pewarnaan gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri gram positif dan negatif.

Bakteri gram positif pada pewarnaan gram disebabkan kompleks zat warna kristal violet tetap dipertahankan meskipun diberi larutan alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol sehingga mengambil warna merah safranin. Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan negatif menunjukkan adanya perbedaan struktur dinding sel 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 (Cappuccino dan Sherman, 2013:73-74).

4.3.3 Uji Biokimia Bakteri

1. Hidrolisis Amilum

Hidrolisis amilum adalah salah satu uji biokimia yang memproduksi enzim amilase, dari penelitian yang telah dilakukan terdapat 3 isolat yang bereaksi positif pada uji hidrolisis amilum yaitu isolat A2, A5, dan A6, yang ditandai dengan terbentuk zona bening mengelilingi bakteri, sedangkan yang bereaksi negatif terdapat 3 isolat bakteri yaitu A1, A3, dan A4, yang ditandai dengan tidak terbentuk zona bening yang mengelilingi bakteri.

Menurut Cappuccino dan Sherman (2013:151) menjelaskan bahwa hidrolisis amilum digunakan untuk menunjukkan aktivitas hidrolisis yang terjadi oleh ekoenzim. Media yang digunakan adalah nutrient agar yang ditambah dengan pati, yang berperan sebagai substrat polisakarida. Aktivitas hidrolisis setelah periode pertumbuhan dilakukan dengan uji pati untuk mengetahui ada atau tidaknya pati di dalam media. Aktivitas enzim amilase dapat diuji dengan menggunakan iodine yang diteteskan ke permukaan media yang telah ditumbuhi

bakteri. Larutan iodine digunakan sebagai indikator pati. Jika ditambahkan iodine akan memberikan warna biru hitam pada media, yang mengindikasikan ketidakberadaan enzim pemecah pati dan menunjukkan hasil negatif. Jika pati terhidrolisis, suatu zona hidrolisis yang bening akan terlihat di sekeliling pertumbuhan organisme, ini menandakan hasil positif.

2. Hidrolisis Gelatin

Hidrolisis gelatin adalah protein yang dihasilkan oleh hidrolisis kolagen, komponen utama jaringan ikat pada manusia dan hewan. Di bawah temperatur 25°C gelatin akan mempertahankan sifat gelnya yang merupakan suatu padatan, pada temperatur di atas 25°C gelatin berbentuk cair. Pencairan tersebut disebabkan oleh beberapa mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim ekstraseluler proteolitik, yang disebut gelatinase, yang bekerja menghidrolisis protein menjadi asam-asam amino (Cappuccino dan Sherman, 2013:153).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan hasil reaksi positif pada semua isolat bakteri yang diberi kode A1, A2, A3, A4, A5, A6 yang ditandai dengan medium tetap berada dalam keadaan cair karena biakan menghasilkan gelatinase dan menunjukkan hidrolisis gelatin yang cepat, sedangkan jika medium dalam keadaan membeku maka reaksi dinyatakan negatif.

3. Fermentasi Karbohidrat

Fermentasi karbohidrat adalah salah satu uji biokimia yang sebagian besar mikroorganisme mendapatkan energi melalui serangkaian reaksi enzimatik. Pada uji fermentasi karbohidrat bakteri yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas pada tabung durham dan bewarna keruh, sedangkan yang menunjukkan reaksi negatif ditandai dengan tidak adanya gelembung gas pada

tabung durham. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, isolat bakteri menunjukkan hasil yang negatif yaitu isolat A1, A3, A4, dan A5 karena tidak adanya gelembung gas pada tabung durham tersebut, sedangkan isolat bakteri yang menghasilkan reaksi positif yaitu isolat A2, dan A6. Hal ini sesuai dengan pendapat Hal ini sesuai dengan Murwani (2015:133) Medium pada tes fermentasi karbohidrat mengandung, protein, karbohidrat, indikator pH dan tabung durham. Tabung durham diletakkan secara terbalik di dalam medium, berfungsi untuk menangkap gas hasil fermentasi karbohidrat. Bakteri di inokulasikan kedalam medium, dan dapat mempergunakan protein dan karbohidrat sebagai sumber karbon dan energi. Katabolisme karbohidrat oleh bakteri akan menghasilkan asam, dan terjadi perubahan pH (perubahan warna medium). Jika bereaksi positif, maka akan menghasilkan gas saat katabolisme karbohidrat. Adanya gelembung udara akan tertangkap oleh tabung durham.

4. Produksi Indol

Uji produksi indol ditujukan untuk mengetahui kemampuan mikroba mendegradasi asam amino triptofan. Hasil penelitian uji produksi indol pada semua isolat bakteri menunjukkan hasil negatif yang artinya isolat yang diperoleh tidak memiliki kemampuan menghidrolisis triptofan. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan media, sedangkan reaksi negatif ditandai dengan terbentuknya cincin kuning dipermukaan media.

Produksi indol digunakan untuk mengetahui adanya enzim triptofanase pada bakteri yang dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat. Asam amino triptofan adalah asam amino yang lazim terdapat pada protein dan asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme

sebagai sumber energi. Adanya indol dapat dideteksi dengan menggunakan reagen Kovac's yang akan membentuk lapisan atau cincin merah pada permukaan medium (Cappuccino dan Sherman, 2013:167).

5. Uji Katalase

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, 6 isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif pada uji katalase setelah ditetesi hidrogen peroksida dengan konsentrasi 3%, karena tidak adanya terbentuk buih atau gelembung pada media. Sedangkan jika isolat bakteri bereaksi positif pada uji katalase, maka ditandai dengan terbentuknya buih atau gelembung pada media.

Menurut Menurut Syauqi (2017:133) uji dimaksudkan untuk bakteri yang menghasilkan enzim katalase yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Enzim akan dapat memecah senyawa hidrogen peroksida dan akan membebaskan molekul oksigen. Oleh karena itu, bila medium miring yang berisi bakteri ditambahkan hidrogen peroksida, jika bereaksi positif akan menunjukkan busa (gelembung).

6. Uji Metil Merah

Ujimethyl red digunakan untuk menentukan kemampuan mikroorganisme menfermentasi glukosa dengan disertai pembentukan dan stabilitasi produk akhir asam berkonsentrasi tinggi dan bertujuan untuk mengetahui terbentuknya asam hasil fermentasi karbohidrat. Pada uji ini, indikator pH metal merah mendeteksi terbentuknya produk akhir asam berkonsentrasi tinggi. Indikator metal merah pada kisaran pH 4 akan berwarna merah, yang menandakan hasil uji positif. Pada pH 6 masih menyatakan adanya asam, tetapi dengan konsentrasi ion hidrogen yang rendah, indikator berubah menjadi kuning dan menandakan hasil uji negatif (Harti, 2015:185).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, isolat yang menunjukkan reaksi positif yaitu isolat A1, A2, dan A6 karena terbentuk warna merah pada media, sedangkan isolat A3, A4, dan A5 menunjukkan reaksi yang negatif karena tidak terbentuknya warna merah pada media.

7. Uji Voges Proskauer

Uji *voges proskauer* adalah uji biokimia yang menentukan kemampuan bakteri untuk menghasilkan produk akhir yang non-asam atau netral, seperti asetilmetilkarbinol yang dihasilkan dari metabolisme glukosa. Berdasarkan hasil penelitian, isolat A2, A3, A4, dan A5 menunjukkan hasil yang positif dengan ditandai adanya lapisan merah sedangkan isolat A1 dan A6 menunjukkan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya lapisan merah pada media. Hal ini sesuai dengan Cappuccino dan Sherman (2013:169) jika terbentuk lapisan warna merah pada medium maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuk lapisan warna merah pada medium maka reaksi negatif.

Menurut Harti (2015:186) menyatakan bahwa uji ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya *acetion*. Bakteri tertentu dapat memfermentasi glukosa menjadi *acetion* melalui jalur fermentasi Butanadiol. Dalam suasana basa serta penggojogan yang kuat maka *acetio* dan butanadiol akan dioksidasi menjadi diasetil. Diasetil akan bereaksi dengan alfa naftol (dalam reagen barrit) yang memberi warna merah.

8. Pemanfaatan Sitrat

Uji pemanfaatan sitrat adalah salah satu uji biokimia yang menentukan bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon untuk mendapatkan energi. Berdasarkan hasil penelitian, semua isolat bakteri menunjukkan hasil yang

negatif dikarenakan media tetap berwarna hijau atau tidak adanya perubahan warna pada media. Jika isolat menunjukkan reaksi positif, maka media yang semula berwarna hijau akan berubah menjadi warna biru. Hal ini sesuai dengan pendapat Cappuccino dan Sherman (2013:171) jika terjadi perubahan pada warna medium menjadi warna biru maka menunjukkan reaksi positif, sedangkan jika medium tetap berwarna hijau maka isolat tersebut menunjukkan reaksi negatif.

9. Hidrogen Sulfida

Menurut Cappuccino dan Sherman (2013:177) uji hidrogen sulfida digunakan untuk menentukan kemampuan mikroorganisme membentuk hidrogen sulfida dari senyawa-senyawa seperti asam amino, serta menentukan monilitas mikroorganisme dalam agar SIM. Dalam percobaan ini, media SIM agar berperan sebagai indikator H₂S. SIM mengandung pepton dan fero sulfat (FeSO₄). Dimana fero ammonium sulfat ini berperan sebagai indikator yaitu bereaksi dengan gas hidrogen sulfida membentuk endapan fero sulfida yang berwarna hitam dan tidak larut. endapan ini akan tampak di sepanjang garis inokulasi tusuk dan menyatakan terbentuknya gas H₂S, sedangkan tidak terbentuknya endapan hitam menyatakan hasil reaksi negatif.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, semua isolat yang didapatkan menunjukkan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya warna hitam disepanjang tusukan pada media. Sedangkan jika bereaksi positif maka terbentuk warna hitam disepanjang tusukan pada media tersebut.

4.3.4 Genus Bakteri Hasil Identifikasi

Berdasarkan hasil data identifikasi terhadap 6 isolat bakteri yang terdapat pada akar tanaman kaktus diperoleh 5 genus bakteri, yaitu genus *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Planococcus*, *Cytophaga* dan *Listeria*.

1. Genus *Staphylococcus*

Staphylococcus merupakan bakteri gram positif yang menyerap warna kristal violet dan selnya berbentuk coccus. Hasil pengamatan morfologi dari genus ini yaitu memiliki koloni berwarna putih, bentuk koloni bulat (*circular*), permukaan koloni cembung (*low convex*), struktur dalam halus (*smooth*) dan memiliki tepi koloni berfilamen (*lacerate*).

Uji biokimia pada bakteri genus *Staphylococcus* menunjukkan hasil positif pada hidrolisis amilum dengan terbentuknya zona bening dipertumbuhan bakteri setelah ditambahkan iodine, hidrolisis gelatin yang ditandai pada media yang tetap cair pada tabung reaksi, fermentasi karbohidrat yang ditandai adanya perubahan warna pada media, uji metil merah yang ditandai terbentuknya lapisan merah pada media, dan uji *voges proskauer* yang ditandai terbentuk lapisan merah pada media tersebut.

Uji biokimia pada bakteri genus *Staphylococcus* menunjukkan hasil negatif yaitu pada produksi indol yang ditandai tidak terdapat lapisan merah pada permukaan media, tes katalase karena tidak terdapat buih atau gelembung pada media, pemanfaatan sitrat yang ditandai warna media tetap hijau, dan hidrogen sulfida yang ditandai tidak terbentuk warna hitam pada tusukan media.

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974:479) koloni bakteri genus *Staphylococcus* berwarna putih, kuning, berbentuk bulat, permukaan koloni

cembung, struktur dalam halus. Uji biokimia pada fermentasi karbohidrat positif, hidrolisis gelatin positif, katalase negatif. Diameter koloni 0,5-1,5 μ m, kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob dan termasuk bakteri yang tidak mampu bergerak. Menurut ITIS (2012) taksonomi bakteri dari genus *Staphylococcus* sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*

2. Genus *Bacillus*

Bacillus merupakan bakteri gram positif yang menyerap warna kristal violet dan selnya berbentuk batang. Hasil pengamatan morfologi dari genus ini yaitu memiliki koloni berwarnaputih, bentuk koloni bulat (*circular*), permukaan koloni cembung (*low convex*), struktur dalam halus (*smooth*) dan tepian rata (*entire*).

Uji biokimia pada bakteri genus *Bacillus* menunjukkan hasil positif pada, hidrolisis gelatin yang ditandai pada media yang tetap cair pada tabung reaksi, dan uji *voges proskauer* yang ditandai terbentuk lapisan merah pada media tersebut.

Uji biokimia pada bakteri genus *Bacillus* menunjukkan hasil negatif yaitu pada hidrolisis amilum ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening dipertumbuhan bakteri setelah ditambahkan iodine produksi indol yang ditandai tidak terdapat lapisan merah pada permukaan media, tes katalase karena tidak terdapat buih atau gelembung pada media, pemanfaatan sitrat yang ditandai warna media tetap hijau, fermentasi karbohidrat yang ditandai tidak adanya gelembung

gas pada tabung durham, uji metil merah yang ditandai dengan tidak terbentuknya lapisan merah pada media, dan hidrogen sulfida yang ditandai tidak terbentuk warna hitam pada tusukan media.

Menurut Buchanan and Gibbons (1974:529) bakteri dari genus ini merupakan bakteri gram positif, dapat membentuk endospora, uji katelase bisa positif tergantung dari spesies. Diameter koloni berkisar 0,5-2 μ m, suhu optimum untuk pertumbuhannya 26-28°C dan dapat tumbuh pada kondisi aerobik maupun anaerobik. *Bacillus* terdapat secara luas di lingkungan, ditemukan di tanah, air, udara dan debu.

Menurut Oktrisna, *dkk.* (2017:5) koloni bakteri *Bacillus* mempunyai peranan dalam mengkolonisasi perakaran tanaman. Bakteri tersebut menghasilkan hormon pemacu pertumbuhan tanaman yang dapat merangsang pertumbuhan akar lateral, sehingga penyerapan unsur hara lebih optimal. *Bacillus* bersifat aerobik atau anaerobik fakultatif, gram positif dan menghasilkan beberapa toksin, termasuk enterotoksin, toksin emetik, fosfolipase, protease dan hemolisin (Garna, 2012:619). Menurut ITIS (2012) taksonomi bakteri dari genus *Bacillus* sebagai berikut:

| | |
|---------|-------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Filum | : Firmicutes |
| Kelas | : Bacilli |
| Ordo | : Bacilliales |
| Family | : Bacillaceae |
| Genus | : <i>Bacillus</i> |

3. Genus *Planococcus*

Planococcus merupakan bakteri gram positif yang menyerap warna kristal violet dan selnya berbentuk coccus. Hasil pengamatan morfologi dari genus ini yaitu memiliki koloni berwarna krem, bentuk koloni bulat (*circular*), permukaan

koloni cembung (*low convex*), tepi koloni rata (*entire*), dan struktur dalam halus (*smooth*).

Uji biokimia pada bakteri genus *Planococcus* menunjukkan hasil positif pada, hidrolisis amilum dengan terbentuknya zona bening dipertumbuhan bakteri setelah ditambahkan iodine, hidrolisis gelatin yang ditandai pada media yang tetap cair pada tabung reaksi, dan uji *voges proskauer* yang ditandai terbentuk lapisan merah pada media tersebut.

Uji biokimia pada bakteri genus *Planococcus* menunjukkan hasil negatif yaitu pada produksi indol yang ditandai tidak terdapat lapisan merah pada permukaan media, tes katalase karena tidak terdapat buih atau gelembung pada media, pemanfaatan sitrat yang ditandai warna media tetap hijau, fermentasi karbohidrat yang ditandai tidak adanya gelembung gas pada tabung durham, uji metil merah yang ditandai dengan tidak terbentuknya lapisan merah pada media, dan hidrogen sulfida yang ditandai tidak terbentuk warna hitam pada tusukan media.

Menurut Buchanan and Gibbons (1974:480) bentuk sel *Planococcus* bulat, diameter koloninya 1,0-1,2 μ m. Koloni muncul diatas permukaan media, warna koloni putih keruh, termasuk bakteri gram positif. Kebutuhan terhadap oksigen termasuk aerob, gelatin positif dan temperatur optimumnya adalah 27-37°C.

Menurut ITIS (2012) taksonomi bakteri dari genus *Planococcus* sebagai berikut:

| | |
|---------|----------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Filum | : Firmicutes |
| Kelas | : Bacilli |
| Ordo | : Bacilliales |
| Family | : Planococcaceae |
| Genus | : <i>Planococcus</i> |

4. Genus *Cytophaga*

merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dan memiliki spora. pengamatan morfologi dari genus ini yaitu memiliki koloni berwarna krem, bentuk koloni *tidak beraturan (irregular)*, permukaan koloni cembung (*low convex*), tepi koloni bergelombang (*undulate*), dan struktur dalam *smooth*.

Uji biokimia pada bakteri genus *Cytophaga* menunjukkan hasil positif pada, hidrolisis amilum dengan terbentuknya zona bening dipertumbuhan bakteri setelah ditambahkan iodine, hidrolisis gelatin yang ditandai pada media yang tetap cair pada tabung reaksi, fermentasi karbohidrat yang ditandai adanya perubahan warna pada media dan uji metil merah yang ditandai dengan terbentuknya lapisan merah pada media.

Uji biokimia pada bakteri genus *Cytophaga* menunjukkan hasil negatif yaitu pada produksi indol yang ditandai tidak terdapat lapisan merah pada permukaan media, tes katalase karena tidak terdapat buih atau gelembung pada media, pemanfaatan sitrat yang ditandai warna media tetap hijau, uji *voges proskauer* yang ditandai tidak adanya lapisan merah pada media tersebut dan hidrogen sulfida yang ditandai tidak terbentuk warna hitam pada tusukan media. Hal ini sesuai dengan penelitian Ekawati, *dkk.* (2012:33) hasil uji biokimia dari genus ini yaitu hidrogen sulfida negatif, indol negatif, *voges proskauer* negatif, dan pemanfaatan sitrat negatif

Menurut Habib, *dkk.* (2017:28) *Cytophaga* merupakan bakteri yang mampu mendegradasi bahan organik dan dapat digunakan sebagai pupuk hayati. Pupuk hayati yang berbahan aktif organisme hidup dapat berfungsi sebagai penambat hara dan memfasilitasi tersedianya hara bagi tanaman, bakteri ini

memberikan efek positif terhadap tanaman dan lingkungannya serta mampu memberi nutrisi yang cukup untuk pembuahan pada tanaman.

Menurut ITIS (2012) taksonomi bakteri dari genus *Cytophaga* sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Bacteroidetes
Kelas : Cytophagia
Ordo : Cytophagales
Family : Cytophagaceae
Genus : *Cytophaga*

5. Genus *Listeria*

Listeria merupakan bakteri gram positif yang menyerap warna kristal violet dan selnya berbentuk coccus. Hasil pengamatan morfologi dari genus ini yaitu memiliki koloni berwarna putih, bentuk koloni tak beraturan (*irregular*), permukaan koloni cembung (*low convex*), struktur dalam halus (*smooth*). Hal ini sesuai dengan pendapat Rahma (2016:71) bakteri *Listeria* memiliki bentuk *irregular*, elevasi *convex* dan tepi *undulate*.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat dua isolat yang mengindikasikan bahwa dua isolat tersebut merupakan genus *Listeria* yang berbeda jenis yaitu isolat A1 dan A4. Pada morfologi koloni memiliki kesamaan tetapi terdapat perbedaan pada uji biokimia yaitu uji metil merah dan uji *voges proskauer*, dimana pada isolat A1 uji metil merah bereaksi positif yang ditandai dengan terbentuknya lapisan merah pada media sedangkan pada isolat A4 uji metil merah bereaksi negatif. Pada uji *voges proskauer*, isolat A1 bereaksi negatif sedangkan pada isolat A4 bereaksi positif ditandai dengan adanya lapisan merah pada media tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian Malaka, *dkk.* (2014:63) hasil uji

biokimia pada genus *Listeria* yaitu tidak memproduksi gas, metil merah positif, *voges proskauer* positif, tidak menggunakan sitrat (sitrat negatif), dan tidak memproduksi indol.

Uji biokimia pada bakteri genus *Listeria* menunjukkan hasil positif pada isolat A1 dan A4 yaitu pada uji hidrolisis gelatin yang ditandai pada media yang tetap cair pada tabung reaksi sedangkan yang menunjukkan hasil negatif yaitu pada hidrolisis amilum karena tidak terbentuknya zona bening dipertumbuhan bakteri setelah ditambahkan iodine, fermentasi karbohidrat yang ditandai tidak terbentuk gelembung gas pada tabung Durham, produksi indol yang ditandai tidak terdapat lapisan merah pada permukaan media, tes katalase karena tidak terdapat buih atau gelembung pada media, dan pemanfaatan sitrat yang ditandai warna media tetap hijau. Hal ini sesuai dengan Buchanan and Gibbons (1974:586) bahwa *Listeria* tidak ada spora dan kapsul, berbentuk bulat, licin, transparan, tepian datar, berwarna kuning, merah, putih dan tidak berpigmen. Uji biokimia yaitu hidrolisis amilum negatif, fermentasi karbohidrat negatif, metil merah positif.

Listeria merupakan bakteri gram positif anaerob fakultatif, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh pada suhu (4-10°C), dapat ditemukan di tanah (Bamford dan Gillespie, 2009:39), sedangkan menurut Ariyanti (2010:95) genus *Listeria* umumnya hidup di tanah sebagai saprofit tetapi apabila mengkontaminasi makanan atau minuman yang dikonsumsi oleh hewan atau manusia dapat berubah menjadi patogen. Bakteri ini umumnya tidak termasuk dalam indeks inang yang menyerang tanaman ataupun buah pada tanaman, apabila bakteri ini ditemukan pada buah, maka buah tersebut hanya digunakan sebagai

pembawa (*carrier*) bagi bakteri tersebut tanpa bisa menyerang buah atau tanaman tersebut. Menurut ITIS (2012) taksonomi bakteri dari genus *Listeria* sebagai berikut:

| | |
|---------|-------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Filum | : Firmicutes |
| Kelas | : Bacilli |
| Ordo | : Bacillales |
| Family | : Listeriaceae |
| Genus | : <i>Listeria</i> |