



ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS SELULASE DAN AMILASE PADA BAKTERI YANG BERASAL DARI PERAIRAN HULU SUNGAI LOGAWA, KEDUNGBANTENG

Nabila Eka Febrianti, Farah Ispramudita Septiyanti, Oviliana Laurentia Saputri, Yuriza
Eshananda*

Program Studi Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah Indonesia

*E-mail: yuriza.eshananda@unsoed.ac.id

ABSTRAK

Pemanfaatan enzim selulase dan amilase dalam bidang industri telah mengalami peningkatan yang signifikan dalam beberapa tahun terakhir. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas selulase dan amilase bakteri yang berasal dari air hulu Sungai Logawa, Kedungbanteng, Banyumas. Metode yang dilakukan meliputi isolasi bakteri menggunakan medium Nutrien Agar (NA), pemurnian bakteri, skrining aktivitas enzimatis menggunakan medium *Carboxymethyl Cellulose-Nutrient Agar* (CMC-NA) (untuk selulase) dan *Starch Agar* (SA) (untuk amilase) dengan konsentrasi 0,1%, karakterisasi makromorfologi dan mikromorfologi, dan uji katalase. Hasil penelitian diperoleh empat isolat koloni tunggal yang berbeda yaitu HL2-1, HL2-2, HL2-3, dan HL2-4, yang terseleksi berdasarkan karakter makromorfologi untuk dilakukan skrining aktivitas enzimatis. Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak ada zona bening yang terbentuk, sehingga isolat tidak menunjukkan aktivitas selulase maupun amilase. Meski demikian, seluruh isolat menunjukkan reaksi positif pada uji katalase dan bakteri Gram positif pada hasil pewarnaan Gram. Dengan demikian, diperlukan eksplorasi lanjutan atau modifikasi medium isolasi untuk memperoleh isolat dengan aktivitas enzimatis yang diharapkan serta identifikasi hingga tingkat molekuler untuk mengetahui identitas bakteri hingga tingkat spesies.

Kata kunci: bakteri, selulase, amilase, sungai Logawa, aktivitas enzimatis

ABSTRACT

The industrial application of cellulase and amylase enzymes has seen significant growth in recent years. This study aimed to isolate and assess the cellulase and amylase activity of bacteria obtained from the upstream waters of the Logawa River in Kedungbanteng, Banyumas. The methodology involved bacterial isolation using Nutrient Agar (NA) medium, bacterial purification, enzymatic activity screening using Carboxymethyl Cellulose-Nutrient Agar (CMC-NA) (for cellulase) and Starch Agar (SA) (for amylase) at 0.1% concentration, macro- and micromorphological characterization, and the catalase test. Four distinct single-colony isolates—HL2-1, HL2-2, HL2-3, and HL2-4—were obtained and selected based on macromorphological characteristics for enzymatic activity screening. The results showed no clear zones, indicating that none of the isolates exhibited cellulase or amylase activity. However, all isolates tested positive for catalase and were identified as Gram-positive bacteria via Gram staining. Consequently, further exploration or modification of the isolation medium is required to obtain isolates with the desired enzymatic activity, alongside molecular-level identification to determine the specific bacterial species.

Keywords: bacteria, cellulase enzyme, amylase enzyme, Logawa River, enzymatic activity

1. PENDAHULUAN

Enzim dalam bidang bioteknologi menjadi produk potensial yang terus berkembang pesat karena keragamannya yang dapat dimanfaatkan di berbagai industri. Selulase berperan penting dalam menguraikan selulosa. Secara umum, enzim ini difungsikan sebagai biokatalisator dalam industri tekstil, produksi bioetanol, pulp, dan paper (Hanifa *et al.*, 2021). Selain selulase, enzim hidrolase lain yang memiliki peran penting adalah amilase, yang berfungsi menghidrolisis pati menjadi molekul sederhana seperti maltosa dan glukosa. Seperti halnya selulase, aktivitas amilase juga dipengaruhi oleh suhu dan pH. Jika pH terlalu asam atau basa, enzim dapat terdenaturasi sehingga kehilangan fungsinya (Istia'nah *et al.*, 2020).

Bakteri selulolitik adalah kelompok bakteri yang mampu memproduksi selulase sebagai respon terhadap keberadaan selulosa di lingkungan (Septiana *et al.*, 2024). Habitat alami bakteri selulolitik umumnya ditemukan di tanah, kompos, seresah daun, tanah gambut, tongkol jagung, eceng gondok, atau di lingkungan yang kaya akan substrat selulosa (Raharjo & Isnawati, 2022). Di sisi lain, bakteri amilolitik merupakan kelompok bakteri penghasil amilase, dengan keanekaragaman genetik serta aktivitas enzimatis yang tinggi. Bakteri ini umumnya dapat ditemukan di berbagai jenis lingkungan darat dan perairan (Putri *et al.*, 2023).

Sungai menjadi salah satu sumber alami yang berpotensi besar untuk eksplorasi mikroba, khususnya pada bagian hulu yang memiliki kondisi lingkungan lebih stabil dan minim pencemaran. Salah satu sungai tersebut adalah Sungai Logawa, yang memiliki panjang aliran sekitar 25 km. Sungai ini berlokasi di wilayah Kabupaten Banyumas yang mengalir dari puncak Gunung Slamet menuju Sungai Serayu (Puspitasari *et al.*, 2023). Bagian hulu bertepatan di Desa Baseh, Kecamatan Kedungbenteng, Banyumas. Sebagai sungai yang cukup panjang dan melintasi berbagai wilayah, Sungai Logawa memiliki potensi besar dalam bioprospeksi mikroorganisme, termasuk pencarian kandidat bakteri selulolitik dan amilolitik.

Penelitian sebelumnya menyatakan adanya penurunan kualitas air akibat aktivitas manusia seperti penambangan pasir dan limbah rumah tangga (Puspitasari *et al.*, 2023). Namun, bagian hulu sungai relatif lebih bersih dan dinilai tetap berpeluang tinggi sebagai sumber isolat bakteri, karena kondisi lingkungannya yang masih mendukung pertumbuhan mikroorganisme (Wahyuningsih *et al.*, 2022). Oleh karena itu, Hulu Sungai Logawa dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel dalam penelitian ini. Kegiatan ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri potensial penghasil amilase dan selulase melalui tahapan proses isolasi, pengujian aktivitas enzimatis, serta pengamatan visual untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan kedua enzim tersebut. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat memberikan informasi mengenai keberadaan bakteri lokal yang berpotensi, serta pemanfaatannya dalam berbagai bidang.

2. METODELOGI PENELITIAN

2.1. Bahan dan Alat

Bahan pada persiapan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air dari hulu Sungai Logawa, *Nutrient Agar* (NA), *Carboxymethyl Cellulose-Nutrient Agar* (CMC-NA), *Strach Agar* (SA), akuades, alkohol 70%, *iodine* 0,1%, *kongo red* 0,1%, Gram stains kit, *immersions oil*, dan hidrogen peroksida (H₂O₂). Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu botol steril, cawan petri, plastik *wrap*, *aluminium foil*, jarum ose, bunsen, spiritus, termometer, tabung reaksi, timbangan analitik, *autoclave*, mikropipet, tip mikropipet, batang *drugalsky*, erlenmeyer, *glass object*, *ringlight*, dan kamera.

2.2. Sampling

Sampling dilakukan pada bulan November tahun 2024 di Hulu Sungai Logawa, desa Baseh, Kedungbanteng, Banyumas. Sampel air diambil dengan menggunakan teknik *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel secara sengaja dari sumber atau lokasi tertentu yang dianggap mewakili. Pengambilan dilakukan secara aseptis dengan mencelupkan mulut botol steril secara miring melawan arus sungai.

2.3. Isolasi Bakteri

Isolasi adalah teknik pemindahan mikroorganisme dari lingkungan asalnya ke medium yang sesuai guna memperoleh mikroba yang diinginkan. Kegiatan diawali dengan melakukan pengenceran bertingkat, yaitu teknik untuk mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi. Pengenceran bertingkat dilakukan untuk mengurangi jumlah bakteri yang akan diisolasi (Manalu & Pardosi, 2022). Sampel diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam 9 mL aquadest steril untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} , kemudian tahapan tersebut dilanjutkan hingga mencapai pengenceran 10^{-3} . Hasil pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} masing-masing diambil sebanyak 0,1 mL dan diinokulasikan ke dalam cawan petri menggunakan metode *spread plate*. Pengenceran bertingkat dilakukan untuk mengurangi suspensi. Metode *spread plate* merupakan teknik isolasi dengan meneteskan sampel ke permukaan medium agar, kemudian diratakan menggunakan batang Drugalsky dengan gerakan memutar 360° . Terakhir, cawan diinkubasi pada suhu ruang selama 1x24 jam.

2.4. Pemurnian Bakteri

Setelah proses isolasi dan inkubasi, bakteri yang tumbuh kemudian dimurnikan. Tahap pemurnian ini dilakukan untuk menghilangkan mikroorganisme atau kontaminan, dengan menumbuhkan kembali isolat terpilih pada medium baru agar diperoleh koloni tunggal yang berasal dari satu jenis mikroba. Koloni hasil isolasi dipilih dan diambil menggunakan jarum ose, lalu diinokulasikan ke medium NA yang baru menggunakan metode *streak plate*. Kemudian, medium diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam hingga 48 jam. Hasil pemurnian dapat diamati dari koloni tunggal yang terbentuk di ujung goresan *streak* isolat (Hidayat *et al.*, 2021).

2.5. Skrining Selulolitik

Tahap selanjutnya yaitu skrining aktivitas selulolitik yang merupakan tahapan untuk mendeteksi kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan selulase. Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium CMC-NA menggunakan jarum ose dengan teknik *point inoculation*. Point inoculation diulang empat kali pada empat titik yang berbeda dalam satu cawan petri. Setelah itu, medium kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah masa inkubasi selesai, diameter koloni yang tumbuh diukur menggunakan penggaris. Selanjutnya, medium isolat ditetesi dengan larutan *Congo red* 0,1% secara merata dan diamkan selama 15 menit, lalu bilas dengan NaCL dan hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening (Astuti *et al.*, 2022). Diameter zona bening yang terbentuk dapat diukur kembali menggunakan penggaris. Terbentuknya zona hidrolisis di sekitar koloni menunjukkan adanya degradasi selulase. Data diameter zona bening ini digunakan untuk menentukan indeks selulolitik.

$$\text{Indeks Selulolitik (IS)} = \frac{Dz - Dk}{Dk}$$

Keterangan:

Dz: Diameter zona jernih (mm)

Dk: Diameter koloni (mm)

2.6. Skrining Amilolitik

Skrining aktivitas amilolitik dilakukan untuk mendeteksi kemampuan mikroorganisme dalam memproduksi amilase. Isolat diambil dengan jarum ose, lalu diinokulasikan dengan teknik *point inoculation* pada medium SA sebanyak empat kali pengulangan di titik berbeda. Berikutnya, kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Setelah 2x24 jam, diameter koloni bakteri diukur menggunakan penggaris. Setelah itu, permukaan medium ditetesi dengan reagen *iodine* 0,1% dan diamkan selama 5 menit. Aktivitas enzimatis ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Nursanti *et al.*, 2022). Diameter zona bening dapat diukur menggunakan penggaris dan dihitung indeks amilolitiknya menggunakan rumus.

$$\text{Indeks Amilolitik (IA)} = \frac{Dz - Dk}{Dk}$$

Keterangan:

Dz: Diameter zona jernih (mm)

Dk: Diameter koloni (mm)

2.7. Karakterisasi Morfologi Isolat

Karakteristik isolat ditentukan melalui karakterisasi morfologi baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Parameter pengamatan secara makroskopis meliputi ukuran, bentuk, tepi, elevasi, permukaan, pigmentasi, optik, dan warna koloni. Sementara itu, pengamatan secara mikroskopis adalah pengamatan struktur sel isolat di bawah mikroskop dengan pewarnaan tertentu. Teknik pewarnaan gram digunakan untuk menentukan sifat Gram bakteri, serta memberikan gambaran struktur sel secara detail melalui serangkaian pewarnaan. Karakter mikroskopis yang dapat diamati melalui pewarnaan ini meliputi bentuk, susunan, serta sifat Gram sel. Hasil akhir dari proses pewarnaan Gram menjadi indikator utama dalam menentukan sifat Gram isolat yang diuji. Bakteri Gram positif akan terlihat berwarna keunguan akibat mempertahankan warna kristal violet. Sementara itu, bakteri Gram negatif berwarna kemerahan akibat perwarna safranin (Amin *et al.*, 2023).

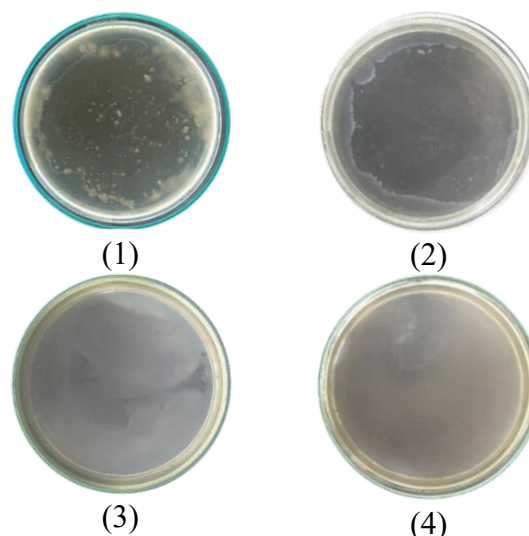
2.8. Uji Katalase

Uji katalase bertujuan untuk mengidentifikasi adanya enzim katalase pada isolat terpilih. Isolat bakteri yang telah dikultur dan diinkubasi selama 24 jam diambil menggunakan jarum ose. Kemudian, isolat dioleskan pada object glass yang steril. Selanjutnya, tetesi isolat dengan larutan hidrogen peroksida (H_2O_2). Interpretasi positif dari pengujian adalah timbulnya gelembung oksigen (Sasebohe *et al.*, 2023).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

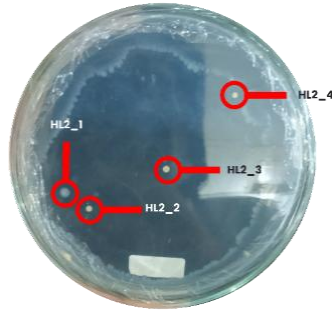
3.1. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri penghasil selulase dan amilase dalam penelitian ini dilakukan menggunakan sampel air hulu Sungai Logawa, Kedungbanteng, Banyumas. Isolasi bakteri adalah proses pemindahan mikroorganisme dari habitat alaminya ke medium buatan, tujuannya untuk memperoleh biakan murni yang terbebas dari kontaminasi mikroba lain. Sampel air sungai mengandung populasi bakteri yang sangat tinggi dan beragam, sehingga diperlukan pengenceran bertingkat untuk mengurangi jumlah bakteri yang akan diisolasi (Manalu & Pardosi, 2022). Pengenceran diulang sebanyak tiga kali hingga didapatkan pengenceran 10^{-3} . Dua pengenceran terakhir ditumbuhkan pada medium NA menggunakan metode *spread plate*, dan setiap perlakuan dilakukan secara duplo. Berdasarkan hasil isolasi, diambil empat isolat koloni tunggal berbeda untuk dilakukan pengujian aktivitas enzimatis. Empat isolat tunggal tersebut diberi kode HL2-1, HL2-2, HL2-3, dan HL2-4. Selanjutnya, empat isolat terpilih berdasarkan kenampakan morfologi dimurnikan ke medium NA baru menggunakan alat yang steril agar tidak terkontaminasi koloni lainnya (Wulandhani *et al.*, 2024).



Gambar 1 Hasil Isolasi Bakteri dari Air Hulu Sungai Logawa

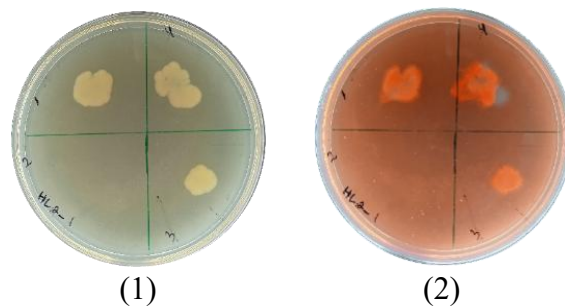
(Keterangan: (1) Sampel HL2-2(10^{-3}); (2) Sampel HL2-1(10^{-2}); (3) Sampel HL2-1(10^{-3}); (4) Sampel HL2-2(10^{-2}))



Gambar 2. Isolat terpilih

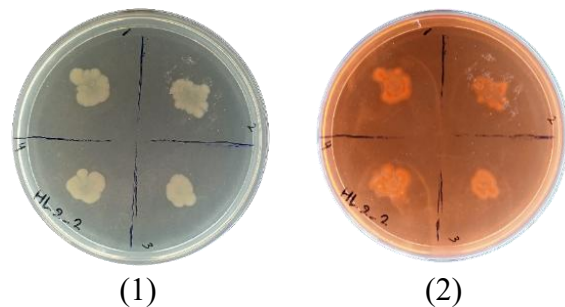
3.2. Uji Aktivitas Selulase

Uji aktivitas selulase secara kualitatif dilakukan untuk menguji potensi selulolitik dari isolat. Isolat ditumbuhkan pada medium CMC-NA yang merupakan medium selektif bagi mikroorganisme penghasil selulase (Hikam *et al.*, 2024). Pengujian aktivitas selulase menggunakan larutan *Congo red* 0,1% dan ditunggu selama 15 menit untuk mendeteksi terbentuknya zona bening, lalu bilas 2-3 kali menggunakan 1M NaCL. Terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah medium ditetesi larutan *Congo red* menunjukkan isolat bakteri yang mampu menghidrolisis CMC-NA. Zona bening dapat digunakan untuk menentukan indeks selulolitik (Dewiyanti *et al.*, 2022). Berdasarkan pengujian yang dilakukan, keempat isolat tidak menunjukkan adanya zona bening. Menurut Chusniasih *et al.* (2023) Reagen *Congo red* (natrium benzydindiazo-bis-1-naftilamin-4-sulfonat) berinteraksi secara kuat dengan ikatan β -1,4-glikosidik dalam CMC, membentuk kompleks berwarna merah pada area yang tidak terhidrolisis. Hal tersebut juga didukung oleh pernyataan Ananda *et al.* (2023) bahwa hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menandakan adanya aktivitas selulolitik yang menghidrolisis selulosa, sehingga daerah tersebut tidak mampu berikatan dengan *Congo red*. Dengan demikian, seluruh isolat bakteri terpilih bukan merupakan isolat yang potensial dalam degradasi enzim selulase.



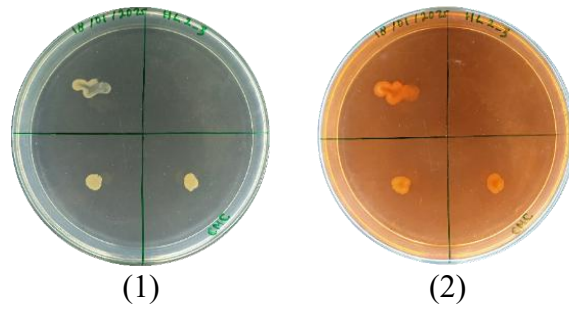
Gambar 3. Hasil Skrining Selulolitik Isolat HL2-1

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan *Congo red* 0,1%;(2) Setelah ditetesi larutan *Congo red* 0,1%



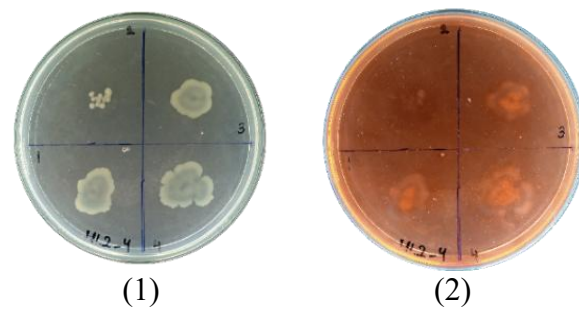
Gambar 4. Hasil Skrining Selulolitik Isolat HL2-2

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan *Congo red* 0,1%;(2) Setelah ditetesi larutan *Congo red* 0,1%



Gambar 5. Hasil Skrining Selulolitik Isolat HL2-3

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan Congo red 0,1%;(2) Setelah ditetesi larutan Congo red 0,1%



Gambar 6. Hasil Skrining Selulolitik Isolat HL2-4

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan Congo red 0,1%;(2) Setelah ditetesi larutan Congo red 0,1%

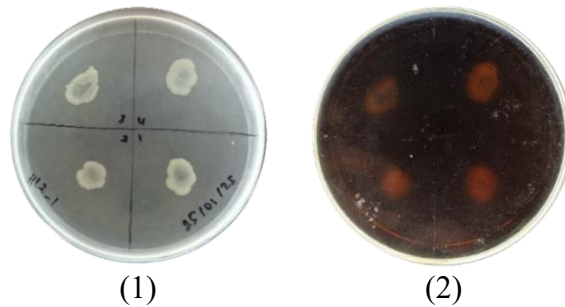
Tabel 1. Indeks Selulolitik Isolat Bakteri dengan Waktu Inkubasi 48 Jam

Kode Isolat	Pengulangan	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Jernih (mm)	Indeks Amilolitik (mm)	Rata-Rata Indeks Amilolitik (mm)
HL2-1	1	13	0	0	0
	3	11	0	0	
	4	16,5	0	0	
HL2-2	1	12,5	0	0	0
	2	11,5	0	0	
	3	12	0	0	
HL2-3	1	12	0	0	0
	2	7	0	0	
	3	7	0	0	
HL2-4	1	14,5	0	0	0
	2	7,5	0	0	
	3	14,5	0	0	
	4	17	0	0	

3.3. Uji Aktivitas Amilase

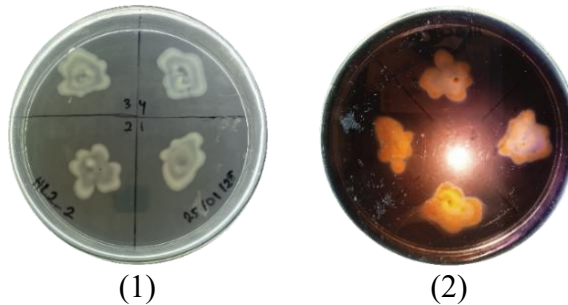
Uji aktivitas amilase bertujuan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam menghidrolisis pati (amilum) (Chusniasih *et al.*, 2023). Pengujian ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada medium NA yang ditambahkan dengan pati 1% dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Bakteri yang

telah tumbuh ditetesi dengan larutan *iodine* dan dibiarkan beberapa menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, tidak ditemukan zona bening pada keempat isolat yang diuji. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada aktivitas amilase, sehingga isolat tersebut bukan merupakan bakteri amilolitik. Menurut Irsyadah & Sentosa (2024) tidak terbentuknya zona bening di sekitar koloni menandakan hasil negatif terhadap aktivitas amilase. Pernyataan ini sejalan dengan Swandi (2025) yang menyatakan bahwa pembentukan zona bening pada medium yang mengandung pati 1% setelah penambahan larutan *iodine* menunjukkan adanya aktivitas amilolitik. *Iodine* berfungsi sebagai indikator untuk mendeteksi keberadaan amilum dengan membentuk kompleks berwarna biru keunguan. *Iodine* tidak bereaksi dengan senyawa sederhana seperti maltosa dan glukosa. Bakteri amilolitik menghasilkan enzim amilase yang mampu menghidrolisis amilum melalui ikatan α -1,4 glikosida pada rantai polisakarida. Oleh karena itu, hasil positif ditunjukkan oleh adanya zona bening, yang mengindikasikan bahwa amilum telah terhidrolisis dan tidak lagi dapat bereaksi dengan *iodine*. Dengan demikian, seluruh isolat bakteri terpilih bukan merupakan isolat yang potensial dalam degradasi enzim amilase.



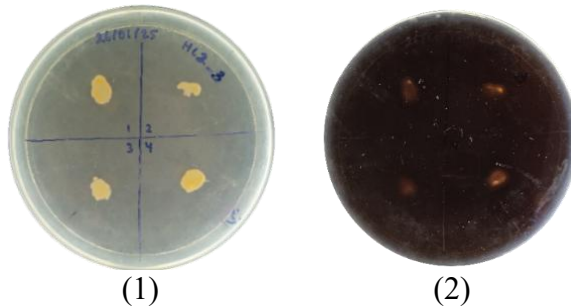
Gambar 3.1 Hasil Skrining Amilolitik Isolat HL2-1

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan *iodine*; (2) Setelah ditetesi larutan *iodine*.



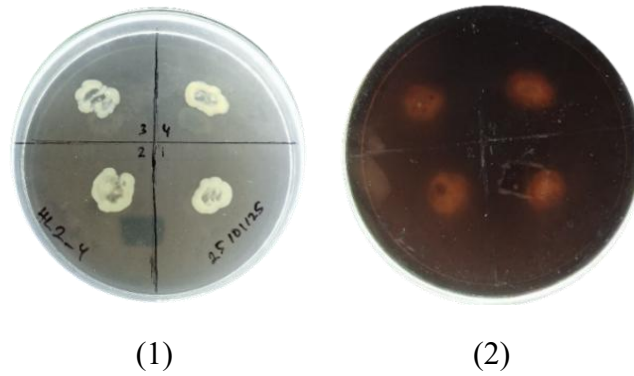
Gambar 3.2 Hasil Skrining Amilolitik Isolat HL2-2

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan *iodine*; (2) Setelah ditetesi larutan *iodine*.



Gambar 3.3 Hasil Skrining Amilolitik Isolat HL2-3

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan *iodine*; (2) Setelah ditetesi larutan *iodine*.



Gambar 3.4 Hasil Skrining Amilolitik Isolat HL2-4

Keterangan: (1) Sebelum ditetesi larutan *iodine*; (2) Setelah ditetesi larutan *iodine*.

Tabel 2. Indeks Selulolitik Isolat Bakteri dengan Waktu Inkubasi 48 Jam

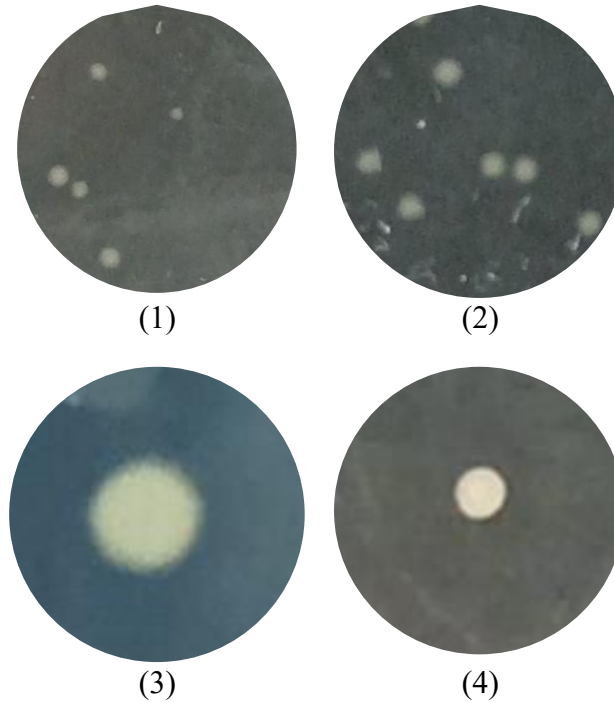
Kode Isolat	Pengulangan	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Jernih (mm)	Indeks Amilolitik (mm)	Rata-Rata Indeks Amilolitik (mm)
HL1-1	1	21	0	0	0
	2	21,5	0	0	
	3	20	0	0	
	4	15,5	0	0	
HL1-2	1	13,5	0	0	0
	2	11,5	0	0	
	3	14	0	0	
	4	13,5	0	0	
HL1-3	1	9,5	0	0	0
	2	6,5	0	0	
	3	8	0	0	
	4	8	0	0	
HL1-3	1	11,5	0	0	0
	2	13	0	0	
	3	12,5	0	0	
	4	11,5	0	0	

3.4. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri

Bakteri memiliki bentuk dan ukuran koloni yang beragam dan relatif stabil pada kondisi lingkungan yang sesuai. Oleh karena itu, karakterisasi bakteri diperlukan untuk menentukan bakteri berdasarkan morfologinya. Pengamatan bakteri dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis adalah pengamatan secara langsung tanpa menggunakan mikroskop. Beberapa parameter diperlukan untuk menentukan morfologi bakteri. Sementara itu, pengamatan mikroskopis memerlukan pewarnaan. Pada penelitian ini, pewarnaan dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk memperoleh visualisasi bentuk sel, susunan sel, dan tipe Gram bakteri (Panjaitan *et al.*, 2023).

Pengamatan makroskopis dilakukan secara langsung terdiri dari bentuk koloni, tepi koloni, elevasi, permukaan atau tekstur koloni, warna koloni, dan ukuran koloni (Rafif *et al.*, 2023). Dari pengamatan yang telah dilakukan, isolat HL2-1 memiliki ukuran yang kecil, bentuk bulat (*Circular*), warna putih, tepi rata, permukaan yang mengkilat, elevasi mendatar (*Flat*), dan karakter optik jernih

tembus cahaya (*Translucent*). Serupa dengan itu, isolat HL2-2 dan isolat HL2-4 memiliki karakteristik makroskopis yang sama dengan isolat HL2-1 mulai dari ukuran hingga karakter optik. Di sisi lain, isolat HL2-3 memiliki perbedaan pada warna, elevasi, dan karakter optik dengan isolat HL2-1, HL2-2, H2-4. Isolat HL2-3 memiliki warna kuning muda dengan elevasi *raised* dan karakter optik *opaque* atau tidak tembus pandang. Menurut Waskitho *et al.* (2023) bakteri dikatakan memiliki elevasi *flat* apabila tinggi koloni sejajar dengan permukaan medium tumbuhnya. Koloni bakteri yang tampak mengkilap menunjukkan bahwa koloni tersebut memiliki permukaan yang licin. Perbedaan karakter optik antar bakteri disebabkan oleh kemampuan tiap koloni dalam menyerap cahaya.



Gambar 11. Koloni Tunggal Isolat Bakteri

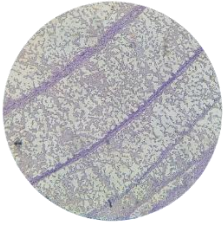
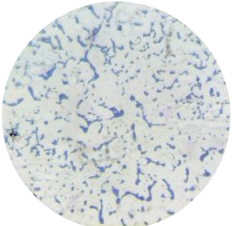
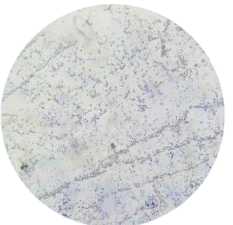
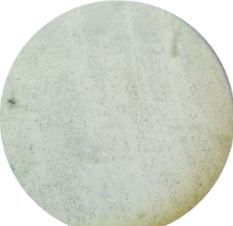
Keterangan: (1) HL2-1; (2) HL2-2; (3) HL2-3; (4) HL2=4

Tabel 3. Karakteristik Morfologi Koloni

Morfologi Koloni	Isolat HL2-1	Isolat HL2-2	Isolat HL2-3	Isolat HL2-4
Ukuran	Kecil	Kecil	Kecil	Kecil
Bentuk	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
Warna	Putih	Putih	Kuning muda	Putih
Tepi	Rata	Rata	Rata	Rata
Permukaan	Mengkilat	Mengkilat	Mengkilat	Mengkilat
Elevasi	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>	<i>Raised</i>	<i>Flat</i>
Karakter optik	<i>Translucent</i>	<i>Translucent</i>	<i>Opaque</i>	<i>Translucent</i>

Berdasarkan pewarnaan yang telah dilakukan, seluruh isolat, yaitu HL2-1, HL2-2, HL2-3, dan HL2-4 menunjukkan warna ungu dengan saturasi warna yang berbeda-beda pada tiap isolat. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa keempat isolat merupakan golongan bakteri Gram positif. Menurut Suardana *et al.* (2021) kelompok bakteri gram positif akan tampak berwarna ungu karena bakteri dapat mempertahankan zat pewarna kristal violet. Hal ini disebabkan karena adanya struktur peptidoglikan yang tebal pada dinding sel. Hal ini sejalan dengan Wulandhani *et al.* (2024) Bahwa peptidoglikan yang dimiliki bakteri gram positif mampu mengunci warna kristal violet saat proses dekolorisasi warna, sehingga warna yang tampak adalah hasil pewarnaan kristal violet.

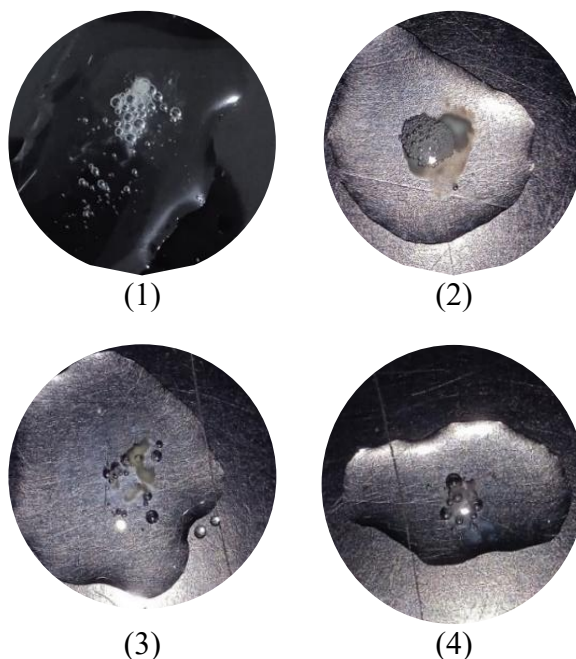
Tabel 4. Karakteristik Morfologi Sel Bakteri

Kode Isolat	Sifat Gram	Bentuk Sel	Hasil Pengamatan
HL2-1	Positif	Coccus	 Perbesaran Total 400x
HL2-2	Positif	Coccus	 Perbesaran Total 400x
HL2-3	Positif	Coccus	 Perbesaran Total 400x
HL2-4	Positif	Coccus	 Perbesaran Total 400x

Bentuk umum bakteri dibedakan menjadi bulat (*coccus*), batang (*Bacillus*), dan bentuk lengkung. Bakteri *coccus* dapat dibedakan berdasarkan pengelompokan selnya, seperti *monococcus*, *diplococcus*, *streptococcus*, dan lainnya. Di sisi lain, bakteri basil dapat berbentuk rantai atau bergandengan yang dipengaruhi oleh tahap pertumbuhan (Lantang, 2023). Berdasarkan hasil pengamatan di bawah mikroskop dengan total perbesaran 400x, diperoleh data bahwa isolat HL2-1 bersifat Gram positif dan berbentuk *coccus* berderet panjang, memungkinkannya termasuk ke dalam kelompok bakteri *streptococcus*. Untuk isolat HL2-2 bersifat Gram positif dengan bentuk *coccus* yang menyebar secara acak. Selain itu, isolat HL2-3 juga berbentuk *coccus* dengan sifat Gram positif, serta untuk isolat HL2-4 tampak berbentuk *coccus* yang menyebar, sifat Gram positif dengan warna ungu pucat.

3. 5 Uji Katalase

Berdasarkan pengujian yang dilakukan, hasil menunjukkan bahwa empat isolat (HL2-1, HL2-2, HL2-3, dan HL2-4) menunjukkan munculnya gelembung. Budiyanto *et al.* (2021) menyatakan bahwa uji katalase, yang ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung gas sebagai indikator hasil positif.



Gambar 12. Hasil Uji Katalase Isolat Bakteri

Keterangan: (1) Isolat HL2-1; (2) Isolat HL2-2; (3) Isolat HL2-3; (4) Isolat HL2-4

4. KESIMPULAN

Berdasarkan rangkaian uji yang telah dilakukan, empat isolat bakteri berhasil diperoleh dari sampel air hulu Sungai Logawa. Seluruh isolat menunjukkan aktivitas enzim katalase, yang ditandai dengan terbentuknya gelembung pada uji katalase dan bakteri Gram Positif dari pewarnaan Gram. Namun demikian, keempat isolat tidak menunjukkan aktivitas enzimatis pada pengujian aktivitas selulolitik dan amilolitik. Dengan demikian, perlu dilakukan uji lanjutan dengan penambahan jumlah sampel atau penggunaan sedimen sebagai sumber isolasi. Perlu juga dilakukan modifikasi medium isolasi seperti penggunaan medium spesifik sebagai alternatif untuk mengeksplorasi potensi enzimatis lainnya dari lingkungan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, S., S. , Ghozali, T., Z., Efendi, M., R., S., (2023). Identifikasi bakteri dari telapak tangan dengan pewarnaan gram. *Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan: Chemviro*, 1(1), 29-34.
- Ananda, D., Rasyidah, R., & Mayasari, U. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Dari Lumpur Mangrove Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 25(1), 20-27.
- Astuti, R. I., Saju, Y. B. P., Aribah, D., & Wahyudi, A. T. (2022). Skrining dan Identifikasi Bakteri Laut Penghasil Enzim Selulase yang Berasosiasi dengan Spons. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 27(1), 70-75.
- Budiyanto, R., Satriawan, N.E. and Suryani, A., (2021). Identifikasi Dan Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik (Chloramphenicol Dan Cefotaxime Sodium) Dari Pus Infeksi Piogenik Di Puskesmas Proppo. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2),154-162.
- Chusniasih, D., Suryanti, E. and Safitri, E., (2023). Isolasi dan Uji Aktivitas Selulolitik Bakteri Asal Limbah Bagas. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 28(3), 386-395.

- Dewiyanti, I., Darmawi, D., Muchlisin, Z.A., Helmi, T.Z., Arisa, I.I., Rahmiati, R. and Destri, E., (2022). Cellulase enzyme activity of the bacteria isolatd from mangrove ecosystem in Aceh Besar and Banda Aceh. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 951, No. 1, p. 012113). IOP Publishing.
- Hanifa, N. I., Deccati, R. F., & Muliastari, H., (2021). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Rumen Sapi (*Bibos javanicus*). *Journal of Science, Technology and Entrepreneur*, 3(1). 1-7.
- Hidayat, J. N., & Fajariningtyas, D. A. (2021). Isolasi Bakteri Amilolitik dari Ragi. *LENSA (Lentera Sains): Jurnal Pendidikan IPA*, 3(2), 39-42.
- Hikam, A.R., Setio, A.E.M., Mumpuni, A., Yulianti, D.M. and Dewi, R.S., (2024). Isolasi, Skrining dan Identifikasi Fungi Selulolitik Asal Tempat Pengolahan Sampah Terpadu (TPST) Rempoah, Kabupaten Banyumas. *SCISCITATIO*, 5(2), 58-66.
- Irsyadah, N. and Santosa, S., (2024). Isolasi dan karakterisasi bakteri amilolitik, proteolitik dari tanah perkebunan pepaya dengan serangan hama kutu putih (*Paracoccus marginatus*) di Kebumen. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1),86-92.
- Istia'nah, D., Utami, U., & Barizi, A., (2020). Karakterisasi enzim amilase dari bakteri *Bacillus megaterium* pada variasi suhu, pH dan konsentrasi substrat. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 2(1), 11-17.
- Lantang, D., (2023). *Pengantar Bakteriologi*. Bantul:Samudra Biru.
- Manalu, A.I. and Pardosi, L., (2022). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Antibiotik Dari Tanah Sawah Di Naen Kabupaten Timor Tengah Utara. *Jurnal Saintek Lahan Kering*, 5(1),5-6.
- Nursanti, O. W., Astuti, W., & Ruga, R. (2022). Skrining Amilase, Lipase dan Protease dari Bakteri Endofit Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.). *Jurnal Atomik*, 7(2), 1-5.
- Panjaitan, D., Wardhana, V.W., Hadi, R., Tsuraya, F. and Naibaho, F.G., (2023). Pelatihan karakterisasi morfologi bakteri dan fungi sebagai pengayaan praktikum biologi bagi guru Sekolah Menengah Atas. *JMM (Jurnal Masyarakat Mandiri)*, 7(1), 556-565.
- Puspitasari, H., Fikriyya, N., Fianjani, A. S., Viana, R. O., Transendenti, A. S., Handayani, A. M. T., & Adharani, N. (2023). Keanekaragaman Makrozoobenthos di Sungai Logawa, Jawa Tengah. *MAIYAH*, 2(3), 257-269.
- Putri, V. T., Rasyidah, R., & Mayasari, U., (2023). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik Dari Sampel Air Pantai Paris Tigaras. *Klorofil: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 7(1), 16-24.
- Rafif, M., Alfizar, A. and Hakim, L., (2023). Eksplorasi Bakteri Endofit pada Tanaman Padi dari Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(4), 964-976.
- Raharjo, A. P., & Isnawati, I., (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik pada Pakan Fermentasi Eceng Gondok, Tongkol Jagung, dan Bekatul Padi. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(1), 44-51.
- Sasebohe, V. Y., Prakasita, V. C., & Aditjarini, D. (2023). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun binahong terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat. *Sciscitatio*, 4(1), 1-14.
- Septiana, L., Susanti, E., Haryani, Y., Rani, Z., & Rambe, R. (2024). Penapisan Dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik. *Forte Journal*, 4(2), 472-480.
- Suardana, I.W., Dinarini, N.M.A.A. and Sukrama, I.D.M., (2021). Identifikasi Spesies Streptokokus β -Hemolisis Hasil Isolasi dari Nasal dan Tonsil Babi dengan Uji Basitrasin. *Buletin Veteriner Udayana Volume*, 13(1), 27-33.
- Swandi, M. K. (2025). Isolasi, Karakterisasi, Dan Potensi Enzimatis Bakteri Asal Tanah Sampah Di Tempat Pembuangan Akhir Sebagai Kandidat Agen Biodekomposer. *Berita Biologi*, 24(1), 63-72.

- Wahyuningsih, E., Rahayu, N. L., & Zaenuri, M. (2022). Pengaruh penambangan batu terhadap komunitas makrozoobentos di Sungai Logawa. *Jurnal Multidisiplin Madani*, 2(2), 1047-1066.
- Waskitho, N.T., Fanani, I. and Wibowo, F.A.C., (2024). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Metanotrof pada Hutan Alam (Tahura). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 21(1), 61-71.
- Wulandhani, S., Wahyuni, A. and Hasyim, A., (2024). Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Dari Limbah Biomedis Cair Rumah Sakit Unhas Dengan Metode Ziehl Neelsen. *Jurnal Biogenerasi*, 10(1), 70-75.