

**SELEKSI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM
MANANASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA SEBAGAI
KANDIDAT PROBIOTIK**

(Skripsi)

Oleh

Dwi Eka Rahmawati



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

SELEKSI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM MANANASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK

Oleh

Dwi Eka Rahmawati

Mananase merupakan golongan enzim induktif yang pembentukannya dipengaruhi oleh keberadaan substrat. Adanya mannan pada lantai hutan mangrove merupakan medium yang baik untuk menginduksi bakteri untuk menghasilkan mannanase. *Bacillus* merupakan salah satu bakteri yang telah diketahui dapat menghasilkan enzim mannanase. Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung memiliki isolat bakteri dari hutan mangrove Hanura sebanyak 30 isolat dan belum diketahui karakter menanolitiknya. Bakteri diseleksi berdasarkan kemampuannya mendegradasi mannan menggunakan media Sea Water Complete Agar (SWC A) dengan penambahan 0.5% locust bean gum. Isolat pendegradasi mannan kemudian dikarakterisasi meliputi ketahanan terhadap cekaman pH, cekaman garam, dan ion logam, dan penentuan lama produksi enzim mannanase. Isolat bakteri yang digunakan sebagai probiotik harus diuji sifat patogenisitasnya melalui uji hemolitik pada media agar darah.

Dari total 30 isolat yang diseleksi, ada 9 isolat yang memiliki sifat mananolitik. Seluruh isolat mananolitik diketahui tahan terhadap kadar garam 0%, 3%, maupun 6%. Pada uji cekaman pH, isolat mananolitik tumbuh baik pada pH 7 dan 10 tetapi tidak tumbuh pada pH 4. Berdasarkan uji patogenisitas diketahui ada 7 isolat bersifat hemolitik dan 2 isolat IBK₃ dan ID₂K₁ tidak hemolitik. Diketahui isolat IBK₃ memenuhi syarat untuk digunakan sebagai probiotik. Ion logam Fe³⁺ mampu menaikkan aktivitas enzimatis sebesar 11,12% pada isolat IBK₃. Aktivitas enzim tertinggi isolat IBK₃ terjadi pada waktu produksi 96 jam yaitu sebesar 0,05 UmL⁻¹.

Kata Kunci : *Bacillus* sp., Mananase, Probiotik.

**SELEKSI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM
MANANASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA SEBAGAI
KANDIDAT PROBIOTIK**

Oleh

Dwi Eka Rahmawati

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
Sarjana Sains**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Proposal Penelitian : **SELEKSI DAN KARAKTERISASI
Bacillus sp. PENGHASIL ENZIM
MANANASE DARI HUTAN MANGROVE
HANURA SEBAGAI KANDIDAT
PROBIOTIK**

Nama Mahasiswa : **Dwi Eka Rahmawati**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1517021054

Jurusan/Program Studi : Biologi/S1 Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 19650325 199103 1 003

Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP. 19610418 198703 1 001

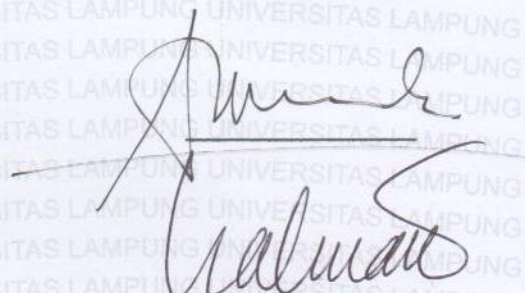
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 19610112 199103 1 002

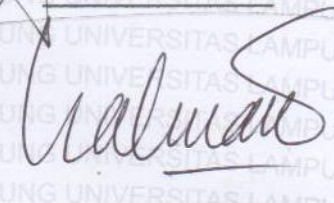
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

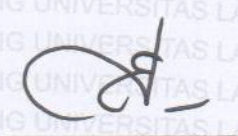
Ketua : Dr. Sumardi, M.Si.



Sekretaris : Ir. Salman Farisi, M.Si.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dra. C. N. Ekowati, M.Si.**



2. Dekan Fakultas MIPA



Drs. Suratman, M. Sc.
Np. 19640604 19903 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 27 Juni 2019

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dwi Eka Rahmawati
NPM : 1517021054
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi: Universitas Lampung

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya-sungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Seleksi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Enzim Mananase dari Hutan Mangrove Hanura sebagai Kandidat Probiotik”

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan/atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Jika dikemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 24 Juli 2019

menyatakan,



Dwi Eka Rahmawati
NPM. 1517021054

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Tanjung Bintang pada 30 Oktober 1997 dari pasangan Bapak Tego Santoso, S.Pd. dan Ibu Niswati sebagai putri bungsu dari dua bersaudara. Penulis menempuh pendidikan di Taman Kanak-kanak Al-Azhar 10 Tanjung Bintang tahun 2002-2003. Setelah itu Penulis melanjutkan pendidikan dasar di SD Negeri 1 Jatibaru, Tanjung Bintang, Lampung Selatan tahun 2003-2009. Kemudian Penulis melanjutkan pendidikan di SMP Kartika II-2 (PERSIT) Bandar Lampung tahun 2009-2012. Penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Bandar Lampung tahun 2012-2015. Tahun 2015 Penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Unila, Penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO FMIPA Unila) sebagai Anggota Bidang Sains dan Teknologi periode 2016-2017 serta Anggota Bidang Keilmuan dan Ekspedisi periode 2017. Selain itu Penulis juga pernah membantu Dosen untuk menjadi Asisten Praktikum 3 mata kuliah yaitu Mikrobiologi Umum,

Mikologi, dan Bioteknologi. Pada awal tahun 2018, Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Pekon Napal, Kecamatan Kelumbayan, Kabupaten Tanggamus. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) di Bandar Lampung dengan judul **“Uji Cemarkan Mikroba (Identifikasi Angka Lempeng Total, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella*) pada Obat Tradisional di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) di Bandar Lampung”** pada bulan Juli-Agustus 2018.

***"Karya Ilmiah ini kupersembahkan
kepada bapak dan ibu tercinta,
kakakku tersayang, dan almamater
yang aku banggakan"***

Motto

“Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu”

-QS. Al-baqarah [2]:45-

“Hidup itu bagai naik sepeda, tak akan jatuh sampai berhenti mengayuh”

-Anonim-

“Everyone you meet is fighting a battle you know nothing about.

Be kind. Always.”

-Anonim-

“You could be the greatest. You can be the best. You can be a master. Don't wait for luck. Dedicate yourself and you can find yourself standing in the

hall of fame”

-The Script-

SANWACANA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillahirabbil'alamin. Puji syukur atas rahmat dan karunia Allah Subhanahuwata'ala sehingga skripsi dengan judul "**Seleksi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Enzim Mananase dari Hutan Mangrove Hanura sebagai Kandidat Probiotik**" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian proyek bapak Dr. Sumardi, M. Si. pada tahun 2018.

Penulis menyadari bahwa selama penulis menjadi mahasiswa banyak sekali bantuan yang penulis dapatkan. Oleh karena itu, dengan terselesainya skripsi ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Keluarga yang tercinta, yaitu Bapak Tego Santoso, S.Pd., Ibu Niswati, serta kakakku Agung Prasetyo yang telah mendukung, membimbing dan mendo'akanku setiap hari.
2. Bapak Dr. Sumardi, M.Si., sebagai Pembimbing 1 yang telah dengan sabar memberi masukan, saran, serta membimbing selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini.

3. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., sebagai Pembimbing 2 sekaligus Pembimbing Akademik yang sabar membimbing, memberi perhatian, dan membagi ilmu serta membantu penulis menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Dra. C.N Ekowati, M.Si., sebagai Pembahas yang telah memberikan kritik dan saran, serta nasihat yang membantu penulis dalam membuat skripsi ini menjadi lebih baik.
5. Bapak Drs. Suratman, M.Sc., sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si, sebagai Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Ibu Dra. Yulianty, M.Si., sebagai Ketua Prodi Jurusan Biologi S1 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmu dan motivasi yang sangat bermanfaat.
9. Kawan seperjuangan dalam penelitian Cahya, Sundari, Yunita, Anna, Iqbal, Mba Fika, dan Edelyn yang telah berjuang bersama melaksanakan penelitian serta menyemangati penulis sampai dicetaknya skripsi ini.
10. Teman-teman *Micrew* 2015 yang telah berjuang bersama sampai saat ini.
11. Laboranku tersayang Mba Oni atas dukungan dan kebaikannya selama penulis menjalani penelitian.
12. Semua anggota Salira University (Iwak leleku), Cahya, Nosep, Stevi, Desi, Yoyo, Inten, Jumik, Uwik, Lily, Puput, dan Renti atas kebersamaan, dukungan, canda dan tawa yang telah kalian berikan.

13. Eriola Maulidya yang membantu memberikan semangat kepada penulis pada saat penelitian hingga dicetaknya skripsi ini.
14. Teman-teman Biologi 2015 Neofelis, pengurus Himbio FMIPA Unila, kakak tingkat, adik tingkat angkatan 2016, 2017, dan 2018 terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan bantuan yang diberikan selama penulis berada di lingkungan kampus tercinta.
15. Seluruh pihak yang telah membantu dan mempermudah penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyelesaian studi program sarjana.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih terdapat banyak kekurangan, ketidaksempurnaan, kekhilafan perkataan dan penulisan selama proses pembuatan skripsi ini. Akan tetapi besar harapan penulis semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi para pembaca yang di kemudian hari membutuhkannya.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Bandar Lampung, 24 Juli 2019

Penulis,

Dwi Eka Rahmawati

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
HALAMAN PERSEMBAHAN	x
MOTTO	xi
SANWACANA	xii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
D. Kerangka Pikir.....	4
E. Hipotesis	6

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Hutan Mangrove	7
B. <i>Bacillus</i> sp.	9
C. Manan.....	10
D. Enzim Mananase	11
E. Bakteri Mananolitik.....	12
F. Probiotik	13

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian	15
B. Bahan dan Alat	15
C. Metodologi Penelitian	16
1. Persiapan Media	17
2. Seleksi Bakteri Mananolitik	17
3. Karakterisasi Isolat <i>Bacillus</i> sp.	18
a. Uji Cekaman terhadap Kadar Garam.....	18
b. Uji Cekaman terhadap pH	18
c. Uji Patogenisitas	18
d. Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Bakteri dalam Menghasilkan Enzim Mananase	18
4. Produksi dan Penentuan Lama Waktu Inkubasi terhadap Produksi Enzim	19
5. Penentuan Gula Standar Manosa.....	20
D. Diagram Alir	21

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolat Bakteri Mananolitik	22
B. Cekaman Kadar Garam terhadap Pertumbuhan <i>Bacillus</i> sp.	23
C. Cekaman pH Media terhadap Pertumbuhan <i>Bacillus</i> sp.	24
D. Patogenisitas Isolat Bakteri Mananolitik	25
E. Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Bakteri dalam Menghasilkan Enzim Mananase	27
F. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi terhadap Produksi Enzim	28

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	30
B. Saran	30

DAFTAR PUSTAKA..... 31

LAMPIRAN 36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Uji Aktivitas Enzim	20
Tabel 2. Penentuan Larutan Standar	20
Tabel 3. Hasil Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Mananolitik	26

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Bacillus cereus</i>	10
Gambar 2. Hidrolisis manan oleh enzim mananase	12
Gambar 3. Indeks Mananolitik Isolat IBK ₃ pada media SWC Agar.....	23
Gambar 4. Pengaruh logan terhadap kemampuan isolat IBK ₃ dalam mendegradasi senyawa manan	28
Gambar 5. Kurva aktivitas enzim mananase isolat IBK ₃ yang ditentukan menggunakan metode DNS	29
Gambar 6. Kurva standar manosa	37
Gambar 7. Uji pengaruh logam FeCl ₃ terhadap kemampuan isolate IBK ₃ Dalam menghasilkan enzim mananase.....	38

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hutan mangrove merupakan kawasan hutan dengan habitat di perbatasan antara laut dan daratan dengan salinitas tinggi. Salah satu ciri tanaman mangrove yaitu memiliki akar yang muncul ke permukaan. Beberapa hasil penelitian di wilayah pesisir menunjukkan bahwa hutan mangrove sangat bermanfaat bagi warga yang tinggal di sekitarnya. Keuntungan yang didapatkan warga sekitar diantaranya sebagai sumber makanan, bahan baku industri, mencegah banjir dan erosi, dan wisata alam. Indonesia merupakan negara dengan keberadaan hutan mangrove terluas di Asia Tenggara (Risnandar, 2018).

Menurut Badan Pusat Statistik, pada tahun 2015 luas hutan mangrove Provinsi Lampung adalah seluas 17.110 ha. Desa Hanura, Kecamatan Teluk Pandan, Lampung merupakan salah satu dari sekian banyak wilayah Lampung yang memiliki ekosistem mangrove. Perairan pantai Desa Hanura sebagian besar ditumbuhi hutan mangrove dan menjadikannya subur karena mendapat akumulasi bahan organik yang berasal dari aktivitas budidaya ikan

laut berupa sisa pakan yang mengendap dan seresah-seresah daun mangrove pada dasar hutan (Siegers, 2014).

Hutan mangrove memiliki aspek biologi yang dipengaruhi oleh pengambilan mineral oleh tumbuhan, interaksi dari seluruh biota dalam hutan mangrove, dekomposisi seresah dan pelapukan batang mangrove yang sudah mati.

Seresah dan batang mangrove yang sudah mati ini merupakan bahan yang telah mengalami dekomposisi oleh mikroorganisme dan menghasilkan mineral yang membantu menjaga kesuburan tanah sekitarnya (Asna, dkk., 2017). Analisis struktural dari polisakarida dalam dinding sel tanaman dikotil diketahui terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Hemiselulosa termasuk di dalamnya manan, xilan, galaktan, dan arabinan (Dhawan, 2007).

Hemiselulosa memiliki dua komponen utama yaitu hetero-1,4- β -D-xilan and hetero-1,4- β -D-manan (Sumardi, 2005). Kandungan hemiselulosa yang utama dari *hardwood* adalah xilan (15-30 %) sedangkan pada *softwood* adalah galaktoglukomanan yaitu sebesar 15-20 % (Ibrahim, 1998). Menurut Jørgensen, dkk. (2010), galaktomanan dapat ditemukan di tanaman legume sebagai penyusun biji dan pada bungkil inti kelapa sawit. Chairiyah, dkk. (2014) juga mengemukakan keberadaan glukomanan yaitu pada umbi porang (*Amorphophallus muelleri*). Penelitian Dai, dkk. (2018) menyatakan keberadaan hemiselulosa yang di dalamnya termasuk manan pada dinding sel bibit bakau *Avicennia marina* dan *Kandelia obovata*.

Mananase merupakan enzim yang dapat memecah manan menjadi manosa dan manooligosakarida. Aktivitas enzim mananase memiliki tingkatan yang

berbeda-beda tergantung dari sumbernya. Enzim ini dapat ditemukan dari berbagai sumber diantaranya hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Dalam penelitian, umumnya mananase diambil dari mikroorganisme karena dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak dan proses isolasinya juga lebih mudah dilakukan (Seftiono, 2017).

Kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi manan sangat membantu dalam bidang budidaya perikanan. Menurut penelitian Muliani, dkk. (2011), probiotik dapat diaplikasikan ke dalam media pemeliharaan udang, media air, tanah dasar, dan pakan. Pemberian tambahan pakan berupa enzim sudah banyak berkembang terutama jenis-jenis enzim pemecah serat yaitu enzim selulase, xilanase, dan mananase (Magdalena, dkk., 2013).

Beberapa mikroorganisme penghasil enzim mananase yang telah diketahui diantaranya *Bacillus subtilis* MAN-511 (Utami, dkk., 2016), *Bacillus subtilis* TJ-102 (Wang, dkk., 2013), *Bacillus pumilus* M27 (Adiguzel, dkk., 2015), dan *Bacillus cereus* N1 (El-Sharounya, dkk., 2015). Akan sangat baik jika bakteri-bakteri tersebut juga bersifat probiotik.

Menurut Ahmadi (2012), bakteri probiotik menghasilkan enzim yang mampu mengurai senyawa kompleks menjadi sederhana sehingga siap digunakan oleh hewan budidaya. Jenis bakteri probiotik sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Faktor lingkungan tempat bakteri tersebut diisolasi sangat mempengaruhi kemampuan hidupnya baik untuk tumbuh dan berkembang maupun untuk melaksanakan fungsinya sebagaimana yang diharapkan (Muliani, dkk., 2011). Penelitian ini bertujuan untuk

mendapatkan isolat unggul *Bacillus* sp. yang diisolasi dari hutan mangrove Hanura pendegradasi manan dan dapat berpotensi sebagai probiotik.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat *Bacillus* sp. unggul dengan kemampuan mananolitik yang tinggi, tidak bersifat patogen, tahan terhadap cekaman kadar garam, pH, ion logam, memiliki kemampuan produksi enzim yang tinggi dan berpotensi sebagai probiotik.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah mengenai isolat *Bacillus* sp. pendegradasi manan yang unggul, sehingga dapat digunakan sebagai probiotik dalam industri pakan udang.

D. Kerangka Pikir

Pada kawasan hutan mangrove terdapat banyak serasah dan batang tanaman mangrove yang sudah melapuk. Struktur dari polisakarida yang ada dalam dinding sel tanaman mangrove diketahui terdiri dari selulosa, lignin, dan hemiselulosa yang termasuk juga di dalamnya manan. Manan merupakan senyawa polisakarida yang keberadaannya cukup melimpah dalam bentuk glukomanan dan galaktomanan. Bahan organik tersebut merupakan sumber nutrisi bagi organisme dan mikroorganisme di sekitarnya, sehingga

mikroorganismenya harus memiliki enzim untuk mendegradasi bahan-bahan organik tersebut.

Pelapukan yang terjadi pada kawasan hutan mangrove dikarenakan adanya proses dekomposisi bahan organik oleh mikroorganismenya diantaranya *Bacillus*. Bakteri *Bacillus* merupakan salah satu bakteri endofit yang ada pada jaringan tanaman, sehingga bakteri ini dapat ditemukan pada semua vegetasi mangrove. Keragaman kemampuan fisiologis *Bacillus* sp. sangat luas, mulai dari psikrofilik sampai termofilik, dan asidofilik sampai alkalifilik, beberapa strain bersifat halofilik atau toleran terhadap garam. Sebagian spesies memiliki potensi menjadi patogen karena memiliki kemampuan menghemolisis sel darah merah. Kemampuan *Bacillus* dalam mendegradasi manan menjadi manosa sangat membantu dalam bidang budidaya perikanan. Selain kemampuannya dalam menguraikan senyawa organik, isolat *Bacillus* diharapkan dapat digunakan sebagai probiotik.

Enzim yang dapat mendegradasi manan yaitu mananase. Enzim mananase merupakan enzim induktif yang proses pembentukannya dipengaruhi oleh rangsangan substrat. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi enzim mananase diantaranya adalah jumlah substrat yang tersedia, waktu produksi, suhu dan pH optimum. Jumlah enzim yang diproduksi akan semakin banyak apabila substrat yang tersedia di lingkungan sangat melimpah. Waktu produksi enzim oleh mikroorganismenya sangat berperan, pada awal masa pertumbuhan belum banyak enzim yang diproduksi karena mikroorganismenya masih dalam fase adaptasi. Suhu dan pH sangat mempengaruhi metabolisme

pada mikroorganisme, perubahan suhu dan pH yang signifikan mengganggu pertumbuhan mikroorganisme sehingga tidak dapat memproduksi enzim dengan baik.

Isolat *Bacillus* sp. memiliki karakter yang berbeda satu dengan lainnya. Perbedaan ini dikarenakan mikroorganisme memiliki karakteristik kultural. Karakter ini digunakan sebagai dasar untuk memisahkan mikroorganisme ke dalam kelompok-kelompok taksonomi. Karakter-karakter yang berbeda dari setiap mikroorganisme muncul berdasarkan kemampuan gen untuk tumbuh di bawah kondisi terseleksi. Mikroorganisme yang tumbuh pada kondisi lingkungan tercemar logam akan memiliki ketahanan terhadap kadar logam tinggi di saat mungkin mikroorganisme lain bahkan tidak dapat tumbuh pada kondisi ini. Mikroorganisme halofilik dan mikroorganisme lain bila ditumbuhkan pada media dengan penambahan garam akan menghasilkan pertumbuhan yang berbeda, bakteri halofilik akan tumbuh lebih baik karena perbedaan genetik bakteri halofilik yang biasa tumbuh pada kondisi dengan kadar garam tinggi.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah didaptkannya isolat *Bacillus* sp. unggul yaitu memiliki kemampuan mannanolitik yang tinggi, tidak bersifat patogen, tahan terhadap cekaman kadar garam, pH, ion logam, memiliki kemampuan produksi enzim yang tinggi dan berpotensi sebagai probiotik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Hutan mangrove

Hutan bakau atau biasa disebut juga dengan ekosistem mangrove adalah ekosistem di daerah tropik dan subtropik yang berfungsi sebagai peredam badai dan gelombang laut, pelindung pantai dari abrasi dan erosi, serta tempat hidup dan mencari makan berbagai biota perairan payau. Ekosistem payau juga dapat dimanfaatkan sebagai tempat rekreasi, penghasil kayu, sumber pangan dan obat (Ghufran, 2012).

Menurut Kusuma (2009) hutan mangrove merupakan suatu tipe hutan yang tumbuh di daerah pasang surut (terutama di pantai yang terlindung, laguna, muara sungai) serta tanaman yang memiliki toleransi terhadap kadar garam. Ekosistem mangrove merupakan suatu sistem yang terdiri atas organisme maupun mikroorganisme yang saling berinteraksi dengan faktor lingkungan maupun sesamanya pada suatu habitat mangrove.

Masyarakat yang tinggal di ekosistem mangrove sudah sejak lama memanfaatkan kawasan ini. Tercatat sekitar 67 macam produk yang dapat dihasilkan oleh ekosistem hutan mangrove dan sebagian besar telah

dimanfaatkan oleh masyarakat, misalnya untuk pertanian (pupuk hijau) dan chips untuk pabrik kertas dan lain-lain (Kustanti, 2011).

Produktivitas ekosistem mangrove yang sangat tinggi disebabkan oleh sumbangan serasah. Serasah mangrove yang jatuh menjadi sumber nutrisi bagi biota air dan menentukan produktivitas perikanan laut (Zamroni dan Rohyani, 2008). Penyebab kesuburan pada ekosistem mangrove salah satunya adalah serasah yang jatuh dan mengalami proses dekomposisi. Hasil dekomposisi ini akan memberikan sumbangan bahan organik yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tumbuh-tumbuhan, ikan, udang, kepiting dan mikroorganisme di hutan mangrove. Salah satu mikroorganisme yang berperan dalam proses dekomposisi adalah bakteri. Bakteri *Bacillus* merupakan salah satu bakteri endofit yang berada pada jaringan tanaman, sehingga bakteri ini dapat ditemukan pada semua vegetasi mangrove (Yulma, 2017).

Penelitian Shome, dkk., (1995) yang mengisolasi bakteri dari sedimen pada mangrove Andaman Selatan, menemukan 38 bakteri dan isolat bakteri yang paling dominan adalah *Bacillus* spp. Yaitu hingga 50 %. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Yahya, dkk., (2014) di perairan mangrove Pesisir Kraton Pasuruan yang mendapatkan bakteri *Bacillus* sp. yang paling dominan berperan dalam proses dekomposisi serasah mangrove. Penelitian Yulma, dkk., (2017) menemukan isolat bakteri genus *Bacillus* pada tanaman mangrove *Bruguiera parviflora*, *Rhizophora apiculata*, dan *Avicennia alba*.

B. *Bacillus* sp.

Menurut Bergey (2009), *Bacillus* sp. merupakan bakteri berbentuk batang, lurus atau sedikit melengkung, memiliki spora yang tahan pada kondisi buruk, Gram positif, atau Gram positif hanya pada tahap awal pertumbuhan, Gram negatif, aerob atau anaerob fakultatif. Sebagian besar spesies akan tumbuh dengan baik pada media seperti Nutrient Agar (NA) dan agar darah. Morfologi dan ukuran koloni *Bacillus* sp. sangat bervariasi. Keragaman kemampuan fisiologis *Bacillus* sp. sangat luas, mulai dari psikrofilik sampai termofilik, dan asidofilik sampai alkalifilik, beberapa strain toleran terhadap garam dan beberapa halofilik. Sebagian besar diisolasi dari tanah atau dari lingkungan yang tercemar, air, dan tanaman. Spora tahan terhadap panas, radiasi, dan disinfektan. Sebagian spesies memiliki potensi menjadi patogen dan berasosiasi dengan penyakit pada manusia atau hewan.

Bakteri *Bacillus* merupakan salah satu bakteri endofit yang ada pada jaringan tanaman, sehingga bakteri ini dapat ditemukan pada semua vegetasi mangrove. Beberapa penelitian yang diketahui menemukan *Bacillus* pada kawasan hutan mangrove diantaranya Yulma, dkk. (2017) menemukan *Bacillus* sp. pada *Bruguiera parviflora*, *Rhizophora apiculata*, *Sonneratia alba*, *Avicennia alba*. Yahya, dkk. (2014), mengisolasi *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus megaterium* di perairan mangrove Pesisir Kraton Pasuruan.

Menurut Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd edition Vol. 3, klasifikasi *Bacillus* sp. adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Order : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Species : *Bacillus* sp.



Gambar 1. *Bacillus cereus* (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology)

C. Manan

Manan merupakan bagian dari hemiselulosa pada dinding sel tanaman.

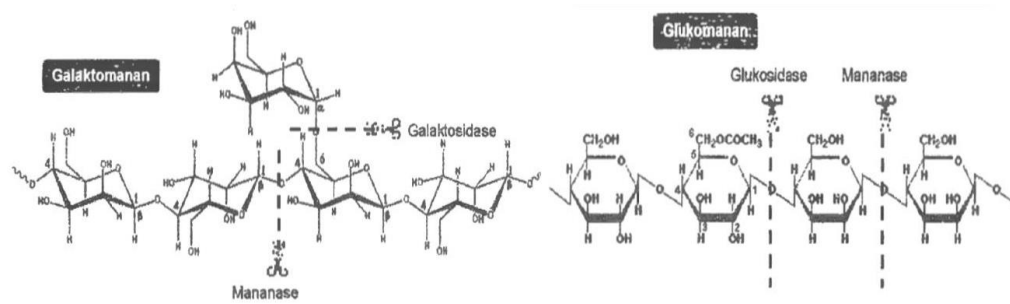
Hemiselulosa merupakan polisakarida yang banyak terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi. Hetero-1,4-D-manan dan hetero-1,4-D-xilan merupakan dua

jenis hemiselulosa yang sering digunakan dalam dunia industri (Hilge, dkk., 1998). Manan dapat diklasifikasikan menjadi 4 subfamili yaitu manan, glukomanan, galaktomanan, galaktoglukomanan (Petkowiez, 2001). Menurut Sigres dan Sutrisno (2015), manan dapat ditemukan pada endosperma kelapa sawit, kelapa *locust bean gum* (*Ceratonia siliqua*), biji kopi dan akar *Amorphophallus konjak*). Manan dapat terhidrolisis dan menghasilkan manooligosakarida dan manosa.

Manosa (polimer manan) yang diselingi galaktosa disebut juga dengan galaktomanan. Galaktomanan dapat ditemukan pada tanaman legume sebagai penyusun biji dan pada bungkil inti kelapa sawit (Jorgensen, 2010). Hidrolisis manan oleh enzim mananase menjadi manooligosakarida yang sering digunakan adalah mannotriosa, mannobiosa, dan manosa (Kensch, 2008).

D. Enzim Mananase

Enzim mananase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis substrat manan. Enzim ini menghidrolisis ikatan β -1,4 (molekul polisakarida) antar manosa. Proses hidrolisis ini mengubah heteromanan yang melimpah menjadi manooligosakarida serta manosa, glukosa, galaktosa (Dhawan dan Kaur, 2007). Menurut de Vries (2003), Endo- β -1,4-D-mananase menghidrolisis secara acak ikatan β -1,4-manosidik dalam rantai utama polimer manan sehingga menghasilkan manooligosakarida linier dan bercabang dengan panjang yang bermacam-macam.



Gambar 2. Hidrolisis manan oleh enzim mananase (Sigres dan Sutrisno, 2015)

Enzim mananase dihasilkan oleh beberapa tanaman, moluska, jamur, dan bakteri. Berdasarkan pembentukannya enzim mananase digolongkan ke dalam enzim induktif karena produksi dan jumlahnya dipengaruhi oleh substrat yang terkandung pada lingkungan hidup bakteri (Kurnia, 2010). Bakteri lebih dipilih karena proses produksinya yang murah dan cepat, serta dapat dengan mudah dimodifikasi. Karena penerapannya yang efisien, enzim mananase biasa diaplikasikan pada industri pangan, pakan, kertas, farmasi, bahkan sebagai perlakuan awal pada produksi *biofuel* (Wyman, dkk., 2005). Beberapa mikroorganisme yang dapat menghasilkan mananase diantaranya *Bacillus subtilis* MAN-511 (Utami, dkk., 2016), *Bacillus subtilis* TJ-102 (Wang, dkk., 2013), *Bacillus pumilus* M27 (Adiguzel, dkk., 2015), dan *Bacillus cereus* NI (El-Sharounya, dkk., 2015).

E. Bakteri Mananolitik

Penggunaan enzim untuk proses hidrolisis pada dunia 12ndustry terus meningkat karena lebih efisien. Potensi bakteri sebagai produsen enzim mananase lebih sering dimanfaatkan karena proses produksinya yang murah

dan cepat, serta dapat dengan mudah dimodifikasi. Bakteri mananolitik dapat diperoleh dari daerah-daerah yang mengandung substrat manan. Isolasi bakteri mananolitik dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media yang mengandung substrat manan di dalamnya. Adanya zona bening pada media agar yang mengandung manan mengindikasikan terjadinya proses hidrolisis substrat manan oleh enzim mananase yang dihasilkan isolat bakteri (Sigres dan Sutrisno, 2015). Zona bening di sekitar koloni bakteri dapat diamati dengan penambahan congo red karena congo red akan berikatan dengan polisakarida manan yang memiliki ikatan β -1,4-D-manopiranosil yang terdapat dalam media agar sehingga mengakibatkan media akan berwarna merah. Hasil hidrolisis enzim yang ada pada sekitar bakteri berupa manooligosakarida yang tidak memiliki ikatan β -1,4-D-manopiranosil akan berwarna bening (Sumardi, 2007).

F. Probiotik

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan dengan tujuan memperbaiki kesehatan dan perkembangan mikroba dalam saluran pencernaan (Natsir, dkk., 2010). Mikroba probiotik memiliki peranan positif pada tubuh inangnya. Menurut Suciati, dkk. (2016), penambahan probiotik ke dalam pakan merupakan suatu upaya untuk meningkatkan fungsi fisiologis dan kemampuan mencerna pada hewan budidaya. Probiotik memiliki prinsip kerja dengan memanfaatkan kemampuan mikroba dalam meningkatkan penyerapan pada saluran pencernaan. Probiotik tidak hanya berperan menjaga keseimbangan

ekosistem dalam saluran pencernaan tetapi juga dapat menahan aktifitas mikroba pengurai protein. Penurunan aktivitas mikroba pengurai protein dapat menyebabkan kadar ammonia pada feses menurun (Sitohang, dkk., 2018).

Salah satu mekanisme kerja dari probiotik adalah dengan menghasilkan asam sehingga dapat menurunkan pH pada saluran pencernaan hewan budidaya. Penggunaan probiotik dalam bidang budidaya perikanan memiliki tujuan untuk menjaga keseimbangan mikroba dan mengendalikan patogen dalam saluran pencernaan (Parameswari, dkk., 2013). Menurut Anggriani, dkk. (2012), Salah satu kandidat probiotik adalah *Bacillus* sp. Bakteri ini merupakan bakteri yang dapat menguraikan serat-serat kasar pada pakan dengan reaksi enzimatisnya. Penelitian Sitohang, dkk (2018) menemukan isolat *Bacillus badius* dan *Bacillus coagulans* sebagai kandidat potensial probiotik yang diperoleh dari saluran pencernaan ikan patin. Isolat tersebut terbukti mampu menghambat pertumbuhan patogen *Aeromonas hydrophila*.

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan November 2018 sampai April 2019.

B. Bahan dan Alat

Adapun bahan yang digunakan adalah sampel tanah dari hutan mangrove Hanura, media cair *sea water complete* (SWC) dengan komposisi: *peptone* 5 gram, *yeast extract* 1 gram, gliserol 3 ml, air laut 750 ml, *aquadest* 250 ml; agar, *aquadest*, *congo red*, NaCl, *locust bean gum*, *buffer phospat* pH 7, pereaksi DNS, alkohol 70 %, es pack, spritus, *aluminium foil*, FeCl₃, AlCl₃, PbCl₂, CuCl₂, darah domba.

Alat yang digunakan adalah *beaker glass*, *hotplate magnetic stirrer*, erlenmeyer, sentrifuge, autoklaf, cawan petri, ose bulat, bunsen, neraca analitik, *waterbath*, *orbital shaker*, spektrofotometer, inkubator, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, oven, gelas ukur, *stopwatch*.

C. Metodologi Penelitian

Beberapa isolat *Bacillus* yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang diisolasi dari kawasan Hutan Mangrove Hanura. Kemampuan mananolitik *Bacillus* sp. ditentukan dengan menumbuhkan isolat pada media agar yang mengandung 0,5% *locust bean gum*. Kemampuan mananolitik ditandai oleh zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni. Patogenisitas isolat *Bacillus* sp. diketahui melalui uji hemolisis pada media SWC Agar Darah. Sifat hemolisis ditunjukkan dengan zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni akibat sel darah yang mengalami lisis. Ketahanan terhadap cekaman pH ditetapkan berdasarkan kemampuan hidup isolat pada media padat dengan variasi pH 4, 7, dan 10. Ketahanan isolat terhadap cekaman pH ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni. Ketahanan terhadap kadar garam diamati berdasarkan kemampuan isolat untuk tumbuh pada media dengan kadar garam 0%, 3%, dan 6%. Kemampuan isolat untuk tumbuh pada cekaman garam ditandai dengan pertumbuhan koloni. Pengaruh ion logam terhadap produksi enzim mananase diketahui melalui isolat *Bacillus* sp. ditumbuhkan pada media padat dengan penambahan substrat dan logam Fe, Pb, Cu, dan Al. Kemampuan produksi mananase ditetapkan berdasarkan lama produksi dengan aktivitas enzim tertinggi. Aktivitas enzim diketahui melalui kemampuannya mendegradasi manan menjadi manosa dengan metode DNS.

1. Persiapan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sea Water Complete* (SWC) dalam 1 liter dengan komposisi sebagai berikut: *peptone* 5 gram, *yeast extract* 1 gram, gliserol 3 ml, air laut 750 ml, *aquadest* 250 ml.

Media *Sea Water Complete* (SWC) Agar dilakukan penambahan agar sebanyak 15 gram. Semua bahan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dipanaskan sambil dihomogenkan dengan *hotplate magnetic stirrer*.

Kemudian media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan disterilkan dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Media disimpan pada kondisi dingin sampai waktu akan digunakan.

2. Seleksi Bakteri Mananolitik

Isolat bakteri yang berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Lampung ditumbuhkan pada medium SWC Agar dengan penambahan *locust bean gum* sebanyak 0.5 %. Setelah inkubasi selama 24 jam, koloni diwarnai dengan 1 % congo red selama 15 menit, kemudian dicuci kembali menggunakan 1 M NaCl. Pengamatan yang dilakukan meliputi morfologi koloni dan sel serta indeks mananolitiknya. Morfologi koloni meliputi bentuk, warna, elevasi, dan margin. Morfologi sel diketahui dengan melakukan pewarnaan Gram. Indeks mananolitik ditentukan melalui perbandingan antara luas zona jernih yang terbentuk dan luas koloni bakteri sesuai dengan rumus :

$$\text{Indeks mananolitik} = \frac{\text{Luas zona jernih}}{\text{Luas koloni}}$$

3. Karakterisasi Isolat *Bacillus* sp.

a. Uji Cekaman Terhadap Kadar Garam

Isolat *Bacillus* diambil menggunakan ose kemudian diinokulasikan pada media SWC Agar yang telah ditambahkan garam dengan konsentrasi 0 %, 3 %, dan 6 %. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Hasil yang diamati adalah ukuran koloni masing-masing isolat pada media.

b. Uji Cekaman Terhadap pH

Isolat *Bacillus* diambil menggunakan ose dan diinokulasikan pada media SWC Agar dengan pH 4, 7, dan 10. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan diamati ukuran koloni dari masing-masing cawan.

c. Uji Patogenesisitas

Kemampuan bakteri dalam menghemolisis sel darah merupakan salah satu penentu patogenesisitas pada bakteri. Isolat bakteri mananolitik diambil menggunakan ose dan diinokulasikan ke media SWC agar darah. Kemudian inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Isolat yang memiliki kemampuan hemolisis ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni.

d. Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Bakteri dalam Menghasilkan Enzim Mananase

Isolat terpilih yang tidak menunjukkan kemampuan hemolisis pada uji sebelumnya diinokulasikan ke dalam media SWC agar yang berisi

substrat dan ion logam Fe^{3+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+} dalam bentuk garam FeCl_3 , PbCl_2 , CuCl_2 , AlCl_3 . Setelah masa inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, dilakukan pewarnaan dengan 1 % congo red dan dibilas menggunakan NaCl untuk pengamatan zona jernih. Indeks mananolitik ditentukan dengan rumus:

$$\text{Indeks mananolitik} = \frac{\text{Diameter zona jernih} - \text{diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

4. Produksi dan Penentuan Lama Waktu Inkubasi terhadap Produksi Enzim

Produksi enzim mananase diawali dengan peremajaan isolat *Bacillus* sp. pada media miring SWC Agar dan dikulturkan selama 24 jam pada media SWC dengan penambahan *locust bean gum* sebagai media starter. Sebanyak 10 % media starter diinokulasikan ke dalam media cair SWC 45 ml yang telah ditambahkan 0,5 % *locust bean gum*. Kemudian kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 24, 48, 72, 96, 120, 144, dan 168 jam. Setelah itu kultur disentrifuge dengan kecepatan 8500 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim mananase. Aktivitas enzim ditentukan melalui besarnya gula reduksi yang terbentuk menggunakan metode DNS (Tabel 1) dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 540 nm.

Tabel 1. Uji Aktivitas Enzim

Bahan	Kontrol (ml)	Uji (ml)
Enzim	-	0,75
0,5 % <i>locust bean gum</i> dalam buffer fosfat pH 7	0,75	0,75
Diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. (Semua perlakuan dilakukan di dalam es kecuali saat inkubasi)		
Perekasi DNS	1,5	1,5
Enzim	0,75	-
Rebus dalam air mendidih selama 15 menit. Didinginkan di air dingin dan dianalisis dengan spektrofotometer pada λ 540 nm		

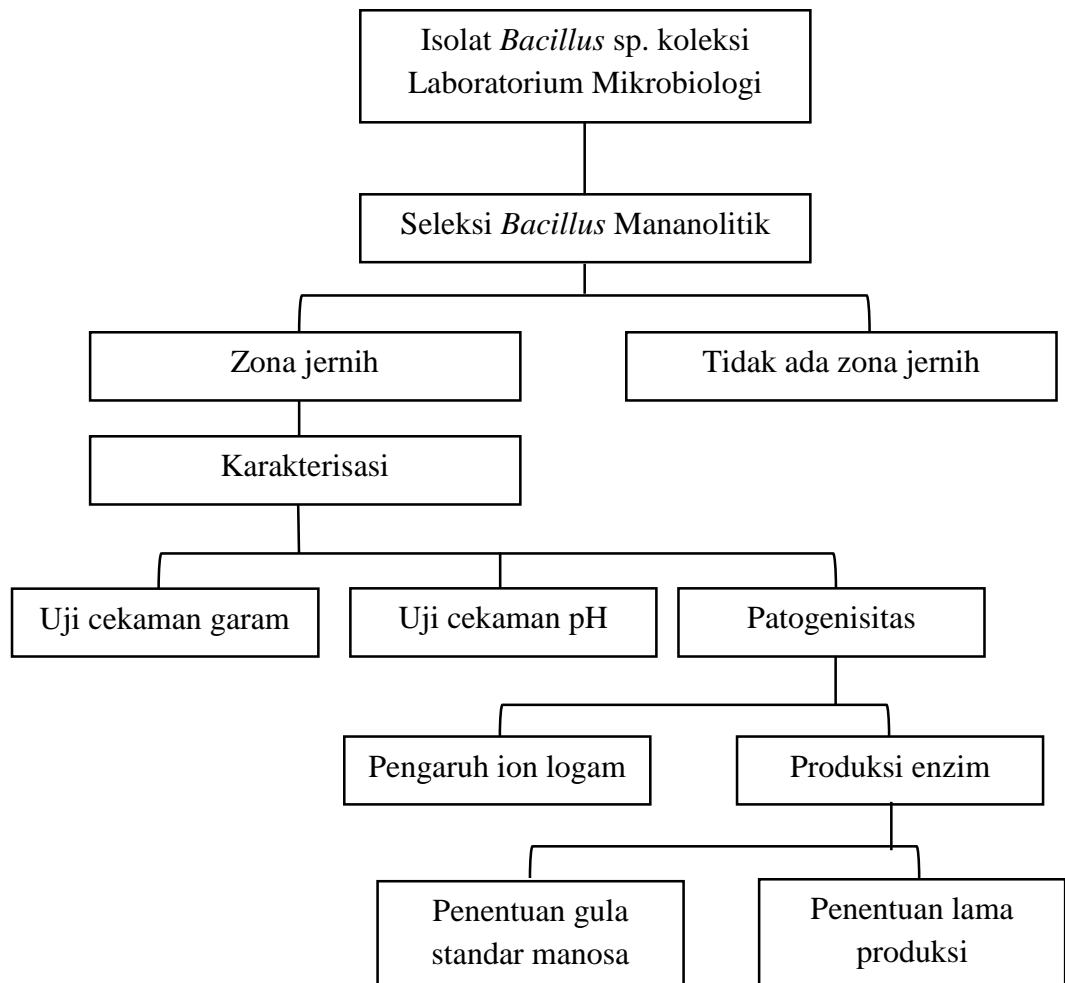
5. Penentuan Gula Standar Manosa

Sebagai larutan gula standar digunakan deret manosa pada konsentrasi 0 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$, 400 $\mu\text{g/mL}$, 600 $\mu\text{g/mL}$, 800 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$, 1200 $\mu\text{g/mL}$, 1400 $\mu\text{g/mL}$, 1600 $\mu\text{g/mL}$, 1800 $\mu\text{g/mL}$, 2000 $\mu\text{g/mL}$.

Penentuan gula standar dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Penentuan Larutan Standar

Bahan	Manosa ($\mu\text{g/mL}$)										
	0	200	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
Gula Standar (ml)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Larutan buffer (ml)	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
DNS	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan di air dingin selama 20 menit, diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm											

D. Diagram Alir

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari total 30 isolat yang diseleksi, didapatkan 9 isolat mananolitik dengan indeks tertinggi sebesar 10,74 yang dimiliki oleh isolat IBK₃. Seluruh isolat mananolitik diketahui tahan terhadap kadar garam 0 %, 3 %, maupun 6 %. Pada uji cekaman pH, isolat mananolitik tumbuh baik pada pH 7 dan 10 tetapi tidak tumbuh pada pH 4. Berdasarkan uji patogenisitas diketahui seluruh isolat positif menghemolisis sel darah kecuali isolat IBK₃ dan ID₂K₁. Logam FeCl₃ mampu menaikkan aktivitas enzimatis sebesar 11,12 %. Aktivitas enzim tertinggi isolat IBK₃ ada pada waktu produksi 96 jam yaitu sebesar 0,05 U_{mL}⁻¹.

B. Saran

Saran yang dapat direkomendasikan untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan pengujian lebih lanjut seperti pengujian sifat biokimia isolat bakteri untuk mengetahui karakter lebih lanjut sehingga akan didapatkan kandidat probiotik yang lebih unggul.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiguzel, A., H. Nadaroglu dan G. Adiguzel. 2015. Purification and characterization of β -mannanase from *Bacillus pumilus* (M27) and its applications in some fruit juices. *Journal Food Sci. Technol.* 52: 5292-5298.
- Ahmadi, H., Iskandar, dan N. Kurniawati. 2012. Pemberian Probiotik dalam Pakan terhadap Pertumbuhan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*) pada Pendederan II. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 3(4):99-107.
- Anggriani, R., Iskandar, dan A. Taofiqurohman. 2012. Efektivitas Penambahan *Bacillus* sp. Hasil Isolasi dari Saluran Pencernaan Ikan Patin pada Pakan Komersial Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan.* 3(3):75-83.
- Asna P.M., F.S.A. Nugraheni, U.S. Hastuti. 2017. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo Balikpapan, Kalimantan Timur*. Prosiding Seminar Nasional III Tahun 2017.
- Badan Pusat Statistik (BPS).
<https://lampung.bps.go.id/dynamicstable/2017/08/23/510/luas-dan-kondisihutan-mangrove-menurut-provinsilampung-.html>, diakses pada 06 Mei 2019.
- Baehaki, A., dkk. 2005. Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 8(2):60-72.
- Bergey, D.H., dan D.R. Boone. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol.3, Ed.2, Springer Science-Business Media. New York.
- Chairiyah, N., N. Harijati, dan R. Mastuti. 2014. Pengaruh Waktu Panen Terhadap Kandungan Glukomannan Pada Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri* blume) Periode Tumbuh Ketiga. *Research Journal of Life Science* 1(1):37-42.

- Dai, M., dkk. 2018. Exogenous phosphorus enhances cadmium tolerance by affecting cell wall polysaccharides in two mangrove seedlings *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh and *Kandelia obovata* (S., L.) Yong differing in cadmium accumulation. *Marine Pollution Bulletin* 126:86-92.
- de Vries R.P. 2003. Regulation of *Aspergillus* genes encoding plant cell wall polysaccharide-degrading enzymes; relevance for industrial production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61: 10-20
- Dhawan. S. Jagdeep Kaur. 2007. Microbial Mannanases: An Overview of Production and Applications. *Critical Reviews in Biotechnology.*, 27:197–216.
- El-Sharounya, E.E., N.M.K. El-Toukhyb, N.A. El-Sersyc dan A.A. El-Aal El-Gayara. 2015. Optimization and purification of mannanase produced by an alkaliphilic-thermotolerant *Bacillus cereus* N1 isolated from Bani Salama Lake in Wadi El-Natron. *Biotechnol. Equip.*, 29: 315-323.
- Ghufran, M. dan K.M. Kordi. 2012. *Ekosistem Mangrove: potensi, fungsi, dan pengelolaan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Hamtini. 2014. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. dari Ikan Lele (*Clarias* sp.) serta Potensinya sebagai Probiotik. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hilge M, S.M. Gloor., dan W. Rypniewski. 1998. High Resolution Native and Complex Structures of Thermostable Mananase from *Thermomonospora fusca*-Substrat Specificity in Glycosyl Hydrolase Family 5. *Research Article*, Netherlands
- Ibrahim, M. 1998. *Clean Fractionation of Biomass - Steam Explosion and Extraction*. Faculty of The Virginia Polytechnic Institute and State University. United States.
- Irianto, A. dan P.M Hendrati. 2003. Keragaman Hayati Bakteri Heterotrofik Aerobik Perairan Pantai Baron, Gunung Kidul, Yogyakarta. *Biodiversitas* 4(2):80-82.
- Jiang, Z., W. Yun, L. Daoyi., L. Lite., C. Pingping, dan K. Isao. 2006. High-level Production, Purification and Characterization of a Thermostable β -Mannanase from the Newly Isolated *Bacillus subtilis* WY34. *Journal of Elsevier Carbohydrate Polymers* 66:88-96.
- Jørgensen H, A. Sanadi, C. Felby, N. Lange, M. Fischer, dan S. Ernst. 2010. Production of ethanol and feed by high dry matter hydrolysis and fermentation of palm Kernel Press Cake. *Appl Biochem Biotechnol* 161(1–8):318–332.

- Kensch O. 2008. *Mananase engineering for fibre degradation*. Speciality Chemicals Magazine.
- Kurnia, D.R.D. 2010. Studi uji aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus niger* sebagai biokatalisi pada proses gliserolisis untuk menghasilkan monoasilgliserol. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Kustanti, A. 2011. *Manajemen Hutan Mangrove*. IPB Press. Bogor.
- Kusuma, C. 2009. *Pengelolaan Sistem Mangrove Secara Terpadu*. Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. IPB. Bogor.
- Lehninger, A.L. 1997. *Dasar-dasar Biokimia*. Erlangga. Jakarta.
- Le Mare'chal, C., N. Seyffert, J. Jardin, D. Hernandez, G. Jan, L. Rault, V. Azevedo, P. Francois, J. Schrenzel, M. van de Guchte, S. Even, N. Berkova, R. Thiery, J.R. Fitzgerald, E. Vautor, dan Y. Le Loir. 2011. Molecular basis of virulence in *Staphylococcus aureus* mastitis. *PLoS One* 6: e27354
- Magdalena, S., G.H. Natadiputri, F. Nailufar, dan T. Purwadaria. 2013. Pemanfaatan Produk Alami sebagai Pakan Fungsional. *WARTAZOA* 23(1):31-40.
- Mairizal, Y. Marlida, Mirzah, dan F. Manin. 2018. Isolation and Characterization os Mannanase-producing *Bacillus cereus* Isolated from the Hindgut of Termites. *Pakistan Journal of Nutrition* 17(3) : 116-123.
- Moat, A.G., J.W. Foster dan M.P.Spector. 2002. *Microbial Physiologi*. Wiley-Liss, Inc. New York.
- Muliani, Nyrbaya dan M.I Madeali. 2011. Teknik Aplikasi Bakteri Probiotik pada Pemeliharaan Udang Windu (*Panaeus monodon*) di Laboratorium. *Jurnal Ris. Akuakultur* 6(1) : 81-92.
- Natsir, M.H., O. Sjojfan, K. Umam, A. Manab, dan E. Widodo. 2010. Effects of liquid and encapsulated lactic acid in broiler diets on performances, intestinal characteristics and intestinal microflora. *The Journal Of Poultry Science* 47(3), 240-243.
- Parameswari, W., A. D. Sasanti dan Muslim. 2013. Populasi Bakteri, Histologi, Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Dipelihara dalam Media dengan Penambahan Probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 1(1) :76-89.
- Petkowiez C.L.O. 2001. Linier Mananas in the Endosperm of *Schizolobium amazonicum*. *Carbohydr Polym* 44:107-112

- Risnandar, C. 2018. "Jurnal Bumi: Hutan Mangrove" (online).
<https://jurnalbumi.com/knol/hutan-mangrove/>, diakses pada 29 Mei 2018
- Seftiono, H. 2008. Pemurnian dan Karakterisasi Mananase dari *Streptacidiphilus luteoalbus*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Seftiono, H. 2017. Penentuan Aktivitas Enzim Mananase dari Berbagai Mikroorganisme di Indonesia dan Perannya dalam Bidang Pangan: Kajian Pustaka. *Jurnal Agrotek.*, 11(1): 14-20.
- Shome, R, B.R. Shome, A.B Mandal dan A.K Bandhopadyay. 1995. Bacteri Flara in Mangrove of Andaman: Part I: Isolation, Identification and Antibiogram Studies. *Ind. J. Mar. Sci.*, 24:97-98.
- Siegers, W. 2014. Kondisi Ekologi Makrobentos pada Ekosistem Hutan Mangrove dan Laut Desa Hanura Kecamatan Padang Cermin Provinsi Lampung. *The Journal of Fisheries Development* 1(1): 27-43.
- Sigres, D.P., dan Sutrisno, A. 2015. Enzim Mananase dan Aplikasi di Bidang Industri: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.*, 3(3): 899-908.
- Sitohang, S., D. Suryanto, dan Y. Soemaryono. 2018. Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*). *Jurnal Aquacoastmarine* 6(2).
- Suciati, P., W. Tjahjaningsih, E.D. Masithah, dan H. Pramono. 2016. Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla* spp.) Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 8(2):94-108.
- Sumardi. 2005. Optimasi Produksi Enzim β -mananase Ekstraseluler dari Bakteri *Geobacillus Stearothermophilus* L-07. *Jurnal Sains Tek.* 11(2): 66-71.
- Sumardi. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Mananase Ekstraseluler dari *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Sains MIPA* 13(1):43-48.
- Sunaryanto, R., E. Martius, dan B. Marwoto. 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia* 1(1): 9-14.
- Utami, D.R., A. Sutrisno, dan J. Kusnadi. 2016. Isolation, Purification and Characterization of Mannanase from *Bacillus subtilis* MAN-511. *International Journal of Science Technology & Engineering (IJSTE)* 2(11):83-87.
- Wang, M., S. You, S. Zhang, W. Qi dan Z. Liu. 2013. Purification, characterization and production of β -mannanase from *Bacillus subtilis* TJ-

102 and its application in gluco-mannooligosaccharides preparation. *Eur. Food Res. Technol.* 237:399-408.

- Wyman C.E, S.R. Decker., M.E. Himmel., J.W. Brady., C.E. Skopec., dan L. Viikari. 2005. *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. CRC Press Boca Raton, FL. 2005:953-1033
- Yahya, N. Happy, R. Yenny, dan Soemarno. 2014. Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan* 19 (1): 35-42.
- Yulinery, T., E. Yulianto, dan N. Nurhidayat. 2006. Uji Fisiologis Probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang Telah Dienkapsulasi dengan Menggunakan Spray Dryer untuk Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Biodiversitas* 7(2):118-122.
- Yulma, B. Ihsan, Sunarti, E. Malasari., N. Wahyuni, dan Mursyban. 2017. Identifikasi Bakteri pada Serasah Daun Mangrove yang Terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology.* 2:28-33.
- Zamroni, Y., dan I. Rohyani. 2008. Produksi Serasah Hutan Mangrove di Perairan Pantai Teluk Sepi, Lombok Barat. *Biodiversitas.* 9(4):284-28.