

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM
SELULASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA**

(Skripsi)

Oleh

Cahya Intan Listiyorini



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

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM SELULASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA

Oleh

Cahya Intan Listiyorini

Pada ekosistem mangrove, terdapat bakteri selulolitik yang berperan melakukan dekomposisi selulosa di alam. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri selulolitik dari hutan mangrove desa Hanura. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan media Sea Water Complete Agar (SWCA) yang ditambahkan Carboxy Methyl Cellulose 0,5 % (CMC). Karakterisasi isolat meliputi morfologi koloni dan sel, uji cekaman pH dan NaCl, uji patogenisitas, serta uji pengaruh logam terhadap aktivitas selulolitik. Hasil penelitian diperoleh 38 isolat bakteri. 16 isolat diantaranya merupakan bakteri selulolitik dan mampu tumbuh dengan baik pada media cekaman pH (7 dan 10) dan NaCl (0 %, 3 % dan 6 %). Isolat IBK3, ID2K1 dan IA2K3 merupakan bakteri non patogen dengan sifat Gram positif berbentuk

batang IBK3 memiliki indeks selulolitik tertinggi yaitu 7,36 serta tumbuh dengan baik pada penambahan logam Fe, Al, Pb dan Cu.

Kata Kunci: *Bacillus* sp., bakteri selulolitik, mangrove, probiotik, selulase.

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM
SELULASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA**

Oleh

Cahya Intan Listiyorini

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 Skripsi : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. PENGHASIL ENZIM SELULASE DARI HUTAN MANGROVE HANURA**

Nama Mahasiswa : **Cahya Intan Qistiyorini**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1517021006

Jurusan/Program Studi : Biologi/S1 Biologi

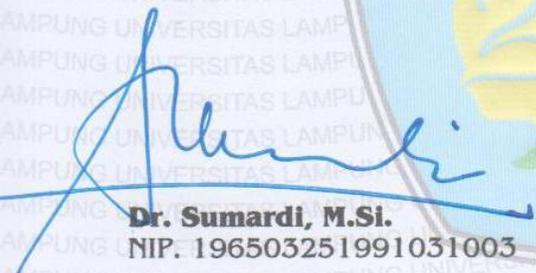
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

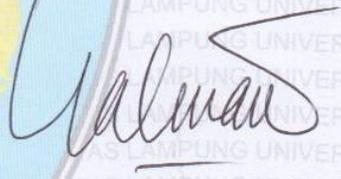
Menyetujui,

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2


Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 196503251991031003


Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP. 196104181987031001

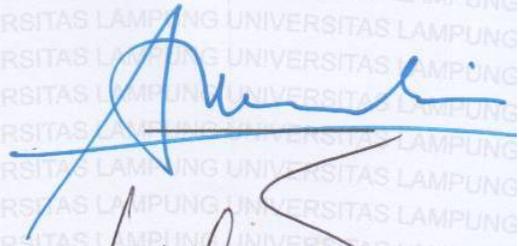
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 196101121991031002

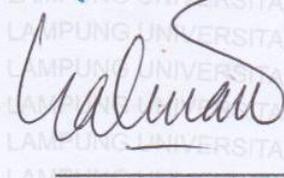
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

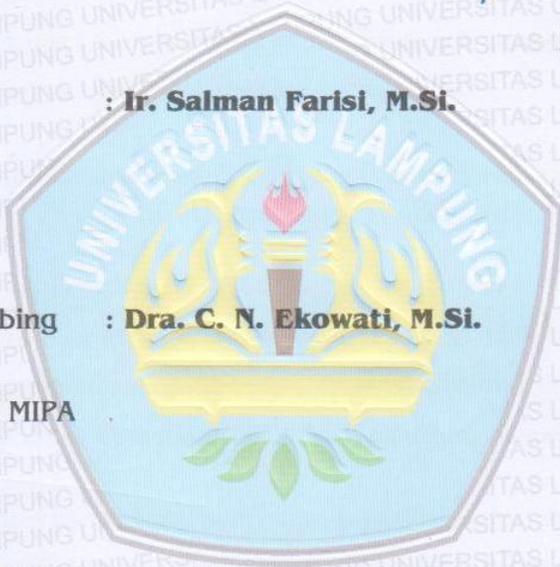
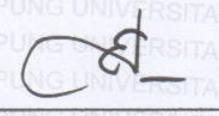
Ketua : Dr. Sumardi, M.Si.



Sekretaris : Ir. Salman Farisi, M.Si.



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



2. Dekan Fakultas MIPA



Drs. Suratman, M.Sc.
NIP/19640604199031002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 27 Juni 2019

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Cahya Intan Listiyorini
NPM : 1517021006

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

“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri *Bacillus* sp. Penghasil Enzim Selulase dari Hutan Mangrove Hanura”

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, 23 Juli 2019



g menyatakan,

Cahya Intan Listiyorini
NPM. 1517021006

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada tanggal 27 Februari 1998 di Bandar Lampung, Provinsi Lampung sebagai anak pertama dari tiga bersaudara keluarga Suyono dan Siti Samsiyah. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman kanak-kanak di TK Melati Puspa, Tanjung Senang,

Bandar Lampung pada tahun 2002, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 3 Perumnas Way Kandis hingga tahun 2006 dan dilanjutkan di SDN 1 Way kandis hingga lulus pada tahun 2009. Pada tahun 2012 penulis menyelesaikan pendidikan sekolah menengah pertama di SMPN 21 Bandar Lampung kemudian melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMA AL-HUDA, Lampung Selatan hingga tahun 2015.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) pada tahun 2015. Sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains, penulis melakukan Penelitian

dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Enzim Selulase dari Hutan Mangrove Hanura”**.

Penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO).

Penulis menjadi anggota Bidang Sains dan Teknologi periode 2016. Penulis menjabat sebagai sekretaris Bidang Keilmuan dan Ekspedisi periode 2017.

Penulis pernah menjadi asisten praktikum mikrobiologi umum, mikologi dan bioteknologi. Pada bulan Januari-Maret tahun 2018, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Penumangan Lama, Kecamatan Tulang bawang Tengah, Kabupaten Tulang Bawang Barat dan melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Bandar Lampung pada bulan Juli-Agustus 2018 dengan judul **“Uji Cemar Bakteri Patogen pada Sampel Pangan Di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Di Bandar Lampung”**.

Persembahan

Alhamdulillahilahirabil'alamin

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang.

Puji syukur kepada Allah atas segala rahmat, nikmat dan karunia-Nya.

*“Kupersembahkan tulisan ini teruntuk bapak, ibu dan kedua adik tercinta,
terimakasih untuk segala cinta, kasih sayang, pengorbanan serta do'a yang
selalu menyertai”*

“Untuk semua keluarga”

*“Para guru dan dosen, yang telah membimbing dengan penuh kesabaran dan
ketulusan”*

“Untuk semua orang yang telah mendukung penulis, terimakasih banyak”

“Almamater Tercinta”

Motto

Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sebelum kaum itu sendiri yang mengubah apa yang ada pada diri mereka

(Ar-Ra'd: 11)

Impian ada di tengah peluh bagai bunga yang mekar secara perlahan, usaha berat itu tak akan mengkhianati.

(JKT 48-Shonichi)

Lakukan yang terbaik, sehingga aku tak akan menyalahkan diriku sendiri atas segalanya.

(Magdalena Neuner)

Untuk hidup kebahagiaan sangat diperlukan. Cukup dengan kebahagiaan yang sederhana aku sudah dapat hidup.

(Penulis)

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada kehadiran Allah SWT yang mana berkat rahmat dan karunian-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Penghasil Enzim Selulase dari Hutan Mangrove Hanura”**. Skripsi ini salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian Bapak Dr. Sumardi, M.Si. tahun 2019

Selama menjalankan penelitian serta penyelesaian skripsi ini, berbagai pihak yang membantu penulis. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku bapak (Suyono) dan ibu (Siti Samsiyah) tercinta atas kasih sayang, cinta, nasihat, dukungan serta do'a yang selalu dipanjatkan kepada Allah SWT.
2. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku pembimbing 1 yang telah sabar dalam membimbing, memberikan arahan, bantuan serta ilmu selama proses penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

3. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku pembimbing 2 yang telah sabar dalam membimbing, memberikan arahan, bantuan serta ilmu hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Ibu Dra. C.N Ekowati, M.Si. selaku penguji yang telah memberikan kritik, saran serta ilmu hingga terselesaikannya skripsi ini, dan selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, nasihat dan motivasi kepada penulis selama menuntut ilmu di Jurusan Biologi FMIPA Unila.
5. Bapak Drs. Suratman, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
7. Ibu Dra. Yulianty, M.Si. selaku Ketua Prodi Biologi S1 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak dan Ibu Dosen yang telah memberikan ilmu dan motivasi berharga.
9. Bapak dan Ibu Guru SMA AL- Huda, SMPN 21 Bandar Lampung, SDN 1 Way Kandis, TK Melati Puspa yang telah memberikan ilmu dan dukungan selama menempuh pendidikan.
10. Kedua adikku Tiyo dan Najib tercinta terimakasih atas dukungan, do'a dan kasih sayangnya.
11. Semua keluarga terimakasih atas dukungan, cinta, nasihat dan do'a kepada penulis

12. Semua teman-teman seperjuangan *Ssquad* Dwi Eka R., Sundari Ayu O., Yunita , Siti Mardiana, M. Iqbal, Edelyn Stephani S., dan Mbak Desvika A.P, S.Pd. atas kebersamaan dan dukungan kepada penulis.
13. Semua teman-teman seperjuangan *Micrew* 2015 atas kebersamaan dan dukungan kepada penulis.
14. Semua teman-teman rumpi Salira University (Iwak lele) Eka, Erda, Inten, Jumik, Lili, Nosep, Puput, Stevi, Uwik, yoyo dan renti atas kebersamaan dan dukungan kepada penulis.
15. Semua teman-teman angkatan 2015 Nofelis, pengurus Himbio FMIPA Unila, kakak tingkat, adik tingkat angkatan 2016, 2017 serta 2018 terimakasih atas kebersamaan dan dukungan kepada penulis.

Akhir kata Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan di dalam penyusunan skripsi ini dan jauh dari kata sempurna, namun Penulis berharap skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi kita yang membacanya.

Bandar Lampung,

Penulis,

Cahya Intan Listiyorini

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
PERNYARTAAN 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	3
C. Manfaat	4

D. Kerangka Pikir	4
E. Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Hutan Mangrove	7
B. Selulosa	9
C. Enzim Selulase.....	11
D. Probiotik	15
E. <i>Bacillus</i> sp.	16
III. METODE PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat.....	20
B. Alat dan Bahan.....	20
C. Metodologi Penelitian	21
1. Pengambilan Sampel	22
2. Persiapan Media	22
3. Isolasi Sampel <i>Bacillus</i> Selulolitik.....	22
4. Uji Aktivitas Selulolitik Secara Kualitatif.....	23
5. Karakterisasi <i>Bacillus</i> sp.	24
6. Uji Cekaman Terhadap kadar NaCl	24
7. Uji Cekaman Terhadap pH.....	24
8. Uji Patogenisitas	24
9. Uji Pengaruh Logam Terhadap Aktivitas Selulolitik	25
D. Diagram Alir	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Isolasi dan Seleksi bakteri Selulolitik.....	27
B. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel	31
C. Pengujian Cekaman pH dan NaCl	31
D. Pengujian Patogenisitas	33
E. Uji Pengaruh Logam Terhadap Aktivitas Selulolitik.....	34
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Table 1. Indeks Selulolitik dan Karakterisasi Bakteri.....	29

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Konfigurasi Dinding Sel Tanaman.....	10
Gambar 2. Struktur Kimia Selobiosa	10
Gambar 3. Mekanisme Degradasi Selulosa oleh Enzim Selulase.....	12
Gambar 4. Koloni dan Mikroskopis <i>Bacillus Subtilis</i>	17
Gambar 5. Diagram Alir Penelitian	26
Gambar 6. Uji Kualitatif Aktivitas Selulase	28
Gambar 7. Uji Pengaruh Logam pada Proses Degradasi Selulosa	35
Gambar 8. Pengerjaan Isolasi Bakteri.....	44
Gambar 9. Hasil Isolasi dengan Metode <i>Pour Plate</i>	44
Gambar 10. Uji Kualitatif Enzim Selulase <i>Bacillus</i>	44
Gambar 11. Hasil Pengamatan Isolat <i>Bacillus</i> pada Media NaCl.....	45
Gambar 12. Hasil Pengamatan Isolat <i>Bacillus</i> pada Media pH	45

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hutan Mangrove Hanura merupakan kawasan hutan di pinggir pantai dengan ekosistem yang unik. Banyak keragaman organisme yang hidup di dalamnya. Desa Hanura merupakan satu lokasi penting sebaran hutan mangrove Provinsi Lampung. Berdasarkan monografi Desa Hanura, secara geografis kawasan hutan mangrove pada desa tersebut bagian timur bebatasan dengan Pesisir Laut Teluk Pandan. Luas mangrove Desa Hanura merupakan bagian kecil dari 19.596 ha hutan mangrove yang tumbuh membentang sepanjang pesisir Kabupaten Pesawaran (BPS Provinsi Lampung, 2017).

Kawasan hutan mangrove yang luas tersebut berbanding lurus dengan seresah yang dihasilkan. Seresah dan lapukan kayu pada mangrove mengandung selulosa. Kayu memiliki kandungan selulosa sekitar 50 %, sedangkan pada tumbuhan sekitar 33 % (Klemm, et.al., 1998). Selulosa merupakan polimer glukosa dengan rantai linier yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik yang menyebabkan struktur selulosa bersifat kristalin dan sukar larut dalam air. Selulosa di alam berasosiasi dengan polisakarida lainnya seperti hemiselulosa

atau lignin yang membentuk dinding sel dari tumbuhan (Holtzapple, dkk., 2003). Dengan melimpahnya selulosa akan mendukung keberadaan dari bakteri pengurai selulosa. Penguraian ini dilakukan oleh bakteri yang memiliki kemampuan enzimatik yaitu enzim selulase (Rudiyansyah, dkk., 2017). Beberapa bakteri telah diisolasi di perairan hutan mangrove antara lain *Bacillus megaterium*, *Nitrococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Planococcus citreus*, *Bacillus mycoides*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus luteus*, *Vibrio* sp. (Yahya, dkk., 2014). Genus *Bacillus* diketahui mampu memproduksi selulase. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sumardi (2019), isolat *Bacillus* sp. UJ132 yang diisolasi dari hutan Mangrove memiliki kemampuan selulolitik.

Enzim selulase merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang berperan dalam proses pendegradasian selulosa menjadi glukosa. Kerja dari enzim ini merupakan enzim ekstraseluler yaitu enzim yang digunakan di luar sel. Ada tiga jenis enzim yang bekerja yaitu enzim endoglukanase, eksoglukanase dan endo β -glukosidase (Sakti, 2012). Mikroorganisme yang menghasilkan enzim selulase selain digunakan untuk mendegradasi limbah di alam dapat pula dijadikan probiotik. Probiotik akan membantu pencernaan hewan dengan memecah komponen polimer oleh enzim khusus (Effendi, 2002).

Selulosa yang merupakan polimer terdapat dalam komposisi pakan ikan yang ada di pasaran. Dengan demikian penambahan probiotik penghasil enzim selulase

dapat memberikan keuntungan dengan membantu dalam pencernaan pakan sehingga dapat mendorong produktivitas ikan. Pemberian probiotik pada pakan buatan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap rata-rata pertumbuhan harian/ spesifik ikan gurame dan peningkatan efisiensi pemanfaatan pakan (Suminto, 2015). Berdasarkan penelitian Widanarni (2008), isolat probiotik 1Ub, SK dan Ua efektif menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* dan secara signifikan dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang windu.

Syarat suatu bakteri dapat dijadikan probiotik antara lain tidak patogen, toleran terhadap asam dan garam empedu, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999).

B. Tujuan

Tujuan Penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan isolat bakteri *Bacillus* selulolitik dari Hutan Mangrove Desa Hanura, Lampung.
2. Mengetahui perbedaan karakteristik isolat bakteri antara lain morfologi koloni dan sel, cekaman terhadap pH dan garam, kemampuan patogenisitas serta pengaruh logam terhadap aktivitas selulolitik.

C. Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri yang di peroleh dari kawasan Hutan Mangrove Hanura, Lampung.
2. Untuk memperoleh bakteri selulolitik penghasil enzim selulase yang diisolasi dari hutan Mangrove.

D. Kerangka Pikir

Ekosistem mangrove yang berada di wilayah pesisir memiliki kondisi yang berbeda di bandingkan ekosistem di tempat lain. Keberadaan dan keanekaragaman bakteri di alam dipengaruhi oleh salinitas, pH, fisik, iklim, vegetasi, nutrisi dan lokasi (Yahya, dkk., 2014). Perbedaan kondisi ini memungkinkan adanya karakteristik biotik dan abiotik yang berbeda pula. Bakteri hutan mangrove termasuk ke dalam bagian biotik dari ekosistem mangrove, dapat mendegradasi seresah dan lapukan kayu. Kandungan dari seresah dan lapukan kayu di antaranya, selulosa. Di alam selulosa tidak dapat digunakan dan hanya menjadi limbah bila tidak di uraikan terlebih dahulu oleh enzim selulase.

Enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler dan bersifat induktif, enzim hanya dihasilkan apabila terdapat induser berupa substratnya yaitu selulosa. Enzim selulase di produksi salah satunya oleh bakteri. Bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase merupakan bakteri selulolitik. Terdapat berbagai macam bakteri

yang mendiami wilayah hutan mangrove dan dapat menghasilkan enzim selulase. Selulase merupakan enzim yang dapat memecah selulosa dan digolongkan menjadi endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase.

Pemilihan bakteri yang menjadi kandidat probiotik memiliki beberapa syarat antara lain, tidak patogen, toleran terhadap asam, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999).

Keadaan lingkungan pada ekosistem mangrove memiliki rentang NaCl antara 0,5-3,5 %. Sehingga pemilihan kandidat probiotik perlu dilakukan pengujian cekaman dengan kadar garam dan konsentrasi yang digunakan yaitu 0, 3 dan 6 %. Bakteri yang berasal dari ekosistem hutan mangrove diharapkan memiliki kemampuan ketahanan pada kondisi garam tinggi. Kemampuan untuk bertahan pada kondisi garam tinggi, mengindikasikan bakteri tersebut termasuk ke dalam golongan bakteri halofilik. Bakteri halofilik memiliki struktur membran yang khusus, dengan lipid monolayer atau disebut biphytanil ataupun struktur campuran dengan fosfolipid bilayer. Monolayer memiliki sistem terbuka, air dapat ditukar dari dan ke konsentrasi tinggi seperti dalam proses osmotik, ini memungkinkan terjadinya kesetimbangan karena ketika tekanan eksternal diterapkan pada penghalang sama dengan tekanan internal monolayer kerana tumbukan molekul dengan penghalang. Rentang pH pada rata-rata lingkungan yaitu 5-9, bakteri yang akan dijadikan kandidat probiotik diharapkan mampu

tahan pada keadaan di luar dan di dalam tubuh organisme. Dikarenakan pH pada sistem pencernaan asam, dengan demikian pengujian terhadap cekaman pH dilakukan pada rentang pH 4, 7 dan 10. Pengujian patogenisitas dilakukan dengan menunjukkan sifat hemolisis bakteri pada agar darah. Bakteri hanya dapat dijadikan kandidat probiotik apabila memiliki sifat γ hemolisis dengan tidak terjadinya lisis pada media agar darah. Selain itu, pada ekosistem perairan logam berat merupakan salah satu agen pencemar lingkungan. Keberadaan logam berat pada perairan dapat mempengaruhi kehidupan organisme yang ada di perairan tersebut. Kemampuan bakteri yang dapat sintas pada kondisi ini, diperlukan untuk menjadi kandidat probiotik. Ion logam Fe, Pb, Cu dan Al merupakan cemaran yang paling sering ditemukan di perairan laut. Ion logam dapat menjadi aktivator ataupun inhibitor pada aktivitas enzim. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim ditunjukkan apabila adanya kenaikan indeks selulolitik merupakan indikasi ion logam tersebut bekerja sebagai aktivator, ataupun sebaliknya bila menurunkan indeks selulolitik merupakan indikasi sebagai inhibitor pada enzim tersebut.

E. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu

1. Didapatkan bakteri *Bacillus* selulolitik dari Hutan Mangrove Hanura.
2. Didapatkan *Bacillus* dengan karakteristik tertentu, meliputi morfologi koloni dan sel, cekaman terhadap pH dan garam, kemampuan patogenisitas serta pengaruh logam terhadap aktivitas selulolitik

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Hutan Mangrove

Kata mangrove diambil dari bahasa portugis yaitu mangue dan bahasa inggris yaitu grove. Kata mangrove dalam bahasa inggris diperuntukan untuk komunitas tumbuhan yang tumbuh di daerah pasang-surut serta individu spesies tumbuhan yang menyusun komunitas tersebut. Dalam bahasa portugis kata mangrove digunakan untuk menyatakan individu spesies tumbuhan, sedangkan untuk komunitas tumbuhannya disebut mangal (Kusmana, dkk., 2003). Menurut Nybakken (1992), hutan mangrove merupakan suatu kelompok tumbuhan yang terdiri atas berbagai macam spesies dari famili yang berbeda, namun memiliki kesamaan pada daya adaptasi morfologi dan fisiologi terhadap lingkungannya yang dipengaruhi oleh pasang surut.

Hutan mangrove terletak di wilayah pesisir yang terlindung dari gempuran ombak dan daerah yang landai. Wilayah pesisir yang memiliki muara yang besar dan delta aliran airnya mengandung lumpur ini mendukung optimumnya pertumbuhan mangrove. Ombak besar serta arus pasang surut yang kuat memungkinkan tidak terjadinya pengendapan lumpur yang kandungannya

dibutuhkan sebagai substrat sehingga mangrove tumbuh dengan mudah di wilayah pesisir (Dahuri, 2003).

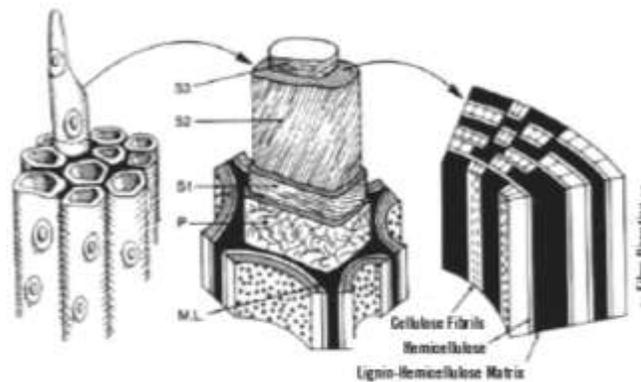
Hutan mangrove merupakan habitat yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber produktivitas karena merupakan ekosistem tempat tinggal beragam flora dan fauna. Perikanan dapat menjadi salah satu produktivitas dari habitat mangrove yang dapat dimanfaatkan. Ikan dan hewan-hewan kecil mendapatkan makanan melalui proses dekomposisi yang kompleks dari seresah mangrove oleh mikroorganisme pada hutan mangrove, karena menghasilkan detritus yang dapat dimanfaatkan oleh hewan-hewan laut kecil. Hewan-hewan kecil ini nantinya akan menjadi makanan bagi hewan yang lebih besar dan rantai makananpun terjadi (Talib, 2008).

Hutan mangrove yang ada di Lampung memiliki luas 1.200 Ha. Hutan mangrove Desa Hanura terletak di kecamatan Padang Cermin, kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung dengan luas perairan 1,5 km² dengan 1,5 km x 1 km. Geografis kabupaten ini berada pada 105°13'45"-105°15'0"BT dan 5°32'30"LS (Siegers, WH., 2013). Topografi bagian barat daya dan bagian Selatan Desa Hanura cukup landai dengan kedalaman kurang dari 5 meter, sedangkan sekitar tenggara cukup dalam yaitu 10-15 meter. Terdapat empat sungai kecil yang bermuara di perairan Teluk Hurun, dua sungai di bagian Barat daya, satu sungai di bagian Selatan dan satu sungai di pantai Barat laut. Desa Hanura merupakan satu lokasi penting sebaran hutan mangrove di Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung.

Beberapa bakteri antara lain *Bacillus megaterium*, *Nitrococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Planococcus citreus*, *Bacillus mycoides*, *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus luteus*, *Vibrio* sp. tinggal di perairan hutan mangrove pesisir kraton pasuruan (Yahya, dkk., 2014). Sebagian besar bakteri yang ditemukan di perairan memiliki sifat Gram yaitu negatif dan ukurannya lebih kecil dibandingkan bakteri non laut, sedangkan bakteri laut dengan sifat Gram positif terbanyak ditemukan pada sedimen (Kathiresan dan Bingham, 2001).

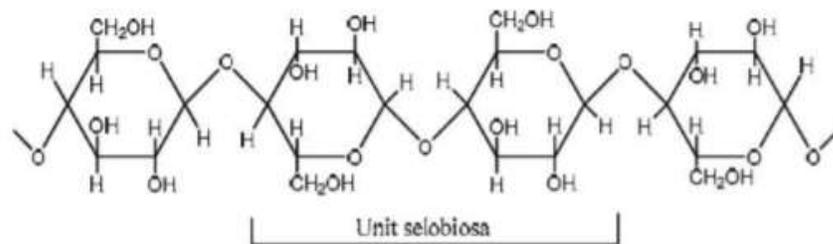
B. Selulosa

Keberadaan selulosa di alam sangat melimpah dan penyumbang utama dari selulosa yaitu tumbuhan. Selain selulosa unsur lain seperti hemiselulosa dan lignin juga melimpah di alam. Selulosa merupakan polimer glukosa dengan rantai linier yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik yang menyebabkan struktur selulosa bersifat kristalin dan sukar larut dalam air. Selulosa di alam berasosiasi dengan polisakarida lainnya seperti hemiselulosa atau lignin yang membentuk dinding sel dari tumbuhan (Holtzapple, dkk., 2003).



Gambar 1. Konfigurasi Dinding Sel Tanaman
(Sumber : Perez, dkk., 2002)

Selulosa yang merupakan penyusun dinding sel pada tumbuhan disusun oleh selobiosa dan unit penyusun dalam molekul selulosa adalah 2 unit gula (D-glukosa). Selulosa yang merupakan polisakarida struktural dapat ditemukan pada tangkai, batang, dahan serta semua jaringan tumbuhan berkayu yang berfungsi untuk memberikan perlindungan, bentuk serta penyangga sel dan jaringan (Lehninger, 1993).



Gambar 2. Struktur Kimia Selobiosa
(Sumber: Lehninger, 1993)

Glukosa anhidridat yang terikat oleh atom karbon pertama dan ke empat akan membentuk rantai selulosa. Ikatan yang terjadi yaitu ikatan β -1,4 glikosidik. Selulosa tersusun dalam bentuk fibril-fibril yang dihubungkan oleh ikatan

glikosidik. Fibril-fibril tersebut membentuk struktur kristal yang dibungkus oleh lignin. Struktur dan komposisi kimia tersebut menyebabkan sebagian besar bahan yang mengandung selulosa bersifat kuat dan keras sehingga tahan terhadap penguraian secara enzimatik dan menyebabkan penguraiannya berlangsung lambat (Fan, dkk., 1982).

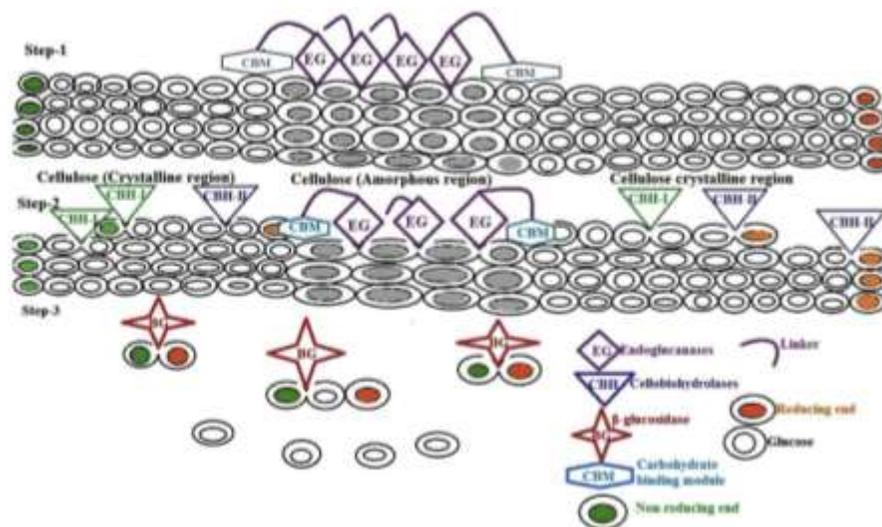
Kandungan selulosa pada batang kayu sekitar 50 %, sedangkan pada tumbuhan sekitar 33 % dan yang terbesar terdapat pada kapas yaitu 90 % (Klemm, dkk., 1998). Beberapa spesies ganggang yaitu ganggang hijau, abu-abu, merah, kuning hijau menghasilkan mikrofibril selulosa di dinding selnya. Selain itu hewan laut seperti *tunicates* juga memiliki mantel yang terdiri dari mikrofibril selulosa yang terdapat di dalam matriks protein (Robert, dkk., 2011). Pada hutan mangrove serasahnya merupakan penyumbang terbesar keberadaan selulosa yang mendukung keberadaan bakteri selulolitik untuk hidup.

C. Enzim Selulase

Enzim selulase merupakan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang berperan dalam proses pendegradasian selulosa menjadi glukosa. Kerja dari enzim ini merupakan enzim ekstraseluler yaitu enzim yang digunakan di luar sel. Ada tiga jenis enzim yang bekerja yaitu enzim endoglukanase, eksoglukanase dan endo β -glukosidase.

Fungsi masing-masing enzim berbeda, yaitu sebagai berikut:

1. Enzim endoglukanase, enzim ini menghidrolisis secara acak pada ikatan glikosidik β -1,4 pada daerah amorf dari substrat selulosa dengan hasil akhir oligosakarida dan polimer.
2. Enzim eksoglukanase, enzim ini memotong pada ujung rantai selulosa dari residu selubiosil yang hasil akhirnya selobiosa.
3. Enzim endo β -glukosidase, menghidrolisis selobiosa untuk menghasilkan dua unit glukosa (Sakti, 2012).



Gambar 3. Mekanisme Degradasi Selulosa oleh Enzim Selulase
(Sumber: Behera, dkk., 2016)

Mekanisme enzim selulase mendegradasi selulosa yaitu tahap pertama, enzim endoglukanase (EG) memotong daerah amorf dari selulosa secara acak dan membentuk banyak ujung-ujung reduksi atau nonreduksi yang memudahkan kerja eksoglukanase. Kemudian enzim eksoglukanase (CBH) akan

menghidrolisis daerah kristal dan menghasilkan selobiosa yang merupakan disakarida. Setelah itu β -glukosidase (BG) akan menghidrolisis selobiosa hasil dari pemecahan enzim eksoglukonase menjadi glukosa (Jorgansen, 2007).

Berdasarkan Pembentukannya enzim selulase merupakan enzim yang bersifat induktif. Produksi enzim selulase yang dilakukan oleh mikroba membutuhkan adanya induser dalam medium fermentasinya. Induser tersebut akan menginduksi pembentukan enzim selulase pada sel mikroba. Jumlah enzim yang ada di dalam sel tidak tetap, bergantung indusernya. Senyawa induser yang diperlukan umumnya berupa substrat dari enzim tersebut (Purkan, dkk., 2015).

Induser yang sering digunakan untuk memproduksi enzim selulase yaitu *Carboxymethyl Cellulose (CMC)*.

Produksi enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor eksternal antara lain ketersediaan substrat, pH, suhu, kondisi kultur dan waktu fermentasi (produksi) serta faktor internal seperti sintesis protein. Ketersediaan substrat bagi enzim induktif berpengaruh penting. Substrat akan menginduksi produksi dari enzim. Jumlah enzim akan bertambah apabila dalam medium mengandung banyak substrat yang menginduksi enzim tersebut (Purkan, dkk., 2015). Kondisi kultur dan lamanya waktu produksi berpengaruh terhadap kemampuan enzim dalam mengubah substrat menjadi produk. Kondisi kultur dipengaruhi oleh media kulturnya dan umur kultur, media kultur diharuskan memenuhi kebutuhan bakteri agar dapat tumbuh dengan baik. Setiap enzim memiliki waktu optimum produksinya. Pada pengujian lama waktu produksi enzim selulase dari

Aspergillus niger optimum produksi pada hari ke 4. *Trichoderma* sp. optimum pada hari ke-4 hingga ke-5 (Gautam, dkk., 2010). Optimum produksi enzim mananase dari *Bacillus subtilis* yaitu pada 88 jam masa inkubasi (Marizal, dkk., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Oktavia (2018) optimasi produksi enzim protease dan amilase berada pada 36 jam masa inkubasi. Selain itu, faktor internal pula berpengaruh pada produksi enzim. Enzim yang merupakan protein, produksinya dapat dipengaruhi oleh sintesis protein. Sintesis protein dilakukan melalui dua tahap yaitu transkripsi dan translasi. Proses sintesis protein prokariot lebih sederhana dibandingkan eukariot. Pada prokariot tidak terdapat tahap post-transkripsi atau pun post-translasi yang menyebabkan prokariot mudah bermutasi. Dengan mudahnya prokariot bermutasi akan berpengaruh terhadap protein yang terbentuk. Protein ini memiliki fungsi yang beragam salah satunya yaitu protein enzimatik (Campbell, 2006).

Penelitian yang dilakukan di hutan mangrove Peniti, Kecamatan Segedong, Kabupaten Mempawah ditemukan bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik yaitu bakteri dari genus *Aeromonas*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Actinobacillus*, *Aeromonas*, *Listeria*, dan *Chromobacterium* (Rudiansyah, dkk., 2017). Produksi dari enzim selulase dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain ukuran inokulum, pH, rasio C:N, suhu, aditif medium, waktu pertumbuhan dan lainnya.

D. Probiotik

Probiotik merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan mendukung pertumbuhan dan produktifitas udang. Bakteri probiotik juga dapat dijadikan bioremediasi (Poernomo, 2004). Secara umum probiotik, yang biasa digunakan adalah preparat dari mikroba hidup yang dimasukkan kedalam tubuh manusia atau hewan. Mikroba tersebut diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan dengan cara memperbaiki sifat-sifat dari mikroba alami yang ada di dalam tubuh (Yuniastuti, 2014).

Syarat suatu bakteri dapat dijadikan probiotik antara lain tidak patogen, toleran terhadap asam dan garam empedu, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999).

Manfaat probiotik bagi kesehatan tubuh, sebagai berikut:

1. Fungsi protektif, yaitu kemampuan menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, menyebabkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen).
2. Fungsi sistem imun tubuh, yaitu dengan meningkatkan sistem imun melalui kemampuan probiotik untuk menginduksi pembentukan IgA, aktivasi

makrofag, modulasi profil sitokin, serta menginduksi hyporesponsiveness terhadap antigen yang berasal dari pangan.

3. Fungsi metabolit probiotik yaitu metabolit yang dihasilkan oleh probiotik, termasuk kemampuan probiotik mendegradasi laktosa di dalam produk susu terfermentasi sehingga dapat dimanfaatkan oleh penderita *lactose intolerance* (Yuniastuti, 2014).

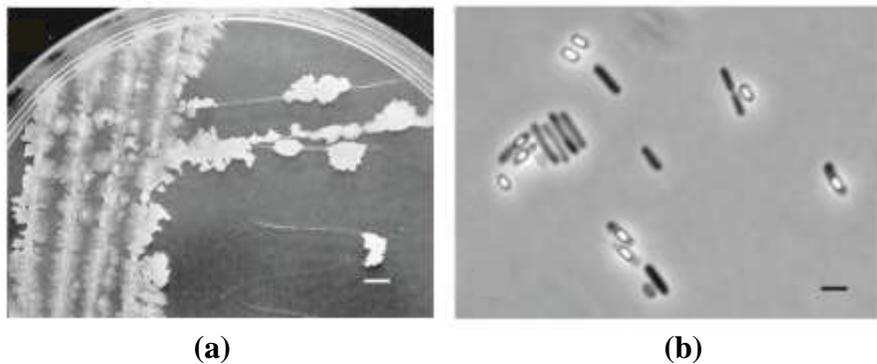
Berdasarkan penelitian yang dilakukan Pratiwi (2013), yaitu isolasi dan identifikasi bakteri kandidat probiotik dari lumpur hutan mangrove Wonorejo didapatkan tujuh spesies bakteri kandidat probiotik, yaitu *Bacillus* sp., *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *Pseudomonas* sp., *P. pseudomallei*, *Micrococcus* sp. dan *Vibrio alginolyticus*. Probiotik yang diisolasi dari berbagai lingkungan tambak didapat isolat 1Ub, SK dan Ua. Isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* patogen dan efektif diaplikasikan dalam penanggulangan penyakit vibriosis. Serta secara signifikan dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang windu (Widanarni, 2008).

E. *Bacillus* sp.

Bacillus merupakan genus bakteri dari famili Bacillaceae yang memiliki bentuk sel batang dengan sel tunggal maupun jamak menjadi rantai panjang serta filamen, Gram positif, dengan diameter berukuran 0,4-1,8 μm dan panjangnya 0,9-10,0 μm . Beberapa *Bacillus* motil karena memiliki flagella. Bersifat aerob dan anaerob fakultatif namun ada beberapa yang bersifat anaerob. *Bacillus* dapat

hidup pada rentang suhu 10-60 °C dan pH yaitu 5-10 dan beberapa ada yang resisten terhadap salin. Dapat tumbuh pada media yang diberikan NaCl dengan konsentrasi hingga 20 %. Membentuk endospora sehingga tahan pada kondisi ekstrem, endospora ini resisten terhadap panas, radiasi, dan disinfektan. Sebagian besar positif katalase dan untuk oksidase positif dan negatif (Bergey, 2009).

Bacillus memiliki morfologi koloni yang beragam dengan bentuk circular sampai irregular, sedangkan tepinya yaitu entire, undulate, crenate atau fimbriat dengan tekstur granul dan elevasinya raised hingga convex. Koloni bakteri dari genus *Bacillus* memiliki penampakan yang mirip seperti pada *Bacillus anthracis* dan *Bacillus cereus*. Kebanyakan koloninya lembab, mengkilat dan berwarna putih atau krim keabu-abuan, namun beberapa memiliki pigmen berwarna hitam, coklat, orange, merah muda atau kuning (Bergey, 2009).



Gambar 4. (a) Koloni *Bacillus subtilis* (b) Mikroskopis *B. subtilis*
(Sumber: Bergey, 2009)

Taksonomi dari *Bacillus* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Bacillales
Family : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Species : *Bacillus* sp. (de Vos, dkk., 2009).

Beberapa spesies bakteri dari genus *Bacillus* di temukan di perairan hutan mangrove pesisir kraton pasuruan yaitu *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides* dan *Bacillus pumilus* (Yahya, dkk., 2014). Bakteri dari genus *Bacillus* yang ditemukan di Hutan Mangrove, serta dapat memproduksi enzim selulase yaitu dari spesies *Bacillus subtilis* (Reka dan Anathi, 2013). Spesies lain seperti *Bacillus cereus* yang diisolasi dari sedimen mangrove di Thailand (Chantarasiri, 2015) dan *Bacillus licheniformis* yang diisolasi dari tanah mangrove di Mahanadi India (Behera, 2016). Sebagian besar bakteri yang ditemukan di perairan laut memiliki sifat Gram yaitu negatif dan ukurannya lebih kecil dibandingkan bakteri non laut, sedangkan bakteri laut dengan sifat Gram positif terbanyak ditemukan pada sedimen (Kathiresan dan Bingham, 2001).

Manfaat *Bacillus* untuk probiotik, pemberian *Bacillus* sp. D2.2 membirikan nilai optimal pada pertumbuhan harian (Novitasari, 2017). Jenis *Bacillus* sp. yang sering dimanfaatkan sebagai probiotik antara lain *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. pumilus*, dan *B.*

Laterosporus (Ulhaq, 2014). Isolat *Bacillus* sp. UJ132 yang diisolasi dari hutan Mangrove memiliki kemampuan selulolitik yang dijadikan sebagai kandidat probiotik (Sumardi, 2019).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung, Bandar Lampung, Lampung pada bulan November tahun 2018 hingga April tahun 2019.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu cawan petri untuk, tabung reaksi, rak tabung, gelas beaker, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, autoklaf, oven, *vortex mixer*, *biosafety cabinet*, jarum ose, mikropipet dan tip, bunsen, timbangan analitik, mikroskop, *hotplate magnetic stirrer*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel dari hutan mangrove, media *sea water complete (SWC)* komposisi: *bacto peptone*, ekstrak *yeast*, gliserol, air laut, *bacto agar*, akuades, *Carboxymethui Celulose (CMC)*, congo red 0,1 %, NaCl 1 M, NaCl teknis (garam) 3, 4 dan 6 %, NaOH 1 M, HCl 1 M, kristal violet, iodine, safranin, darah, logam FeCl₃, AlCl₃, CuCl₂, PbCl₂, minyak imersi, bahan habis pakai, aluminium foil, spiritus, alkohol 70 %.

C. Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara deskriptif yaitu diawali dengan proses isolasi. Isolasi dilakukan dari sampel yang diambil dari hutan mangrove Hanura. Kemudian sampel dilakukan pemanasan untuk mendapatkan bakteri *Bacillus*. Suspensi *Bacillus* hasil pemanasan dikultur pada media SWC cair + CMC 0,5 %. Koloni *Bacillus* selulolitik ditandai dengan adanya zona jernih pada media di sekitar koloni. Selanjutnya yaitu pengujian karakterisasi morfologi dan fisiologi. Karakterisasi morfologi meliputi morfologi koloni dan sel, sedangkan karakterisasi fisiologi meliputi uji cekaman terhadap pH dan NaCl, patogenisitas serta uji pengaruh terhadap aktivitas selulolitik. Karakterisasi morfologi koloni dan sel dilakukan dengan mengamati bentuk koloni dan sel. Pengamatan morfologi sel dengan proses pengecatan Gram. Karakterisasi fisiologi melalui uji cekaman terhadap pH dilakukan dengan menggunakan pH 4, 7 dan 10. Pada uji cekaman terhadap NaCl (kadar garam) konsentrasi yang digunakan yaitu 0, 3 dan 6 %. Hasil yang diamati pada uji cekaman terhadap pH dan NaCl yaitu ukuran koloni yang tumbuh. Uji patogenisitas dilakukan melalui sifat hemolisis bakteri pada media agar darah. Karakter hemolitik dilihat berdasarkan zona yang terbentuk pada media di sekitar koloni. Uji pengaruh ion logam terhadap aktivitas selulolitik dilakukan menggunakan ion logam FeCl_3 , CuCl_3 , PbCl_2 dan AlCl_2 yang ditambahkan pada media SWC agar + CMC 0,5 %. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas selulolitik ditunjukkan dengan adanya zona jernih pada media disekitar koloni.

1. Pengambilan Sampel

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel secara langsung. Sampel yang diambil yakni sampel keong, air payau, seresah tumbuhan bakau yang terdiri dari akar, daun dan bunga, serta lumpur diambil dan dimasukkan dalam plastik steril. Semua sampel disimpan dalam kotak pendingin untuk kemudian dibawa ke laboratorium.

2. Persiapan Media

Media yang digunakan yaitu media cair *sea water complete* (SWC).

Komposisi SWC cair dalam 1 liter yaitu sebagai berikut: *bacto peptone* 5 g, ekstrak *yeast* 1 g, gliserol 3 ml, air laut 750 ml, akuades 250 ml. Komposisi media *sea water complete agar* (SWC) ditambahkan 15 gram *bacto agar*.

Semua bahan dimasukan ke dalam gelas beker dan dihomogenkan menggunakan *hotplate magnetic stirrer*. Setelah itu, dimasukan ke dalam erlenmeyer kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C tekanan 2 atm.

3. Isolasi *Bacillus* Selulolitik dari Sampel

Sampel ditimbang masing-masing 1 gram, dan dimasukan ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis. Kemudian dipanaskan pada suhu 80 °C. Pemanasan bertujuan untuk mematikan sel vegetatif dan bakteri yang tetap tumbuh

merupakan bakteri yang dapat membentuk spora yang merupakan ciri dari bakteri genus *Bacillus*.

Sampel diperkaya pada media *sea water complete (SWC)* cair dengan penambahan *Carboxymethyl Cellulose (CMC)* 0,5 %. 0,5 ml sampel dimasukkan pada 4,5 ml media, di gojlok pada orbital shaker selama 48 jam pada suhu ruang. Dibuat pengenceran seri hingga 10^{-6} . Dari hasil pengenceran 10^{-4} hingga 10^{-6} masing-masing diambil 0,25 ml dan dimasukkan pada tabung berisi 2,25 ml aquades. Setelah itu, ditumbuhkan pada media *sea water complete (SWC)* agar modifikasi + CMC 0,5 % dengan metode *pour plate*. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah inkubasi koloni yang tumbuh diinokulasikan pada media SWC agar dengan metode streak untuk mendapatkan koloni tunggal dan diremajakan pada media agar miring.

4. Uji Aktivitas Selulolitik Secara Kualitatif

Isolat murni pada media miring umur 24 jam diinokulasikan dengan metode titik dan direplikasi pada media SWC agar + CMC 0,5 %, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah masa inkubasi disiram dengan congo red 0,1 % selama 15 menit dan setelahnya dibilas dengan larutan NaCl 1 M. Zona jernih yang terbentuk diamati dan diukur diameternya.

5. Karakterisasi *Bacillus* sp.

Karakterisasi morfologi koloni dilakukan dengan pengamatan bentuk, tepian, elevasi serta warna dari koloni bakteri, sedangkan karakterisasi morfologi sel dilakukan dengan pengecatan Gram.

6. Uji Cekaman Terhadap Kadar NaCl (Garam dapur)

Isolat bakteri umur 24 jam yang ditumbuhkan pada media cair diinokulasikan dengan metode titik pada media SWC Agar yang dimodifikasi dengan NaCl teknis konsentrasi 0, 3 dan 6 %. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah inkubasi diamati pertumbuhan koloninya.

7. Uji Cekaman Terhadap pH

Isolat bakteri umur 24 jam yang ditumbuhkan pada media cair diinokulasikan dengan metode titik pada media SWC Agar yang dimodifikasi dengan rentang pH 4, 7, dan 10. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah inkubasi diamati pertumbuhan koloninya.

8. Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan melalui uji hemolisis menggunakan media agar dengan penambahan darah domba. Isolat bakteri diinokulasikan pada media agar darah, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

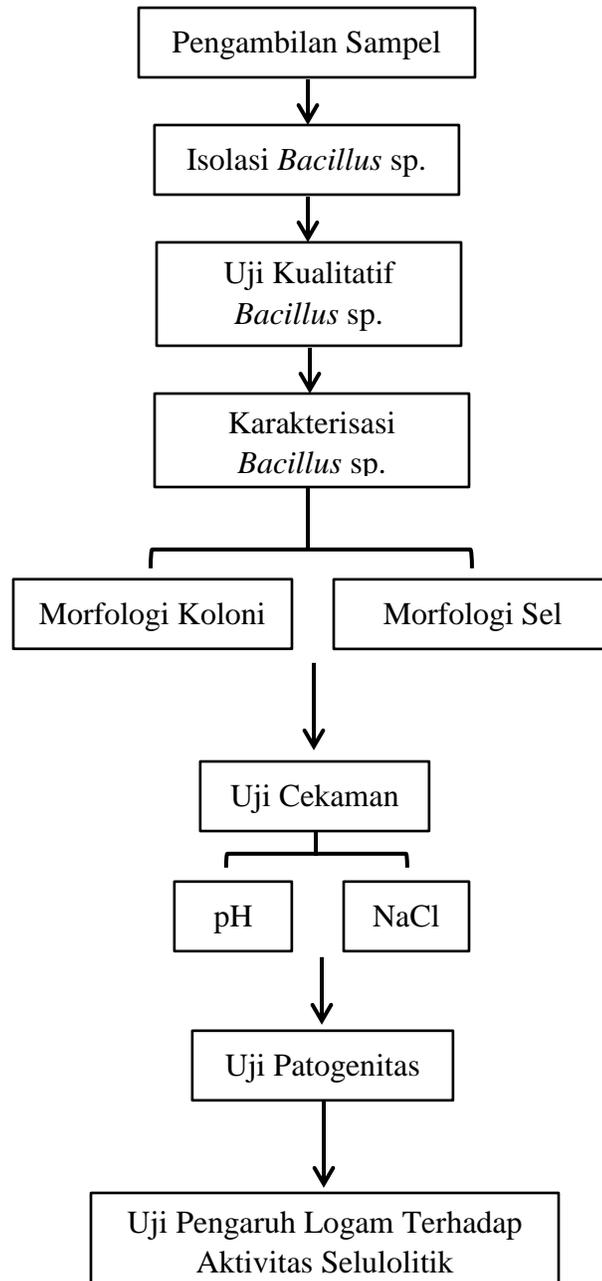
Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi pada

media disekitar koloni menunjukkan sifat hemolisis yang dimiliki bakteri tersebut.

Sifat hemolisis bakteri ada tiga katagori yaitu, yaitu jika terjadi lisis sebagian pada media disekitar koloni ditandai dengan perubahan warna media menjadi kehijauan dan warna hijau ini berasal dari biliverdin yang merupakan produk sampingan dari pemecahan hemoglobin menunjukkan α -hemolisis. Terjadi lisis sempurna pada media disekitar isolat ditandai dengan perubahan warna media menjadi bening menunjukkan sifat β -hemolisis, sedangkan apabila tidak terjadinya lisis pada media merupakan sifat γ -hemolisis (Madigan 2006).

9. Uji Pengaruh Logam Terhadap Aktivitas Selulolitik

Uji pengaruh logam terhadap aktivitas selulolitik bakteri menggunakan 4 jenis logam dan 3 konsentrasi yang berbeda yaitu FeCl_3 (10, 20 dan 40 mM), AlCl_3 (1,5, 3, dan 6 mM), CuCl_2 (0,015, 0,03 dan 0,06 mM) dan PbCl_2 (0,015, 0,03 dan 0,06 mM). Logam-logam tersebut ditambahkan ke dalam media *SWC* agar + *CMC* 0,5 %. Isolat diinokulasikan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah masa inkubasi disiram dengan congo red 0,1 % selama 15 menit dan kemudian dibilas dengan larutan NaCl 1 M. Aktivitas selulolitik ditandai dengan zona jernih yang terbentuk disekitar koloni pada medium. Diameter koloni dan zona jernih yang terbentuk diamati dan diukur.

D. Diagram Alir**Gambar 5.** Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Adapun simpulan yang diperoleh dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Penelitian ini berhasil mendapatkan 16 isolat bakteri *Bacillus* selulolitik dari Hutan Mangrove Desa Hanura, Lampung.
2. Isolat IBK3 memiliki indeks selulolitik tertinggi yaitu 7,36 dan merupakan bakteri non patogen dengan sifat Gram positif berbentuk batang. Isolat IBK3 mampu tumbuh dengan baik pada media cekaman pH (7 dan 10) dan NaCl (0 %, 3 % dan 6 %) serta pada penambahan logam (Fe, Al, Pb dan Cu).

B. Saran

Adapun saran yang dapat direkomendasikan untuk penelitian selanjutnya yaitu penambahan pengujian sifat biokimia dari bakteri dan pengujian aktivitas enzim selulase secara kuantitatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelatey, L. M., W. K. B. Khalil, T. H. Ali and K. F. Mahrous. 2011. Heavy Metal Resistance and Gene Expression Analysis of Metal Resistance Genes in Gram-Positive Gram-Negative Bacteria Present in Egyptian Soils. *Journal of Applied Science in Environmental Sanitation*, 6(2): 201-211.
- Arinda, T., Maya, S., Enny, Z. 2012. *Resistensi Bakteri Bacillus Terhadap Logam Berat*. ITS. Surabaya.
- Bergey, D.H & Boone, D.R. 2009. *Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology* Vol. 3, Ed 2, 655. Springer Science Business Media. New York.
- Behera B.C, R.R Mishra, S.K Singh, S.K Dutta & H Thatoi. 2016. Cellulase from *Bacillus licheniformis* and *Brucella* sp. isolated from mangrove soils of Mahanadi river delta, Odisha, India. *Biocatalysis and Biotransformation*. 1–
- Behera B.C., B.K. Sethi, R.R. Mishra, S.K. Dutta, H.N. Thatoi. 2016. Microbial Cellulase Diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 15, (197-210). India.
- Badan Pusat Statistik Provinsi Lampung. 2017. <http://lampung.bps.go.id/dynamictable/2017/08/23/510/luas-dan-kondisi-hutan-mangrove-menurut-provinsi-lampung-.html>. diakses pada 26 mei 2019 pukul 21.54
- Campbell, Neil A. dan Reece, Jane B. 2006. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Chantarasiri, A. 2015. Aquatic *Bacillus cereus* JD0404 Isolated from the Muddy Sediments of Mangrove Swamps in Thailand and Characterization of its Cellulolytic Activity. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 41, 257-264.
- Dahuri, R., 2003. *Keanekaragaman Hayati Laut. Aset Pembangunan Berkelanjutan Indonesia*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- De Vos, Paul, George M. Garrity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer and William B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume Three : The Firmicutes*. Bergey's Manual Trust. New York.
- Doskocz, N., K. Affec, dan M. Zaleska-Radziwill. 2018. Effect Alumunium Oxide Nanoparticles on the Enzimatic Activity on Microorganisms of Activated Sludge. *EDP Sciences*. 44, 00033.
- Effendi, I. 2002. *Probiotics for Marine Organism Disease Protection*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Fan, *et al.* 1982. The Nature of Lignocellulosic and Their Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis. *Adv. Bichem. Eng.* 23: 158-187.
- Gautam S.P., P. S. Bundela, A. K. Pandey, J. Khan, M. K. Awasthi, and S. Sarsaiya. 2010. Optimization for the Production of Cellulase Enzyme from Municipal Solid Waste Residue by Two Novel Cellulolytic Fungi. *SAGE-Hindawi. Research Biotechnology Research International*. Vol 2011, Article ID 810425, 8 pages.
- Geiger, G., H. Brandl, G. Furrer and R. Schulin. 1998. The Effect of Copper On The Aftivity of Cellulase and β -Glucosidase In The Presence of Montmorillonite or Al- Montmorillonite. *Soil Biochemical*. Vol. 30, No. 12, pp. 1537-1544.
- He S., Y. Feng, H. Ren, Y. Zhang, N. Gu, X. Lin. 2011. The impact of iron oxide magnetic nanoparticles on the soil bacterial community. *J Soils Sediments* Vol. 11:1408–1417.
- Holtzapple, M.T. 2003. Hemicelluloses. *In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. pp. 3060-3071. Academic Press.
- Jorgansen H., J.B. Kristensen, C. Febly. 2007. *Biofules. Bioprod. Biorefin.* 119-134.
- Kathiresan K. dan B.L. Bingham. 2001. *Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems*. Annamalai University.
- Klemm, D, Philipp, B, Heinze, T, Heinze, U, & Wagenknecht, W. 1998. *Comprehensive Cellulose Chemistry*. Fundamentals and Analytical Methods. Wiley-VCH, Weinheim.
- Kusmana, C., S. Wilarso., I. Hilwan., Pamungkas., C. Wibowo., T. Tiryana., A. Triswanto., Yusnawi & Hamzah. 2003. *Teknik Rehabilitasi Mangrove*. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Lehninger, L. A. 1993. *Dasar-Dasar Biokimia. Jilid 1. Diterjemahkan oleh Maggy Thenawijaya*. Erlangga. Jakarta.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V. & Clark, D.P. 2006. *Brock Biology of Microorganisms. 12th ed.* Pearson Education. San Francisco.
- Mairizal, Yetti Marlida, Mirzah and Fahmida Manin. 2018. Isolation and Characterization of Mannanase-producing *Bacillus cereus* Isolated from the Hindgut of Termites. *Pakistan Journal of Nutrition. ISSN 1680-5194*.
- Meryandini, A, Wahyu, W, Besty, M, Titi, CS, Nisa, R & Hasrul, S. 2006. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakteristik Enzimnya. *Makara, Sains, vol. 13, no 1, hal. 33-38*.
- Novita W., K. Arief, F.C. Nisa, dan U. Murdiyatmo. 2006. Karakterisasi parsial Ekstrak Kasar Enzim Protease dari *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-1439. *Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 7 No 2*.
- Novitasari A., R. N. Iskandar, H. A Elvazia, E. Hrpeni, Tarsim, Wardiyanto. 2017. Efektivitas Pemberian *Bacillus* sp. D2.2 pada Media Teknis Molase terhadap Kualitas Air dan Performa Pertumbuhan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Biospecies Vol. 10 No. 2, Juli 2017, hal 50 - 59*.
- Nybakken J W. 1992. *Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Oktavia Y., S. D. Lestari, S. Lestari, Herpandi, dan M. Jannah. 2018. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Protease Dan Amilase Isolat Bakteri Asal Terasi Ikan Teri *Stolephorus* sp. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis. Vol. 10 No. 3, Hlm. 719-725*
- Ottolenghi. P. 1970. The Effects of Hydrogen Ion Concentration on the Simplest Steady-State Enzyme Systems. *Biochem. J. 123, 445-453*.
- Perez J., J. Munoz-Dorado, T. de la Rubia and J. Martinez. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *Int. Microbiol. 5:53-63*.
- Pinto O. A., E. A. Disalvo. 2019. A new model for lipid monolayer and bilayers based on thermodynamics of irreversible processes. *PLoS ONE 14(4): e0212269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212269>*
- Purkan. 2015. Produksi Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* menggunakan sekam Padi dan Ampas Tebu Sebagai Induser. *Jurnal Ilmu Dasar. Universitas Airlangga Vol (16): 05-102*.

- Poernomo, A. 2004. Technology of probioticsto solve the problems in shrimp pond cul-ture and the culture environment. *Paperpresented in the National Symposium onon Development and Scientific and Tech-nology Innovation in Aquaculture*. Semarang.
- Pokhrel B., B. Bashyal, R.T. Magar. 2014. Production, Purification and Characterization of Cellulase from *Bacillus subtilis* Isolated from soil. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*. Vol 2(5): 31-37.
- Pratiwi I., Rahayu Kusdarwati dan Wahyu Tjahjaningsih. 2013. Eksplorasi Bakteri Kandidat Probiotik Di Lumpur Hutan Mangrove Wonorejo. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Vol. 5 No. 2*.
- Reka. V., T. Ananthi. 2013. Isolation and characterization of extracellular cellulase using *Bacillus subtilis* from mangrove soil. *Asian J. Environ. Science*. Vol 8:2, 67-71
- Robert, J. M, shlie, M, John, N, John, S, & Je, Y. 2011. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*. 40, 3941-3994.
- Rudiansyah, D., Rahmawati, Rafdinal. 2017. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Peniti, Kecamatan Segedong, Kabupaten Mempawah. *Protobiont*. Vol. 6 (3): 255 – 262.
- Sakti, P. C. 2012. Optimasi Enzim Selulase *Bacillus* sp. BPPT CC RK2 dengan Variasi pH dan Suhu Menggunakan Response Surface Methodology. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Depok.
- Sethi, S., A. Datta, B. L. Gupta dan S. Gupta. 2013. Optimization of Cellulase Production from Bacteria Isolated from Soil. *ISRN Biotechnology*. Vol 2013, hal 7.
- Shortt, C. 1999. The Probiotic Century: Historical and Current Perspectives. *Review on Trend Food Science and Technology* 10:411-417.
- Siegers, W.H. 2013. Kondisi Ekologi Makrobentos pada Eekosistem Mangrove dan Laut Desa Hanura, Kecamatan Padang Cermin, Provinsi Lampung. *Tesis*. ITB. Bogor
- Sumardi, C. N. Ekowati, dan Rismayanti. 2019. The Activity Assay of Protease, Cellulase, Amylase, Xylanase and Mannanase From *Bacillus* sp. As a Candidate of Probiotic. *World Journal of Pharmaceutical*. Vol. 5, Issue 3, 88-93.