

**KEANEKARAGAMAN *Bacillus* DARI TANAH KEBUN RAYA LIWA**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**VIDIA ROYANTI  
1717021018**



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

**2022**

**KEANEKARAGAMAN *Bacillus* DARI TANAH KEBUN RAYA LIWA**

Oleh  
**VIDIA ROYANTI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



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

**2022**

## ABSTRAK

### KEANEKARAGAMAN *Bacillus* DARI TANAH KEBUN RAYA LIWA

Oleh

VIDIA ROYANTI

Kebun Raya Liwa salah satu tempat pengelolaan tanaman hias yang terletak di Liwa kabupaten Lampung Barat, memiliki luas lahan 86 ha. Kawasan Kebun Raya Liwa terletak pada ketinggian antara 890-948 mdpl dimana pada ketinggian ini termasuk kedalam daerah perbukitan. Kawasan Kebun Raya Liwa memiliki kondisi topografi yang bervariasi sehingga memiliki kondisi tanah yang berbeda-beda, hal ini dapat memicu adanya keragaman mikroorganisme tanah salah satunya *Bacillus*. *Bacillus* dapat dijumpai di daerah rhizofe. Terdapat beberapa jenis *Bacillus* diantaranya adalah *Bacillus* sp. *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*. Bakteri *Bacillus* dapat bertahan hidup pada suhu 45-55°C dengan suhu minimum 5-20°C. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh isolat *Bacillus* dari tanah Kebun Raya Liwa serta dapat mengetahui keragaman yang ada di Kebun Raya Liwa. Isolat *Bacillus* dapat diperoleh dengan dikarakterisasi morfologi koloni, morfologi sel (pengecatan gram dan pengecatan spora), uji fisiologi (uji katalase dan uji motilitas) serta dilakukan uji enzimatis (selulase, protease, kitinase, dan lipase). Data diperoleh dengan dianalisis secara deskriptif.

Hasil penelitian ini diperoleh keanekaragaman bakteri pada sampel tanah Kebun Raya Liwa dengan mengacu pada perhitungan Shannon Wiener didapatkan hasil keragaman bakteri tertinggi diperoleh pada tanah serasah dengan total nilai 2,48 yang menunjukkan keanekaragaman tingkat sedang sedangkan untuk total nilai terendah diperoleh pada tanah biopori dengan nilai 1,35 yang menunjukkan keanekaragaman bakteri tingkat sedang. Tingkat tinggi dan rendahnya suatu keanekaragaman bakteri *Bacillus* dapat diakibatkan karena kondisi lingkungan yang memenuhi kebutuhan nutrisi dari bakteri *Bacillus*. Dalam penelitian ini didapatkan bentuk koloni yang banyak ditemukan yaitu bentuk koloni *circular*. Untuk hasil uji karakterisasi yang dilakukan dengan beberapa uji seperti hasil uji pengecatan gram yang menghasilkan Gram positif, untuk pengecatan spora diperoleh hasil positif yaitu bakteri memiliki spora, sedangkan untuk uji enzimatis ditemukan adanya aktivitas enzim yang ditandai dengan adanya zona jernih.

Kata kunci : keanekaragaman, *Bacillus*, tanah

## ABSTRACT

### KEANEKARAGAMAN *Bacillus* Dari Tanah Kebun Raya Liwa

By

VIDIA ROYANTI

Liwa Botanical Gardens, one of the ornamental plant management sites, located in Liwa, West Lampung district, has a land area of 86 ha. The Liwa Botanical Gardens area is located at an altitude between 890-948 meters above sea level where at this altitude is included in a hilly area. The Liwa Botanical Gardens area has varied topographic conditions so that it has different soil conditions, this can trigger a diversity of soil microorganisms, one of which is *Bacillus*. *Bacillus* can be found in the rhizosphere region. There are several types of *Bacillus* including *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*. *Bacillus* bacteria can survive at a temperature of 45-55°C with a minimum temperature of 5-20°C. The purpose of this study was to obtain *Bacillus* isolates from the soil of the Liwa Botanical Gardens and to determine the diversity in the Liwa Botanical Gardens. *Bacillus* isolates could be obtained by characterizing colony morphology, cell morphology (gram staining and spore staining), physiological tests (catalase and motility tests) and enzymatic tests (cellulase, protease, chitinase, and lipase). Data obtained by analyzing descriptively.

The results of this study obtained the diversity of bacteria in the soil sample of the Liwa Botanical Gardens with reference to Shannon Wiener's calculations, the results of the highest bacterial diversity were obtained in litter soil with a total value of 2.48 which showed a moderate level of diversity while the lowest total value was obtained in biopore soils with a value of 1,35 which indicates a moderate level of bacterial diversity. High and low levels of a diversity of *Bacillus* bacteria can be caused by environmental conditions that meet the

nutritional needs of *Bacillus* bacteria. In this study, the most common forms of colonies found were circular colonies. For the results of the characterization test carried out with several tests such as the results of the gram staining test which resulted in Gram positive, for the spore staining positive results were obtained, namely bacteria had spores, while for the enzymatic test it was found that there was enzyme activity which was indicated by the presence of a clear zone.

Keywords: diversity, *Bacillus*, soil

Judul Skripsi : KEANEKARAGAMAN *Bacillus* dari  
TANAH KEBUN RAYA LIWA

Nama Mahasiswa : Vidia Royanti

Nomor Pokok Mahasiswa : 1717021018

Program Studi : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

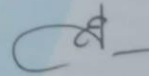
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2

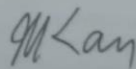


Dr. Kusuma Handayani, M. Si  
NIP. 197808192008012018



Dra. Chistina Nugroho Ekowati, M. Si  
NIP. 195808181985032001

2. Ketua Jurusan Biologi  
FMIPA Unila

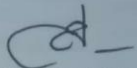


Drs. M. Kanedi, M.Si.  
NIP. 196101121991031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Kusuma Handayani, M. Si. 

Sekretaris : Dra. C. Nugroho Ekowati, M. Si. 

Penguji Utama : Dr. Sumardi, M. Si. 

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



  
**Dr. Eng. Surtpto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP. 197407052000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 11 Agustus 2022

## SURAT PERNYATAA KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Vidia Royanti  
NPM : 1717021018  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sejujurnya, bahwa karya ilmiah saya sebagai tugas akhir dalam bentuk skripsi yang berjudul:

### **“Keanekaragaman *Bacillus* dari Tanah Kebun Raya Liwa”**

Benar bahwa karya ilmiah ini merupakan karya saya sendiri baik dari keseluruhan data, maupun hasil analisis berdasarkan riset yang telah dilakukan serta arahan dari pembimbing dan pembahas. Saya tidak berkeberatan jika data pada skripsi saya digunakan oleh dosen dan/atau program studi dalam kepentingan publikasi selama nama saya disebutkan. Apabila kelak terbukti bahwa pernyataan yang saya buat ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum yang sedang berlaku.

Bandar Lampung, 23 Agustus 2022

Yang Menyatakan,



Vidia Royanti

NPM. 1717021018



## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Rejo Asri, kecamatan Seputih Raman, Lampung Tengah pada tanggal 04 Januari 1999. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara oleh pasangan Bapak Rokhani dan Ibu Syamsiah. Penulis mulai menempuh pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Perintis pada tahun 2005, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SD Negeri 03 Rejo Asri. Penulis melanjutkan pendidikannya di SMP Ma'arif 01 Seputih Raman pada tahun 2011-2014 dan SMA Negeri 1 Kotagajah pada tahun 2014-2017. Kemudian pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Mikrobiologi Umum selama 2 tahun dan Mikrobiologi Pangan dan Industri. selain itu penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA sebagai anggota bidang Sains dan Teknologi tahun 2017-2018.

Penulis pernah melaksanakan Kerja Praktik Lapangan di RSUD Abdul Moelok Provinsi Lampung pada Januari-Februari 2020 dengan judul **“Analisis Pola Sensitivitas Bakteri Klebsiella pneumonia Terhadap Antibiotik dari Sampel Sputum dan Pus pada Bulan April sampai Juni 2019 di RSUD. Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung”**.

## **PERSEMBAHAN**

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayahnya sehingga penulis diberikan kesehatan, kekuatan, kesabaran dan rejeki dalam bentuk apapun sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Saya persembahkan karya ini sebagai bentuk terimakasih dan rasa cinta kepada semua pihak yang telah berjasa dalam perjalanan hidupku.

Kedua orang tuaku, Bapak Rokhani dan Ibu Syamsiah yang telah memberikan banyak cinta kasih sayang, mendo'akan, memberikan nasihat, mendidik dan memberikan dukungan kepada saya.

Kepada adik kecilku Ahmad Rifki Rolanda serta keluarga besarku yang selalu mendukung, memberikan nasihat dan kebahagiaan untuk saya tanpa kalian mungkin aku tidak akan kuat sampai pada titik ini.

Orang-orang yang telah memberiku motivasi dan selalu mengingatkan untuk selalu kuat bertahan, memberikanku banyak pelajaran hidup yang tidak hanya manis ini, memberiku banyak pelajaran akan arti kata kesabaran, dan selalu menemani saya saat susah maupun senang.

## MOTTO

*“Boleh jadi kamu membenci sesuatu padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi pula kamu menyukai sesuatu padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui sedang kamu tidak mengetahui”*

(Al-Baqarah: 216)

*“No pain no gain”*

*“Jalani saja semua pasti akan berlalu”*

*“Cukup perasaan yang disia-siakan waktu jangan”*

*“Apapun masalahnya tidur solusinya”*

*“Telat bukan berarti berhenti”*

(Vidia Royanti)

## SANWACANA

Alhamdulillahirabbila'lamin, berkat rahmat dan hidayah Allah SWT penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“Keanekaragaman *Bacillus* dari Tanah Kebun Raya Liwa”** Karya tulis ini ditunjukkan sebagai syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis ucapkan banyak terimakasih kepada pihak yang telah berperan penting dalam proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi. Antara lain kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M. T. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung;
2. Bapak Drs. M. Kanedi, M. Si. selaku ketua jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
3. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S. Si., M. Si. selaku kepala program studi S1 Biologi sekaligus pembimbing I yang telah memberikan penulis topik penulisan skripsi serta pendanaan dalam proyek penelitian. Tak lupa penulis ucapkan banyak terimakasih karena dengan sabar dalam memberikan banyak masukan dan arahan dalam penelitian maupun penulisan skripsi;
4. Ibu Dra. Christina Nugroho Ekowati, M. Si. selaku pembimbing II yang telah bersedia memberikan penulis masukan, arahan, bimbingan serta nasehat selama penelitian dan penulisan skripsi;

5. Bapak Dr. Sumardi, M. Si. Selaku pembahas yang telah memberikan banyak arahan serta memberikan pembahasan yang menambah wawasan dalam skripsi ini;
6. Ibu Dra. Elly Lestari Rustiati, M. Sc. Selaku pembimbing akademik yang telah memberikan arahan kepada penulis;
7. Terkhusus untuk Ibu Oni Mastuti, S. Si. selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi yang selalu memberikan penulis dukungan dan motivasi untuk tetap semangat dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini;
8. Terkhusus untuk kedua orang tua penulis bapak Rokhani dan ibu Syamsiah yang selalu memberikan dukungan, nasihat, cuan, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini;
9. Adik tercinta Rifki Rolanda selaku adik penulis yang selalu memberikan keceriaan kepada penulis sehingga memiliki semangat dalam penyusunan skripsi ini;
10. Terkhusus Rio Sandi Alvian yang selalu menemani, membantu dan memberikan semangat kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini;
11. Teman-teman yang selalu memberikan semangat, bantuan, pelajaran dan motivasi Nur Vita Sari, Ellisa, Suci Kusumawardani, Messy Miranda, Ulin, Feni, Dias, Rina, Mica, Agung;
12. Teman-teman selama penelitian di Laboratorium Mikrobiologi generasi 2017 (*Mintuy*) dan yang terkhusus teman satu tim penelitian BKS (Ria, Suci, Lisa, Indri, Fadlina) yang selalu memberikan semangat dan bantuan kepada penulis selama penelitian;
13. Teman-teman satu angkatan keluarga besar Biologi 2017 dan terkhusus teman-teman Biologi 2017 kelas A yang selalu menemani penulis selama masa perkuliahan;
14. Teman setia yang selalu menemani penulis dalam penyusunan skripsi ini serta memberikan semangat kepada penulis Emon, Rayyanza (*Cipung*), Tiktok

15. Semua pihak yang terlibat dan tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini;

Bandar Lampung, Agustus 2022

Vidia Royanti

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	vi
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	viii
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	ix
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	x
<b>MOTTO</b> .....	xi
<b>SANWACANA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xviii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Kerangka Pikir .....	4
1.6 Hipotesis.....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Kebun Raya Liwa .....	6
2.2 Keanekaragaman <i>Bacillus</i> .....	7
2.2.1 Deskripsi <i>Bacillus</i> .....	7
2.2.2 Keanekaragaman.....	8
2.2.3 Habitat dan Ciri Khusus Enzim <i>Bacillus</i> .....	10
2.3 Manfaat <i>Bacillus</i> .....	11
2.3.1 Biodeterjen .....	11
2.3.2 Biokontrol.....	12
2.3.3 Biodegradasi .....	12

<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
3.1 Waktu dan Tempat.....	14
3.2 Alat dan Bahan .....	14
3.3 Metode Penelitian .....	15
3.4 Prosedur Kerja .....	15
3.4.1 Pengambilan Sampel.....	15
3.4.2 Isolasi dan Pengenceran sampel.....	16
3.4.3 Perhitungan.....	17
3.4.4 Pemurnian.....	18
3.4.5 Karakterisasi Bakteri .....	18
3.4.6 Uji Fisiologis Bakteri.....	19
3.4.7 Karakter enzimatik.....	19
3.4.8 Uji Biokimia .....	21
3.4.9 Diagram Alir .....	22
3.4.10 Analisis Data.....	23
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Hasil .....	24
4.1.1 Hasil uji morfologi koloni bakteri.....	24
4.1.2 Hasil uji pengecatan Gram dan pengecatan spora.....	26
4.1.3 Hasil uji katalase, KOH dan motilitas .....	27
4.1.4 Hasil perhitungan Total bakteri menggunakan perhitungan Angka Lempeng Total(ALT).....	28
4.1.5 Hasil Perhitungan Keanekaragaman Bakteri Menggunakan Perhitungan Shanon Wiener.....	29
4.1.6 Hasil uji enzimatik .....	30
4.1.7 Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat .....	31
4.2 Pembahasan .....	32
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>39</b>
5.1 KESIMPULAN .....	39
5.2 SARAN .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>44</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil uji morfologi koloni bakteri.....	24
2. Hasil uji pengecatan Gram dan spora.....	26
3. Hasil uji katalase, KOH, dan Motilitas.....	27
4. Hasil uji enzimatik.....	30
5. Hasil uji fermentasi karbohidrat.....	31
6. Hasil perhitungan indeks Shanon Wiener koloni bakteri TMA.....	44
7. Hasil perhitungan indeks Shanon Wiener koloni bakteri TSR.....	46
8. Hasil perhitungan indeks Shanon Wiener koloni bakteri BP.....	48
9. Hasil perhitungan indeks Shanon Wiener koloni bakteri TB.....	49
10. Hasil perhitungan indeks Shanon Wiener koloni bakteri TBA.....	50
11. Hasil perhitungan koloni bakteri (Total Plate Count) TMA.....	51
12. Hasil perhitungan koloni bakteri (Total Plate Count) TBA.....	51
13. Hasil perhitungan koloni bakteri (Total Plate Count) BP.....	52
14. Hasil perhitungan koloni bakteri (Total Plate Count) TB.....	52
15. Hasil perhitungan koloni bakteri (Total Plate Count) TSR.....	52

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kebun Raya Liwa.....	6
2. Peta Kebun Raya Liwa.....	16
3. Diagram alir.....	22
4. Bentuk koloni bakteri.....	25
5. Hasil pengecatan Gram dan spora.....	26
6. Hasil uji katalase.....	27
7. Hasil uji motilitas.....	27
8. Diagram hasil perhitungan rata-rata ALT .....	28
9. Diagram hasil perhitungan keanekaragaman.....	29
10. Hasil uji enzimatik.....	30
11. Hasil uji fermentasi karbohidrat.....	31
12. Bentuk koloni bakteri.....	53
13. Gram positif BP 14.....	54
14. Gram positif BP 16.....	54
15 Gram positif TB 7.....	54
16. Gram positif TSR 5.....	54
17. Hasil pengecatan spora.....	55
18. Hasil uji katalase BP 14 (+).....	56
19. Hasil uji katalase TMA 13 (+).....	56
20. Hasil uji katalase TSR 5 (+).....	56
21. Hasil uji katalase TSR 6 (+).....	56
22. Hasil uji katalase TSR 1 (-).....	56
23. Hasil uji motilitas BP 14.....	57

24. Hasil uji motilitas BP 16.....	57
25. Hasil uji motilitas TB 5.....	57
26. Hasil uji motilitas TB 7.....	57
27. Hasil uji motilitas TBA 4.....	57
28. Hasil uji motilitas TBA 7.....	57
29. Hasil uji motilitas TMA 13.....	58
30. Hasil uji motilitas TMA 26.....	58
31. Hasil uji motilitas TSR 5.....	58
32. Hasil uji motilitas TSR 6.....	58
33. Hasil uji KOH .....	58
34. Enzim selulase .....	59
35. Enzim protease.....	59
36. Enzim kitinase.....	59
37. Enzim lipase.....	59
38. Glukosa TSR 6.....	60
39. Laktosa TBA 4.....	60
40. Sukrosa TMA 26.....	60
41. Kegiatan penuangan media.....	60
42. Kegiatan pengamatan hasil pengecatan Gram dan spora.....	60

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kebun Raya Liwa merupakan salah satu tempat pengelolaan tanaman hias yang terletak di desa Pekon Kubu Perahu, kecamatan Balik Bukit, Liwa-kabupaten Lampung Barat dengan memiliki luas lahan 86 ha. Kawasan Kebun Raya Liwa terletak pada ketinggian antara 890-948 mdpl pada ketinggian ini termasuk kedalam daerah perbukitan, pada daerah Liwa memiliki iklim suhu yang sejuk dingin dengan kisaran suhu sekitar 17°C-25°C. Kebun Raya Liwa memiliki kondisi topografi yang bervariasi, hal ini dapat memicu adanya keragaman mikroorganisme tanah salah satunya bakteri *Bacillus*.

*Bacillus* memiliki bentuk batang, lurus atau sedikit melengkung, Gram positif dan memiliki sifat aerobik. *Bacillus* juga memiliki endospora sebagai bentuk pertahanan diri. (Whitman,2009). Menurut Putra dan Giyanto, 2014 *Bacillus* sp. termasuk kedalam marga *Bacillus*, *Bacillus* mempunyai kemampuan beradaptasi dengan lingkungan yang memiliki suhu ekstrim. *Bacillus* memiliki kemampuan untuk menghasilkan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Sumardi dkk, 2012). Terdapat beberapa jenis *Bacillus* diantaranya adalah *Bacillus* sp. *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*.

Bakteri *Bacillus subtilis* termasuk kedalam salah satu jenis bakteri *Bacillus* Gram positif yang dapat membentuk endospora yang memiliki bentuk oval pada bagian sentral sel. Bakteri ini sering ditemukan di tanah,

air, udara dan tumbuh-tumbuhan (Aini dkk, 2013). Menurut Yempita Efendi dkk (2017), bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai kemampuan menghasilkan enzim proteolitik ekstraseluler.

*Bacillus thuringiensis* salah satu jenis bakteri *Bacillus* yang dapat memproduksi kristal protein pada saat sporulas. Kristal protein merupakan ciri khas bakteri *Bacillus thuringiensis*, bersama pembentukan spora yang terbentuk. Kristal protein merupakan protoksin dimana jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi poli-peptida yang lebih pendek serta memiliki sifat insektidal (Mafazah Afriha dan Zulaika Enny, 2017).

Terdapat beberapa jenis *Bacillus* yang dapat ditemui di tanah atau di akar tanaman beserta ciri khusus diantaranya ada *Bacillus azotofixans* yang biasa ditemukan pada akar merupakan organisme Rhizofe dan dapat mengikat nitrogen, *Bacillus cereus* bakteri yang dapat ditemukan di tanah dan dapat menghasilkan antibiotik dan enzim, *Bacillus circulans* bakteri yang dapat ditemukan di tanah serta dapat menghasilkan antibiotik dan enzim, *Bacillus subtilis* bakteri yang dapat ditemukan di tanah serta dapat menghasilkan antibiotik, enzim, asam amino, dan komponen lain, *Bacillus thuringiensis* bakteri yang dapat ditemukan di tanah merupakan bakteri patogen terhadap serangga (Hatmanti, 2000).

Menurut Suliasih, (2010) dalam penelitiannya di Kebun Raya Cibodas Bakteri *Bacillus* banyak ditemukan pada semua jenis tanah di sekitaran perakaran tanaman obat yang di amati. Di daerah Cibodas sendiri memiliki suhu kisaran 22°C-24°C.

Menurut Khulillah, (2019) ditemukan satu genus *Bacillus* yang diisolasi dari tanah kota Batu yang banyak di temukan pada lahan organik. Pada daerah ini memiliki suhu minimum 18°C-24°C dan suhu maksimum 28°C-32°C dengan kelembaban udara sekitar 75-98%.

pada daerah Liwa memiliki iklim suhu yang sejuk dingin dengan kisaran Sedangkan menurut BMKG iklim suhu pada daerah Lampung Barat terutama suhu sekitar 17°C-25°C dengan kelembaban bisa mencapai 100%. Hal ini menunjukkan pada daerah Liwa Lampung Barat memiliki suhu yang tidak jauh berbeda dengan suhu yang ada di daerah Cibodas dan kota Batu yang mana pada kedua daerah tersebut telah ditemukan isolat *Bacillus* yang menunjukan bahwa bakteri *Bacillus* mampu tumbuh pada suhu rendah atau dingin.

*Bacillus* dapat tumbuh pada suhu panas 45-55°C dan pada suhu rendah 5-20°C. Bakteri *Bacillus* tidak sensitif terhadap keadaan suhu yang sensitif atau minimum sehingga bakteri ini dapat tumbuh pada suhu rendah hingga mencapai suhu 4°C namun *Bacillus* dapat tumbuh secara optimal pada suhu 37°C (Sari, N. A, dkk, 2011).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ditemukan *Bacillus*?
2. Bagaimana karakteristik bakteri *Bacillus* yang ditemukan di tanah Kebun Raya Liwa?
3. Bagaimana keanekaragaman *Bacillus* dalam setiap jenis tanah?
4. Apa saja enzim yang dihasilkan dari *Bacillus* yang ditemukan di tanah Kebun Raya Liwa?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu

1. Mengetahui keanekaragaman *Bacillus* yang terdapat di Tanah Kebun Raya Liwa.
2. Mendapatkan keanekaragaman isolat *Bacillus* dari tanah Kebun Raya Liwa dengan karakter morfologi, fisiologi, dan biokimia

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi yang terdapat pada isolat *Bacillus* sp. yang diperoleh dari tanah Kebun Raya Liwa yang dapat digunakan sebagai biokontrol pengganggu tanaman serta sebagai biodegradasi sampah organik yang ada di Kebun Raya Liwa.

#### 1.5 Kerangka Pikir

*Bacillus* salah satu bakteri yang berbentuk batang dan Gram positif, serta memiliki sifat aerob namun ada beberapa species juga yang memiliki sifat anaerob fakultatif. *Bacillus* juga memiliki endospora sebagai pertahanan diri dari lingkungan. *Bacillus* memiliki kemampuan beradaptasi dengan lingkungan yang cukup bagus sehingga dapat dijumpai di daerah rhizofe. Terdapat beberapa jenis *Bacillus* diantaranya adalah *Bacillus* sp. *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*.

Bakteri *Bacillus* banyak ditemukan di tanah dan sekitar akar tanaman bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu antara 45-55°C dengan suhu minimum 5-20°C, namun bakteri *Bacillus* tidak sensitif terhadap keadaan suhu yang sensitif atau minimum sehingga bakteri ini dapat tumbuh pada suhu rendah hingga pada suhu 4°C. Sehingga untuk daerah Liwa yang memiliki kisaran suhu 17°C-25°C bakteri *Bacillus* masih dapat tumbuh dengan baik.

Terdapat beberapa jenis *Bacillus* yang dapat ditemui di tanah atau di akar tanaman beserta ciri khusus diantaranya ada *Bacillus azotofixans* yang biasa ditemukan pada akar merupakan organisme Rhizofe dan dapat mengikat nitrogen, *Bacillus cereus* bakteri yang dapat ditemukan di tanah dan dapat menghasilkan antibiotik dan enzim, *Bacillus circulans* bakteri yang dapat ditemukan di tanah serta dapat menghasilkan antibiotik dan enzim, *Bacillus subtilis* bakteri yang dapat ditemukan di tanah serta dapat

menghasilkan antibiotik, enzim, asam amino, dan komponen lain, *Bacillus thuringiensis* bakteri yang dapat ditemukan di tanah merupakan bakteri patogen terhadap serangga.

*Bacillus* dapat menghasilkan enzim kitinase, lipase serta protease. Selain itu *Bacillus* dapat menghasilkan enzim selulase dan kitinase untuk mendegradasi bahan penyusun.

## 1.6 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu

1. Terdapat keanekaragaman *Bacillus* dari beberapa sampel tanah di Kebun Raya Liwa.
2. Isolat *Bacillus* dari tanah Kebun Raya Liwa memiliki karakter morfologi, fisiologi dan biokimia yang beragam.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kebun Raya Liwa



Gambar 1. Kebun Raya Liwa (kebun raya daerah.krbogor.lipi.go.id)

Indonesia sebagai negara yang memiliki lahan perkebunan yang subur dengan berbagai jenis tanaman, salah satu contohnya tanaman hias. Pada masa sekarang ini tanaman hias banyak digemari oleh berbagai kalangan. Tempat pengelolaan tanaman hias sudah banyak dikembangkan, salah satunya Kebun Raya Liwa yang memiliki tema “Tanaman Hias Indonesia”. Terletak di desa pekon kubu perahu, kecamatan Balik Bukit, Liwa kabupaten Lampung Barat, dengan memiliki luas lahan 86 ha.

Dengan ketinggian 890-948 mdpl, dimana pada ketinggian ini termasuk kedalam daerah perbukitan, dimana proses erosi yang sudah lanjut serta besarnya material yang terangkut (*sediment load*) yang akan menyebabkan semakin cepatnya daerah ini mengalami kemiskinan unsur hara tanah. Hal ini mengakibatkan daya simpan air pada daerah ini sangat kecil, yang menyebabkan fluktuasi aliran permukaan (*run off*) semakin besar. Sehingga di tanah Kebun Raya Liwa memiliki kondisi topografi yang bervariasi sehingga memiliki kondisi tanah yang berbeda-beda, hal ini

yang memicu adanya keragaman mikroorganisme tanah salah satunya bakteri *Bacillus* yang terdapat disetiap titik tanah yang ada di Kebun Raya Liwa. Kebun Raya Liwa ini sudah dibuka sejak tahun 2017 dibawah Dinas Kehutanan yang terfokuskan pada koleksi tanaman hias Indonesia. Koleksi tanaman di Kebun Raya Liwa ini diperoleh dengan adanya kegiatan eksplorasi tumbuhan ataupun perbanyak tanaman dengan pembibitan sebanyak 596 jenis (3.959 spesimen), kebun 76 jenis (418 spesimen), Anggrek 596 jenis (3.959 spesimen) (lipi, 2016).

## 2.2 Keanekaragaman *Bacillus*

### 2.2.1 Deskripsi *Bacillus*

*Bacillus* sp. termasuk kedalam marga *Bacillus*, *Bacillus* memiliki kemampuan beradaptasi yang cukup baik dilingkungan sehingga banyak dijumpai di alam pada daerah rhizofe (Putra dan Giyanto, 2014). *Bacillus* memiliki bentuk batang, lurus atau sedikit melengkung, termasuk bakteri Gram positif dan memiliki sifat aerobik. Bakteri *Bacillus* ini juga memiliki endospora sebagai bentuk pertahanan diri, endospora yang dihasilkan seperti sentral, sub terminal, dan terminal (Whitman, 2009).

Menurut Whitman (2009) bakteri *Bacillus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: <i>Bacillus</i>
Jenis	: <i>Bacillus</i> sp.

Bakteri *Bacillus* dapat menghasilkan enzim kitinase dan protease yang dapat mendradasi telur dan larva sehingga dapat menghambat pertumbuhannya. Serta dapat mengeluarkan zat volatil yang dapat mematikan fase telur (Chi Yea dkk, 2009 dan Ghaesmi dkk 2010).

### 2.2.2 Keanekaragaman

Pada suatu ekosistem perlu diketahui keberagaman serta total populasi mikroba yang dapat digunakan sebagai salah satu indikator kesuburan tanah. Penurunan total mikroba dan keragaman mikroba tanah dapat dijadikan sebagai indikasi awal adanya gangguan yang terjadi pada kualitas ekosistem (Lin dkk, 2012). Terdapat beberapa jenis *Bacillus* diantaranya adalah *Bacillus* sp. *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus polymyxa*.

Bakteri *Bacillus subtilis* salah satu jenis bakteri *Bacillus* Gram positif yang dapat membentuk endospora yang memiliki bentuk oval pada bagian sentral sel. Bakteri ini sering ditemukan di tanah, air, udara dan tumbuh-tumbuhan (Aini dkk, 2013). Menurut Yempita Efendi dkk (2017), bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai kemampuan menghasilkan enzim proteolitik ekstraseluler. dalam penelitiannya terdapat diameter zona hambat yang terbentuk yang menunjukkan tingginya kemampuan proteolitik enzim protease yang dihasilkan atau tingginya jumlah enzim yang diproduksi.

Contoh lainnya terdapat *Bacillus thuringensis* salah satu jenis bakteri *Bacillus* gram-positif dengan bentuk batang yang dapat memproduksi kristal protein pada saat sporulasi. Kristal protein merupakan ciri khas bakteri *Bacillus thuringiensis*, dimana kemampuannya dalam membentuk kristal bersama pembentukan spora ialah pada saat sel mengalami sporulasi. Kristal tersebut adalah kompleks protein yang mengandung toksin ( $\delta$ -endotoksin) yang terbentuk didalam sel 2-3 jam

setelah akhir fase eksponensial dan baru keluar dari sel pada waktu sel mengalami sporulasi. Kristal protein merupakan protoksin dimana jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi poli-peptida yang lebih pendek serta memiliki sifat insektidal (Mafazah Afriha dan Zulaika Enny, 2017).

Terdapat beberapa jenis *Bacillus* yang dapat menghasilkan enzim protease yang bersifat basa diantaranya adalah *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus alocalophilus*, *Bacillus brevis*, *Bacillus clausii*, *Bacillus halodurans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus lentus*, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus stearothermophilus*. Bakteri *Bacillus* dapat bertahan hidup dalam suhu ekstrim dan tinggi dalam habitatnya seperti di mata air panas, kawah gunung berapi, panas bumi, lumpur panas, pertambangan, pengomposan dan laut dalam pada suhu antara 60-80°C dengan suhu optimal 70°C (Arzita dkk, 2017).

Beberapa jenis *Bacillus* dapat menghasilkan enzim lipase. Bakteri *Bacillus* banyak diproduksi karena mudah ditumbuhkan serta memiliki kemampuan replikasi yang cepat dan tidak membutuhkan substrat (Carrasco-Lopez dkk, 2009) selain itu bakteri *Bacillus* juga dapat menghasilkan endospora sehingga dapat bertahan pada lingkungan yang ekstrim, kemampuan dalam menghasilkan protein ekstraseluler yang tinggi, dapat memproduksi biofilm dan antibiotik, dan hasil dari sampling metabolik yang rendah (Cho dkk, 2018). Jenis *Bacillus* yang digunakan dalam produksi lipase diantaranya adalah *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquifaciens*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus velezensis* (Suci dkk, 2018).

Enzim kitinase dapat dihasilkan dari beberapa jenis bakteri *Bacillus* diantaranya adalah *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus licheniformis*. Salah satu jenis bakteri *Bacillus cereus* dapat menghasilkan kitinase yang bersifat antifungi (Kuzu dkk, 2012.,

Hammami dkk., 2013., Suryadi dkk, 2013., Karthink dkk, 2015 dan Keliat dkk, 2016).

Enzim selulase merupakan enzim yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa dan menghasilkan gula pereduksi sebagai produk (Behera dkk, 2017). Bakteri *Bacillus subtilis* adalah salah satu jenis bakteri yang menghasilkan enzim selulose yang banyak digunakan dalam pengolahan material lignoselulosa (Amit dkk, 2018). Selain *Bacillus subtilis* terdapat jenis *Bacillus circulans* yang dapat menghasilkan enzim selulase yang dapat tumbuh dalam kondisi basa pada saat produksi selulase (Susanti, 2011).

### **2.2.3 Habitat dan ciri khusus enzim *Bacillus***

Terdapat beberapa jenis *Bacillus* yang ditemukan di beberapa habitat beserta ciri khususnya diantaranya ada *Bacillus* sp. bakteri yang dapat ditemukan di tanah dan dapat menghasilkan enzim protease, enzim selulase, enzim lipase, enzim kitinase, *Bacillus amyloliquefaciens* berasal dari tanah dan mampu menghasilkan enzim amilase, *Bacillus cereus* bakteri yang berasal dari tanah dan mampu menghasilkan antibiotik dan enzim kitinase, *Bacillus circulans* bakteri yang berasal dari tanah yang dapat menghasilkan antibiotik dan enzim selulase, *Bacillus flexus* bakteri yang berasal dari tanah yang mampu menghasilkan enzim protease, *Bacillus subtilis* bakteri yang berasal dari tanah yang mampu menghasilkan antibiotik, enzim selulase, enzim protease, enzim kitinase, asam amino, *Bacillus thuringiensis* bakteri yang berasal dari tanah yang merupakan bakteri patogen terhadap serangga dan dapat menghasilkan enzim protease, enzim kitinase, enzim lipase, *Bacillus licheniformis* bakteri yang dapat ditemukan pada tanah yang memiliki kemampuan menghasilkan antibiotik dan enzim protease (Hatmanti, 2000).

## 2.3 Manfaat *Bacillus*

### 2.3.1 Biodeterjen

Biodetergen merupakan detergen yang digunakan untuk mencuci pakaian yang terdapat kandungan enzim, enzim yang biasa digunakan berasal dari bakteri salah satu bakteri yang digunakan adalah bakteri *Bacillus*. Bakteri *Bacillus* memiliki banyak manfaat salah satunya sebagai biodeterjen menggunakan protease dan lipase yang dihasilkan dari bakteri *Bacillus* menurut Amara dkk (2009) menggunakan enzim protease dan lipase sebagai biodeterjen yang dapat berdiri sendiri tanpa harus menggunakan bahan kimia tambahan. Karena enzim protease berfungsi untuk menghidrolisa noda protein, kotoran yang memiliki kandungan protein seperti darah, lendir dan kringat akan mudah untuk dicuci. Protease yang terdapat deterjen bekerja pada pH alkali dan suhu yang cukup tinggi. Alkali protease digunakan aditif pada deterjen karena memiliki kemampuan yang bersifat biodegradable. Enzim protease juga dapat digunakan sebagai pencuci sarang burung walet sebagai pengganti bahan kimia hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang diketahui sebagai bahan pemutih yang bersifat alami dan aman bagi tubuh (Rahayu dkk, 2013). Deterjen ramah lingkungan pun diharapkan dapat digunakan oleh masyarakat sebagai kesadaran dalam menjaga keseimbangan ekosistem lingkungan (Nurkomalawati, 2011).

Enzim lipase yang terkandung dalam *Bacillus* dapat dimanfaatkan sebagai biodetergen. Lipase sendiri merupakan enzim lipolitik yang larut dalam air dan dapat bekerja dalam emulsi minyak dalam air. Enzim ini mengkatalis hidrolisis lemak dan minyak menjadi gliserol dan asam lemak dengan adanya air.

### 2.3.2 Biokontrol

Menurut sopialena (2018) pengendalian biologi atau biokontrol adalah suatu pengendalian terhadap organisme penggagu tumbuhan (OPT) dengan memanfaatkan agnesia hayati. Dalam hal ini mikrobiologi dapat digunakan sebagai agnesia salah satu contohnya bakteri *Bacillus* sp., biokontrol yang dilakukann salah satu upaya yang dapat digunakan dalam mengendalikan hama penyakit pada tanaman dengan menggunakan bakteri antagonis dari tanah. Terdapat banyak genus yang diunakan sebagai agen pengendali hayati untuk mengurangi penggunaan pestisida dan pupuk untuk tanaman, salah satunya dengan memanfaatkan *Bacillus* sebagai agen biokontrol karena dapat menghasilkan endospora dan menghasilkan toksinserta enzim ekstraseluler yang berfungsi sebagai pendegradasi struktur tubuh hama dan penyakit pada tanaman. Pada *Bacillus* terdapat aktivitas lipolitik yang digunakan sebagai agen pendegradasi struktur tubuh serangga hama ataupun penyakit yang mengandung substrat lipid (Mampallil, 2017)

### 2.3.3 Biodegradasi

Biodegradasi adalah suatu proses pengolahan limbah secara biologis dengan sistem pengolahan yang diarahkan untuk menurunkan kandungan organik yang terkandung dalam air limbah dengan memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk menguraikan substrat menjadi bentuk yang lebih sederhana. Mikroorganisme menguraikan limbah organik menjadi senyawa organik sederhana dengan mengkonversinya menjadi bentuk gas karbondioksida (CO<sub>2</sub>), metana (CH<sub>4</sub>), hidrogen (H<sub>2</sub>), dan hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S), serta air (H<sub>2</sub>O) maupun energi yang diperuntukan dalam proses pertumbuhan dan reproduksinya. Salah satu jenis mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan dalam biodegradasi adalah *Bacillus* yang mampu memanfaatkan bahan organik yang terkandung dalam limbah dengan

cara melepaskan enzim untuk dapat menguraikan senyawa organik untuk menghasilkan produk sampingan berupa gas karbondioksida ( $\text{CO}_2$ , metana ( $\text{CH}_4$ ), hidrogen ( $\text{H}_2$ ), dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) serta energi untuk menunjang aktivitas metabolisme. Karakteristik enzim yang dihasilkan dari *Bacillus* adalah *selulolitik*, *proteolitik*, *lipolitik*, *amilolitik* (Retnosari, Andarini Ayu dan Shovitri Maya, 2013).



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2021 sampai dengan Januari 2022 di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut : kantung plastik, penangas air, tabung reaksi, autoclave, *glass beads*, cawan petri, ose bulat, ose runcing, inkubator, tisu, spatula, neraca digital, pipet volumetri, aluminium foil, rak tabung, kain nilon, *vortex*, *magnetic stirrer*, *hot plate magnetic stirrer*, *waterbath shaker*, *Laminar Air Flow (LAF)*, *oven*, *beaker glass*, labu Erlenmeyer, pipet tetes, *microtip*, *micropipet*, gelas objek, gunting, sarung tangan, masker, dan mikroskop.

Bahan yang digunakan adalah sebagai berikut : sampel tanah dari Kebun Raya Liwa, alkohol 70%, media skim milk agar (SMA), media Nutrient Agar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, agar-agar kitin 0,3% (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.02%, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0.1%, koloidal kitin 0.3 %, ekstrak khamir 0.1%, agar-agar 2%, *olive oil* steril 5 %, Tween-80 2,5%, NaCl 5 g, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,1 g, metil merah 0,01%, pepton 10 g, *Nutrient Agar*, CMC 1%, NaCl 2 M.), KOH 3%, CMC, glukosa, sukrosa, lactosa, Nutrient Broth.

### 3.3 Metode Penelitian

Sampel tanah diambil sebanyak sepuluh titik dengan menggunakan metode *stratified random sampling* dengan jarak yang berbeda dan kondisi tanah yang berbeda-beda. Kemudian dilakukan pengenceran selanjutnya isolat dimurnikan dan dikarakterisasi untuk melihat morfologi koloni seperti ukuran koloni, warna koloni, bentuk elevasi koloni dan tepi koloni. Kemudian dilakukan pengecatan Gram dan pengecatan spora untuk melihat bentuk sel pada koloni. Selanjutnya dilakukan uji katalase, uji motilitas, uji enzimatik.

### 3.4 Prosedur Kerja

#### 3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari tanah Kebun Raya Liwa sebanyak 5 jenis tanah dengan 10 titik yang berbeda menggunakan metode *Stratified Random Sampling* dengan jarak yang berbeda dan kondisi tanah yang berbeda-beda. seperti tanah biopori yang diambil pada halaman depan gedung kantor pengelola Kebun Raya Liwa, tanah miring *aracceae* yang diambil di bagian taman arase pada lereng, tanah biasa yang diambil pada sekitar gedung kantor pengelola Kebun Raya Liwa, tanah biasa *aracceae* yang diambil disekitar taman arase pada tanah datar, tanah serasah yang diambil di belakang gedung utama. Sampel tanah kemudian di masukan dalam plastik yang selanjutnya dibawa ke Laboratorium mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung.



Gambar 2. Peta Kebun Raya Liwa ([kebunrayadaerah.krbogor.lipi.go.id](http://kebunrayadaerah.krbogor.lipi.go.id))

### 3.4.2 Isolasi dan Pengenceran sampel

Sampel tanah yang diambil dari sepuluh titik yang berbeda sebanyak 1 gram sampel tanah dengan masing-masing sampel dua kali pengulangan, kemudian sampel tanah yang telah di timbang di masukan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml garam fisiologi, kemudian di vortex sampai sampel homogen dengan larutan garam fisiologis kemudian suspensi di panaskan didalam waterbath selama 15 menit dengan suhu  $75^{\circ}\text{C} - 80^{\circ}\text{C}$ , selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat sampai dengan pengenceran  $10^{-5}$ , kemudian diambil pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$  untuk di inokulasikan kedalam cawan yang berisi media *Nutrient Agar* (NA) dengan menggunakan metode pour plate. Kemudian di inkubasi selama 24 jam dan di lihat koloni yang tumbuh serta di amati pertumbuhan koloninya. Koloni yang tumbuh dengan ciri-ciri berwarna putih sampai kekuningan atau putih suram, tepi koloni yang tidak rata, permukaan (Hatmanti, 2000).

### 3.4.3 Perhitungan

#### 3.4.3.1 Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT)

Setelah di isolasi selama 24 jam dilakukan pengamatan dengan melihat bentuk koloni dan dilakukan perhitungan jumlah koloni pada cawan dengan menggunakan perhitungan ALT (Angka Lempeng Total) dengan ketentuan sebagai berikut :

- Jumlah koloni pada setiap cawan petri antara 30-300 koloni.
- Ukuran suatu koloni tidak boleh menutupi lebih dari setengah luas cawan petri atau yang sering dikenal dengan spreder.
- Pada perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran yang sebelumnya, namun jika ditemukan yang sama atau lebih besar dari 2 maka hasilnya dirata-rata. Namun jika ditemukan hasil lebih besar dari 2 maka digunakan hasil dari pengenceran sebelumnya.

#### 3.4.3.2 Perhitungan Shanon Wiener

Untuk mengetahui nilai keberagaman dilakukan dengan mengacu indeks Shanon Wiener dengan rumus sebagai berikut :

$$H' = -\sum_{i=1}^S \left[ \left( \frac{n_i}{N} \right) \ln \left( \frac{n_i}{N} \right) \right]$$

$$H' = -\sum \left[ \left( \frac{n_i}{N} \right) \ln \left( \frac{n_i}{N} \right) \right]$$

Keterangan :

$H'$  = indeks keragaman

$S$  = jumlah karakter bakteri yang berbeda

$N_i$  = jumlah individu koloni

$N$  = total jumlah individu semua koloni (Karyaningsih & Hendrayana, 2021).

Menurut (Tarecha, Soleman, & Riyanto, 2019) ketentuan yang harus diperhatikan dalam perhitungan keanekaragaman yang mengacu pada indeks Shanon Wiener adalah sebagai berikut :

-Jika nilai  $H' < 1$  maka keanekaragaman koloni pada suatu jenis tanah rendah/sedikit.

-Jika nilai  $1 \leq H' \leq 3$  maka keanekaragaman koloni bakteri pada suatu tanah melimpah sedang.

-Jika nilai  $H > 3$  maka keanekaragaman koloni bakteri pada suatu tanah melimpah tinggi.

#### **3.4.4 Pemurnian**

Pemurnian dilakukan untuk memperoleh suatu biakan murni tanpa adanya kontaminan dari mikroba lainnya. Pemurnian dilakukan dengan memilah koloni yang berbeda morfologi koloni, warna, elevasi, tekstur permukaan sehingga akan mendapatkan isolat murni. pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan cara memindahkan bakteri dengan metode streak, yaitu dengan cara menggoreskan 1 ose pada media *Nutrient Agar* kemudian diisolasi selama 24 jam.

#### **3.4.5 Karakterisasi Bakteri**

Uji karakterisasi bakteri yang dilakukan adalah sebagai berikut :

##### **3.4.5.1 Morfologi Koloni**

Setelah didapatkan isolat murni kemudian dilakukan uji morfologi koloni dengan cara melihat ukuran koloni, warna koloni, bentuk elevasi koloni dan tepi koloni.

##### **3.4.5.2 Morfologi sel**

Selain melihat morfologi koloni kemudian dilakukan morfologi sel dengan cara pewarnaan gram untuk melihat bentuk sel dan pengecatan spora.

### 3.4.6 Uji Fisiologis Bakteri

Uji fisiologi bakteri yang dilakukan adalah sebagai berikut :

#### 3.4.6.1 Uji katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara diteteskan isolat bakteri yang telah diinokulasikan pada objek glass dengan larutan  $H_2O_2$  3% sebanyak 2-3 tetes. Sifat reaksi yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya gelembung-gelembung gas yang mengindikasikan bahwa bakteri menghasilkan enzim katalase dan mampu memecah hidrogen peroksida menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Benson, 2001)

#### 3.4.6.2 Uji motilitas

Pada uji motilitas ini bertujuan untuk mengetahui bakteri bersifat motil atau tidak. Uji motilitas dilakukan dengan cara menusukan inokulasi bakteri pada media semi padat *Nutrient Agar* kemudian diisolasi selama 24 jam. Bakteri yang bersifat motil akan terlihat penyebaran bakteri pada media namun jika bakteri tidak bersifat motil tidak akan ada penyebaran pada media (Benson, 2001).

#### 3.4.6.3 Uji KOH

Pada uji KOH bertujuan untuk mengetahui jenis Gram, uji KOH dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri kemudian diletakan pada objek glass kemudian ditambahkan 1 tetes KOH 3%. Suspensi kemudian diaduk selama 1 menit menggunakan ose kemudian ose ditarik dengan perlahan. Hasil pengamatan diketahui jika bakteri Gram negatif maka menghasilkan lendir dan jika hasil Gram positif tidak menghasilkan lendir (Yusril.M.H. dkk, 2020).

### 3.4.7 Karakter enzimatik

#### 3.4.7.1 Uji protease

Pada uji protease isolat bakteri di remajakan pada media *Nutrient Agar* (NA) selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian untuk uji

kualitatif aktivitas enzim protease dilakukan dengan menginokulasikan isolat *Bacillus* sp. dengan menggunakan metode titik pada media *skimMilk Agar* (SMA). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening pada sekitar koloni bakteri (Menurut Yuniati dkk., 2015).

#### **3.4.7.2 Uji kitinase**

Pada uji kitinase dilakukan dengan ditumbuhkan bakteri kitinolitik pada medium agar-agar kitin 0.3% ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.02%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.1%, koloidal kitin 0.3 %, ekstrak khamir 0.1%, dan agar-agar 2%). Kemudian isolat bakteri *Bacillus* diinokulasikan pada medium agar-agar kitin 0,3% selanjutnya diinkubasi selama 4 hari pada suhu ruang. Hasil positif ditandai dengan adanya zona bening pada sekitar koloni (Nurdin dkk.,2015).

#### **3.4.7.3 Uji lipase**

Pada aktivitas lipolitik isolat *Bacillus* diidentifikasi dengan uji kualitatif menggunakan media selektif lipase dengan kandungan bahan per liter yaitu *olive oil* steril 5 %, Tween-80 2,5%, NaCl 5 g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,1 g, metil merah 0,01%, pepton 10 g, dan *Nutrient Agar* (Bestari dan Suharjono, 2015). Kemudian isolat *Bacillus* yang berumur 24 jam diinokulasikan dengan menggunakan metode titik pada media selektif. Kemudian diisolasi selama 24-48 jam pada suhu ruang dengan posisi cawan terbalik. Hasil positif ditandai dengan adanya zona jernih pada sekitar koloni bakteri.

#### **3.4.7.4 Uji selulase**

Pada uji selulase dilakukan dengan menginokulasikan isolat *Bacillus* berumur 24 jam dengan menggunakan metode titik pada media NA + CMC 1%. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam kemudian media di siram menggunakan congored kemudian dibilas dengan NaCl 2 M. Untuk hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona bening (Sumardi dkk., 2018).

### **3.4.8 Uji Biokimia**

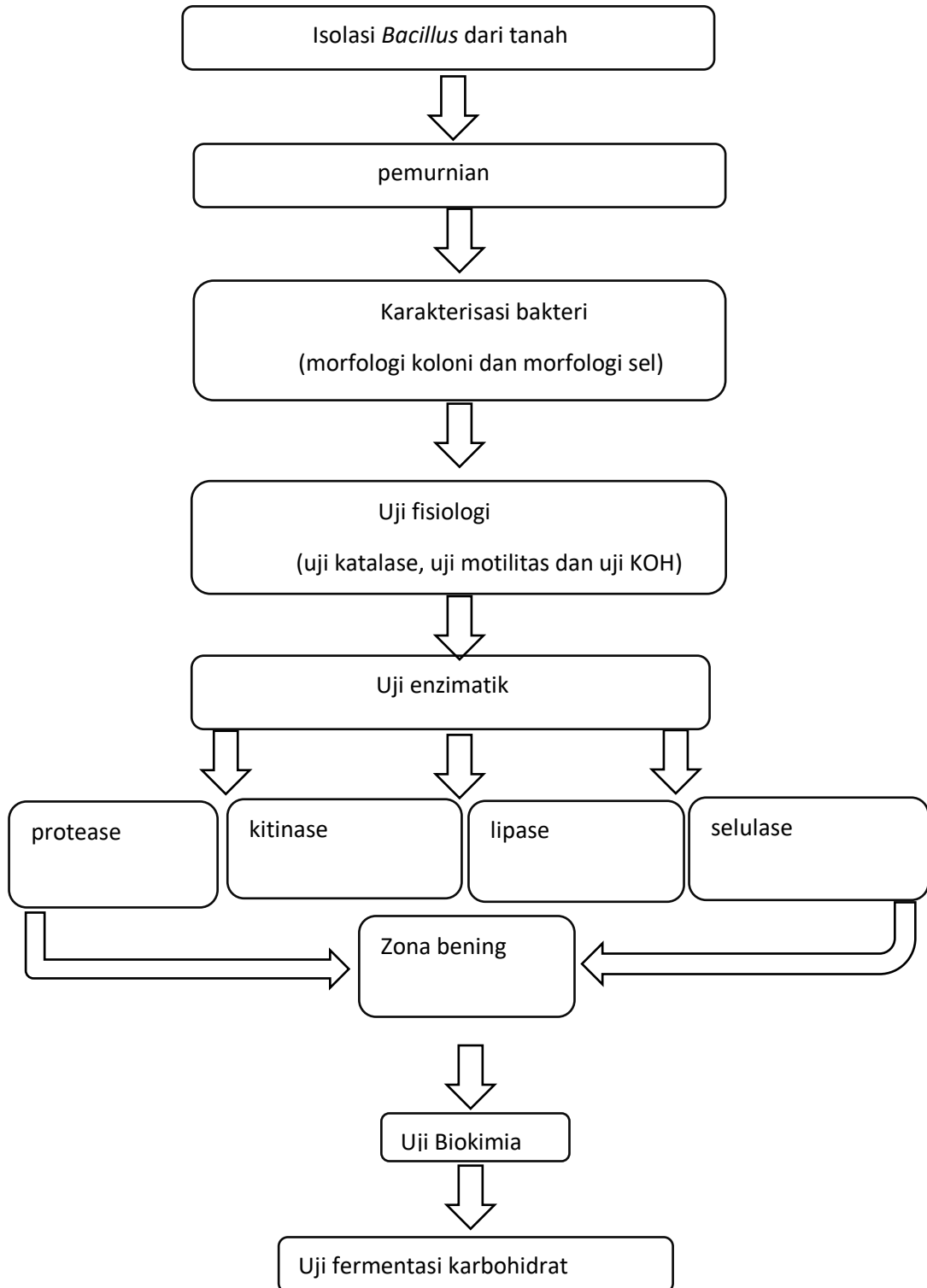
#### **3.4.8.1 Fermentasi karbohidrat**

Uji biokimia dilakukan dengan mengambil 1 ose sampel bakteri kemudian diinokulasikan pada media uji biokimia (glukosa, sukrosa, dan laktosa) kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang. Dan selanjutnya dilakukan pengamatan dengan terbentuknya asam yang ditunjukkan dengan perubahan warna dari pink menjadi kuning pada media serta terbentuknya gelembung udara pada tabung durham (Sumardi dkk, 2012)



### 3.4.9 Diagram Alir

Tahap-tahap penelitian menurut diagram alir adalah sebagai berikut :



Gambar 3. Diagram alir

#### **3.4.10 Analisis Data**

Data diperoleh dengan dianalisis secara deskriptif kuantitatif dan data disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Data yang diperoleh meliputi perhitungan jumlah koloni, perhitungan keragaman, morfologi koloni, identifikasi bakteri meliputi pengecatan gram, pengecatan spora, uji katalase, uji motilitas, uji enzimatik, dan uji biokimia.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian yaitu sebagai berikut

1. Bakteri yang didapatkan dari hasil perhitungan keanekaragaman bakteri tertinggi diperoleh pada tanah serasah dengan total nilai 2,48 yang menunjukkan keanekaragaman tingkat sedang sedangkan nilai terendah diperoleh pada tanah biopori dengan nilai 1,35 yang menunjukkan keanekaragaman bakteri tingkat sedang. Tingkat tinggi dan rendahnya suatu keanekaragaman bakteri *Bacillus* dapat diakibatkan karena kondisi lingkungan yang memenuhi kebutuhan nutrisi dari bakteri *Bacillus*.
2. Didapatkan karakter *Bacillus* dengan koloni terbanyak berbentuk *circular* dan ditemukan adanya aktivitas enzim protease, kitinase, selulase dan lipase yang ditandai dengan adanya zona jernih.

### 5.2 SARAN

Saran dari penelitian ini adalah sebaiknya dilakukan uji aktivitas lebih lanjut untuk mengetahui *Bacillus* yang memiliki potensi terbaik dan selanjutnya dapat dilakukan untuk uji PCR untuk mengetahui spesifikasi jenis bakteri *Bacillus* tiap koloni untuk menentukan masing-masing jenis bakteri yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya, A. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termotabil. *Buletin Plasma Nutfah*. 9(2): 38 - 44.
- Alam, M.Z., Manchulur, M.A., dan Anwar, M.N. 2004. Isolation purification, Characterization of Cellulolytic Enzym Producer by the Isolate *Streptomyces omiyaensis*. *Perkist Journal Biology Scientific*, 7 (10):1647-1653.
- Asih, N. P. S., & Kurniawan, A. (2019). Studi Araceae Bali: Keragaman dan Potensinya. *Jurnal Widya Biologi*, 10(02), 135-147.
- Amit K, Nakachew M, Yilkal B, dan Mukesh Y. 2018. A review of factors affecting enzymatic hydrolysis of pretreated lignocellulosic biomass. *Research journal of Chemistry and Environment*. Vol 22(7):62-67.
- Aziz, P. 2012. *Enzim dan Faktor-faktor yang Memengaruhi Laju Reaksi Enzim*. Addition Material for FIK Biochemical Experiment Class. Jakarta.
- Bahera BC, dkk. 2016. Microbial cellulases- diversity and biotechnology with reference to mangrove environment. *Journal Genet*. Vol 15 (1):197-210.
- Biorata, A.M. 2012. *Optimasi Produksi Selulase dari Bacillus sp. BBPT CC RK 2 Menggunakan Metode Respon Permukaan dengan Variasi Rasio C/N dan Waktu Fermentasi. (Skripsi)*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Chi-Yea, Y.; H. Yi-Cheng, P. Jen-Chieh, H. Shiang-Suo, and T.J. Seng-Ming. 2009. Cloning and expression of an antifungal chitinase gene of a novel *Bacillus subtilis* isolate from Taiwan potato field, *Bioresource Technology* 100(3):1454-1458.
- Ekaputra, M. R. (2018). *Populasi Dan Keanekaragaman Cacing Tanah Dalam Lubang Resapan Biopori Di Sistem Agroforestri Kakao* (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Fallo, Gergonius, dan Sine, Yuni. 2016. Isolasi dan uji biokimia bakteri selulolitik asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.). *jurnal pendidikan biologi*. Vol. 1. No. 2 (27-29).
- Georgiou, D.S., Grintzalis, K., Zervoudakis, G., Papapostolou, I. 2008. Mechanism of Comassie Brilliant Blue G-250 Binding to Proteins: A Hydrophobic Assay for Nanogram Quantities of Proteins. *Anal Bianal Chem*. 391:391-403.
- Hatmanti, A. (2000). Pengenalan *Bacillus* spp. *Oseana*, 25(1), 31-41.
- Herdyastuti, N., Raharjo T.J., Mudasar dan Matsjeh, S. 2009. Chitinase and Chitinolytic Mikroorganism: Isolation, Characterization and Potential. *Journal Chemistry*. 9: 37-47.
- Hammami, I. Dkk. 2013. Partial purification and characterization of chilo8, A novel Antiungal chitinase produced by *Bacillus cereus* IO8. *Journal of Applied Microbiology* 155:258-366.

- Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., & Jaya, A. M. (2020). Identifikasi plant growth promoting rhizobacteria pada rizosfer bambu duri dengan gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*, 4(1), 41-46.
- Joseph, B., Ramkete, P.W., Thomas, G. 2008. Cold active microbial lipases: Some hot issues and recent developments. *Biotechnol Adv.* 26: 457-470.
- Karthik, N., Binod, P. And Pandey, A. 2015. Purification and Characterisation of an Acidic and Antifungal Chitinase Produced by A Streptomyces sp.. *Bioresource Technology*. 188 195-201
- Karyaningsih, I., & Hendrayana, Y. (2021). Keanekaragaman makrofauna tanah nasiional gunung ciremai blok pasir batang desa Karangasari kabupaten Kuningan. *pendidikan dan biologi*, 13(1), 60-67.
- Kuzu, S. B., Dkk. 2012. Production of A thermostable and alkaline Chitinase by Bacillus thuringiensis subsp. Kursataki Strain HBK-51. *Biotechnology Research International*. Vol 2012: 1-6
- Khulillah, I. N., Abadi, A. L., & Aini, L. Q. (2019). Pengaruh Fungisida Terhadap Keanekaragaman Bakteri Tanah Di Kota Batu. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*, 6(2), 1209-1218
- Layly, I. R., & Wiguna, N. O. 2016. Studi potensi lipase Alcaligenes faecalis untuk aplikasi biodetergen. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 3(2), 66-71.
- Lipi. 2016. <http://kebunrayadaerah.krbogor.lipi.go.id/kebun-roya-liwa.html>. Diakses pada 25 Februari 2021. Pukul 20:10 WIB
- Mampallil, J.L., Faizal, M.H., dan Anith, K.N. 2017. Bacterial bioagents for insect pest management. *Journal of Entomology and Zoology Student*. 5(6), 2237-2244.
- Mafazah. Afriha dan Zulaika Enny. 2017. Potensi Bacillus thuriensis dari tanah perkebunan batu malang sebagai bioinsektisida terhadap larva spodoptera litura F.. *jurnal sains dan seni ITS*. Vol 6. No. 2. 2337-3520.
- Meryandini A., Widosari W., Maranatha B., Sunarti TC., Rachmania N., dan Satria H. 2010. Isolasi bakteriselulolitik dan karakterisasi enzim. *Jurnal sains*. 13(1):33-38.
- Mahfut. 2019. *Mengenal anggrek phalaenopsis dan penyakit virus tanaman*. Bandar Lampung
- Nurdin, G.M., Mubarik, N.S., dan Sudirman, L.I. 2015. Selection of chitinolytic bacteria as biocontrol of *Colletotrichum capsici*. *Malaya Journal Microbiol.* 12(1):35-42.
- Nurdin, G.M., Mubarik, N.S., dan Sudirman, L.I. 2015. Selection of chitinolytic bacteria as biocontrol of *Colletotrichum capsici*. *Malaya Journal Microbiol.* 12(1):35-42.
- Retnosari, Ayu Andarini dan Shovitri Maya. 2013. Kemampuan isolat Bacillus sp. dalam mendegradasi limbah tangki septik. *Jurnal sains dan seni pomits*. Vol 2. No 1. 2337-3520.
- San-Lang, W. C. Shin-Jen, and W. Chuan-Lu, 2008. Purification and characterization of chitinases and chitosanases from a new species strain *Pseudomonas* sp. TKU015 using shrimp shells as a substrate, *Carbohydrate Research* 343(7):1171-1179.
- Satrio, D. S. (2019). Pengaruh jenis dan variasi umur sampah organik terhadap makrofauna tanah pada lubang resapan biopori (LRB) di lingkungan UIN

- Raden Intan Lampung. Doctoral dissertation, UIN Raden Intan Lampung. Skripsi.
- Sari, D. R. (2015). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Tanah Yang Terdapat Di Sekitar Perakaran Tanaman. *BIO-SITE/ Biologi dan Sains Terapan*, 1(1).
- Sari, N. A., Fauziah, R. N., & Nurbaety, A. T. (2011). Pengaruh Suhu dan Salinitas Terhadap Viabilitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Bacillus* sp. repository IPB.
- Sakti, P. C., 2012. Optimasi produksi enzim selulase dari *Bacillus* sp. BPPT CC RK2 dengan Variasi pH dan suhu menggunakan response surface methodology. *Skripsi*. Fakultas teknik universitas indonesia. Depok.
- Sumardi, dkk. 2012. Isolasi dan karakterisasi *Bacillus* sp. penghasil antimikroba dari saluran pencernaan ayam kampung *Gallus domesticus*. *Jurnal Prosiding SNSMAIP III*. Hal 307. 1-3.
- Susanti, E. 2011. Optimasi produksi dan karakterisasi sistem selulase dari *Bacillus circulans* strain lokal dengan inducer avicel. *Jurnal ilmu dasar*. Vol. 12. No. 1: 40-49
- Susanti, P. D., & Halwany, W. 2017. Dekomposisi serasah dan keanekaragaman makrofauna tanah pada hutan tanaman industri nyawai (*Ficus variegata*. Blume). *Jurnal Ilmu Kehutanan*, 11(2), 212-223.
- Suliaasih. 2010. Keberadaan bakteri pelarut fosfat dan aktivitas enzim fosfatase tanah daerah perakaran tanaman obat dari Kebunn Raya Cibodas. *Jrl*. Vol 6. 3003-308.
- Sumardi, dan Ekowati, C.N. 2018. *Penuntun Praktikum Fisiologi Mikroba*. Biologi FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Susi. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnae* dan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Ilmu Dasar*. 3(1) : 30 – 35.
- Tarecha, R., Soleman, & Riyanto, Y. (2019). meningkatkan tingkat kesulitan permainan menggunakan algoritma genetika dengan shanon wiener diversity index sebagai dasar pengambilan keputusan untuk mengintrupsi konvergensi prematur. *cogito smart journal*, 5, 137.
- Whitman., dan William, B. 2009. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 2nd edition. Cambridge University Press. New York.
- Wirahadikusuma, M. 2001. *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Yusak, Y. 2004. Pengaruh suhu dan buffer asetat terhadap hidrolisis CMC oleh enzim selulase dari ekstrak *Aspergillus niger* dalam media campuran onggok dan dedak. *Jurnal sains kimia*. 8(2): 35-36.