

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI
SELULOSA PADA SEDIMEN MANGROVE API-API *Avicennia* sp.
KABUPATEN MAROS**

JUMARIAH

H041181328



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI
SELULOSA PADA SEDIMEN MANGROVE API-API *Avicennia* sp.
KABUPATEN MAROS**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin*

JUMARIAH

H041181328

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI
SELULOSA PADA SEDIMEN MANGROVE API-API *Avicennia* sp.

KABUPATEN MAROS

Disusun dan diajukan oleh:

JUMARIAH

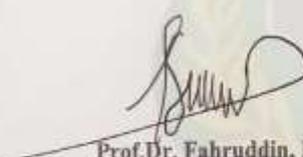
H041181328

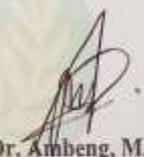
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk
dalam Rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Studi Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal 27 Juni 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama


Prof. Dr. Fahrudin, M.Si
NIP. 196509151991031002


Dr. Ambeng, M.Si
NIP. 196507041992031004



Ketua Program Studi

Dr. Nur Haedar, M.Si

NIP. 196801291997022001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang Bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Jumariah

NIM : H041181328

Departemen : Biologi

Jenjang : SI

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya yang berjudul:

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Pada Sedimen

Mangrove Api-Api *Avicennia* Sp. Kabupaten Maros

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain, bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari skripsi saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta, maka saya siap menerima sanksi.

Makassar, 27 Juni 2022

Yang menyatakan


Jumariah

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarokatuh

Alhamdulillah rabbil'alamin puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Taala, atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam tak lupa pula dihaturkan kepada junjungan Nabi besar Muhammad Shallallahu Alaihi Wasallam. Sebagai sosok pemimpin yang sangat agung bagi umat Islam di seluruh dunia, sebagai suri tauladan serta telah menyebarkan ajaran islam yang membawa manusia dari zaman jahiliyah (kebodohan) menuju zaman yang dipenuhi dengan perkembangan ilmu pengetahuan seperti saat ini sehingga penulis mampu merampungkan skripsi dengan baik dan maksimal yang berjudul

“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Pada Sedimen Mangrove Api-api *Avicennia* sp. Kabupaten Maros.”

Skripsi ini merupakan hasil penelitian yang diajukan untuk memenuhi syarat dalam menyelesaikan program pendidikan Sarjana (S1) dibawah naungan Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Dalam upaya penyelesaian skripsi ini tak lepas dari banyaknya dukungan, baik secara moril maupun materil yang diberikan kepada penulis. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada ibu tercinta yang telah membesarkan, menyayangi penulis Ibu Syamsiah, Paman Rahmatullah Saenong, Bibi Hj.Raodah Saenong dan Jabal Rahman adik penulis, yang selalu memberikan dorongan, materil, semangat,

do'a dan ridho yang tak terhingga kepada penulis sehingga skripsi ini dapat dibuat dengan baik. Tak lupa pula penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada keluarga besar dan kerabat yang telah menemani selama proses perkuliahan hingga saat ini.

Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan kepada Bapak Prof. Dr. Fahrudin, M.Si selaku pembimbing utama dan Bapak Dr. Ambeng, M.Si selaku pembimbing pertama, atas setiap ilmu, waktu, tenaga, motivasi perhatian, yang diberikan dalam membimbing dan mengarahkan penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

Banyak kendala dan rintangan yang penulis hadapi selama proses perkuliahan hingga pada titik penyusunan skripsi ini, namun hal tersebut menjadi lebih mudah berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang paling tulus dan terdalam kepada :

1. Bapak Rektor Prof. Dr.Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc selaku Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Bapak Dr. Khaeruddin., M.Sc selaku Wakil Dekan I Bidang akademik, Riset dan Inovasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
4. Ibu Dr.Syahribulan, M.Si selaku Wakil Dekan III Bidang Kemahasiswaan, Alumni dan Kemitraan.
5. Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si, selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

6. Bapak Dr. Ambeng, M.Si. selaku Penasehat Akademik (PA), yang senantiasa memberikan arahan kepada penulis sejak penulis memulai studi hingga selesai.
7. Bapak Drs. Muhammad Ruslan Umar, M.Si. dan Bapak Andi Arfan sabran, S.Si, M.Kes. selaku Tim Penguji yang selalu meluangkan waktunya untuk memberikan kritik dan saran yang tentunya sangat bermanfaat.
8. Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
9. Kakak Fuad Gani, S.Si, Kakak Rihuh Wardani, S.Si, penulis ucapkan terima kasih atas ilmu, saran dan bantuan yang diberikan selama penulis menjalankan studi dan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi.
10. Mega Karunia Sari, Sitti Khadijah, Fitriana, Rahmayana dan Luthfiah Septi Nurfadillah, teman-teman bureng yang telah menemani penulis baik suka maupun duka dari awal perkuliahan sampai saat ini. Terima kasih telah memberikan waktu, masukan dan dorongan semangat setiap harinya.
11. Teman-teman peneliti di Lab Mikrobiologi Nur Afifah zhafirah, Sitti Khadijah, Mutia Putri Jamaluddin, Andi Saripada Ardillah, Mujiza A.Salam, Nurul Aulyah Dhiensny, Karlinda dan Khaeriah terima kasih telah kebersamai selama penelitian.
12. Kakak Risda S.S terima kasih telah memberikan bantuan motivasi, ilmu dan tentunya semangat dalam penelitian penulis.
13. Kakak Asmaul Husna, Kakak Ummu Dhya murobbiyah (tarbiyah) dan Kakak Nur Fuadah mudarizah (tahsin) serta saudari-saudari seperjuangan yang telah

memberikan bekal imu dan moril yang sangat bermanfaat untuk penulis.

14. Al waasiu, teman kost dan seperjuangan terima kasih penulis haturkan atas semangat dan waktu yang telah diluangkan selama pendidikan sampai sekarang.
15. Teman-teman seperjuangan saudara-saudariku Bravo, Bioaffinity, Biologi 2018 dan KM FMIPA Unhas yang namanya tidak dapat disebutkan satu per satu. Terima kasih atas segala dukungan dan pengalaman yang tidak dapat dilupakan oleh penulis selama masa perkuliahan sampai saat ini.
16. Semua pihak yang ikut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih banyak.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua dan bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Wassalamu 'alaikum Warrohmatullahi Wabarokatoh

Makassar, 9 Juni 2022

Penulis

ABSTRAK

Ekosistem mangrove merupakan salah satu ekosistem yang mampu memproduksi dan mengakumulasi bahan organik, sehingga di sedimen mangrove kaya akan bakteri yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler. Salah satu bakteri yang terdapat di sedimen mangrove yaitu bakteri pendegradasi selulosa yang memecah selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana berupa glukosa yang terdapat pada tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri, karakteristik dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa. Penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi serta uji degradasi isolat bakteri dari tiga titik stasiun yaitu menghitung jumlah total koloni bakteri dengan metode *Standart Plate Count* (SPC). Hasil titik pertama (BL) bagian laut diperoleh 148 koloni bakteri dengan nilai SPC $1,4 \times 10^{12}$ CFU/ml, titik kedua (BT) diperoleh 25 koloni bakteri dengan nilai SPC $1,9 \times 10^{11}$ CFU/ml dan titik ketiga (BP) bagian pemukiman diperoleh 10 koloni bakteri dengan nilai SPC $0,4 \times 10^9$ CFU/ml. Uji degradasi diperoleh 6 isolat bakteri yang mampu mendegradasi selulosa ditandai adanya zona bening yang terbentuk dengan indeks selulolitik yang paling tinggi yaitu BT 1 sebesar 3,4 mm sedangkan yang sangat rendah yaitu BP 3 dengan indeks selulolitik 0,3 mm.

Kata Kunci: Isolasi, Karakterisasi, Bakteri Pendegradasi Selulosa

ABSTRACT

The mangrove ecosystem is one of the ecosystems capable of producing and accumulating organic matter, so that mangrove sediments are rich in bacteria that are capable of producing extracellular enzymes. One of the bacteria found in mangrove sediments is cellulose degrading bacteria which is able to break down cellulose into simpler compounds in the form of glucose as found in the remains of weathering plants. This study aims to obtain bacterial isolation, characteristics and ability of bacteria to degrade cellulose. This research was conducted to isolate and characterize and test the degradation of bacterial isolation from three points, namely counting the number of bacterial colonies using the Standard Plate Count (SPC) method. The results of the first point (BL) in the sea obtained 148 bacterial colonies with an SPC value of 1.4×10^{12} CFU/ml, the second point (BT) obtained 25 bacterial colonies with an SPC value of 1.9×10^{11} CFU/ml and the third point (BP) residential share obtained 10 bacterial colonies with an SPC value of 0.4×10^9 CFU/ml. Degradation test obtained 6 bacterial isolates capable of degrading cellulose were characterized by the presence of a clear zone formed with the highest cellulolytic index, namely BT 1 is 3.4 mm while the very low is BP 3 with a cellulolytic index of 0.3 mm.

Keywords: Isolation, Characterization, Cellulose Degrading Bacteria

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	4
I.3 Manfaat Penelitian	4
I.4 Tempat dan Waktu Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Ekosistem Mangrove	5
II.2 Vegetasi api-api <i>Avicennia</i> sp.	7
II.3 Sedimen Mangrove	8
II.4 Bakteri Selulolitik	10
BAB III METODE PENELITIAN	14
III.1 Alat dan Bahan	14
III.2 Metode Kerja	14
III.2.1 Pengambilan Sampel	14

III.2.2 Sterilisasi Alat	15
III.2.3 Pembuatan Medium	16
III.2.4 Isolasi Bakteri.....	17
III.2.5 Pemurnian bakteri	18
III.2.6 Pembuatan Sediaan Bakteri.....	18
III.2.7 Uji Kemampuan Degradasi Selulosa	18
III.2.8 Karakterisasi Isolat Bakteri	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Isolat Bakteri Selulolitik Dari Sedimen Mangrove Vegetasi Api-api	
<i>Avicennia</i> sp.	22
IV.2 Jumlah Kuantitatif Bakteri Dengan Metode Standar Plate Count (SPC).....	25
IV.3 Uji Degradasi Isolat Bakteri Selulolitik	27
IV.4 Karakterisasi Isolat Bakteri Selulolitik	29
IV.5 Hasil Uji Biokimia pada Bakteri Selulolitik dari sedimen mangrove vegetasi api-api <i>Avicennia</i> sp.....	34
IV.5.1 Uji <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA)	35
IV.5.2 Uji <i>Sulfide Indole Motility</i> (SIM)	36
IV.5.3 Uji <i>Simmons Citrate Agar</i> (SCA)	39
IV.5.4 Uji <i>Methyl Red</i> (MR)	40
IV.5.5 Uji <i>Voges-Proskauer</i> (VP)	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
V.1 Kesimpulan	42
V.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Zonasi Mangrove berdasarkan vegetasi dominan.....	8
Gambar 2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel di Desa Bonto Bahari.....	15
Gambar 3. Hasil isolasi bakteri pada medium NA.....	22
Gambar 4. Hasil pemurnian 15 koloni bakteri pada medium NA.....	23
Gambar 5. Hasil pemurnian isolat bakteri pada media CMC Agar tanpa congo red.....	24
Gambar 6. Hasil pemurnian pada media CMC Agar dengan <i>congo red</i>	25
Gambar 7. Hasil uji degradasi bakteri selulolitik dengan di tandai adanya zona bening yang terbentuk disekitar koloni.....	27
Gambar 8. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni dibawah Mikroskop Stereo dengan Perbesaran 10X	31
Gambar 9. Hasil Pengamatan Morfologi Sel isolat bakteri Selulolitik dengan perbesaran 1000X.....	32
Gambar 10. Stok Isolat murni bakteri Selulolitik.....	34
Gambar 11. Hasil Uji TSIA Bakteri Selulolitik.....	36
Gambar 12. Hasil Uji SIM Isolat Bakteri Selulolitik.....	38
Gambar 13. Hasil Uji Sitrat Isolat Bakteri Selulolitik.....	39
Gambar 14. Hasil Uji <i>Mehtyl Red</i> (MR) Isolat Bakteri Selulolitik.....	40
Gambar 15. Hasil Uji <i>Voges-Proskauer</i> (VP) Isolat Bakteri Selulolitik.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Pengamatan Morfologi Koloni Secara Makroskopik.....	24
Tabel 2. Perhitungan jumlah koloni bakteri dengan metode SPC dari ketiga titik pengambilan sampel.....	26
Tabel 3. Hasil Uji Degradasi Isolat Bakteri Selulolitik.....	28
Tabel 4. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Selulolitik.....	30
Tabel 5. Hasil Pengamatan Morfologi Sel isolat bakteri Selulolitik. dengan perbesaran 1000X.....	33
Tabel 6. Hasil Pengamatan Uji Biokimia Isolat Bakteri Selulolitik.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian.....	47
Lampiran 2. Skema Kerja Uji TSIA (<i>Triple Sugar Iron Agar</i>).....	48
Lampiran 3. Skema Kerja Uji SIM (<i>Sulfide Indole Motility</i>).....	49
Lampiran 4. Skema Kerja Uji SCA (<i>Simmons Citrate Agar</i>).....	50
Lampiran 5. Skema Kerja Uji MR (<i>Methyl Red</i>).....	51
Lampiran 6. Skema Kerja Uji VP (<i>Voges-Proskauer</i>).....	52
Lampiran 7. Skema Kerja Uji degradasi.....	53
Lampiran 8. Skema Kerja Pengecatan Gram.....	54
Lampiran 9. Foto Pengambilan Sampel.....	55
Lampiran 10. Prosedur Penelitian.....	56

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan wilayah pesisir yang mempunyai hutan mangrove terluas di dunia dengan luas sekitar 3,2 juta ha yang merupakan 22,6% dari total hutan mangrove dunia berdasarkan data dari kelompok kerja mangrove tingkat nasional pada tahun 2013 (DasGupta dan Shaw, 2013). Hal ini sesuai dengan pernyataan Fitri dan Anwar (2014) bahwa total mangrove di Indonesia memiliki luas sekitar 3,2 juta ha, yang sebelumnya sekitar 6,7 juta ha karena pada 2 sampai 3 dekade ini hampir 50% dari total mangrove di Indonesia telah hilang akibat aktivitas antropogenik seperti perikanan, perkebunan, pertambangan dan pemukiman (Eddy *et al.*, 2015). Jenis-jenis mangrove yang banyak ditemukan di Indonesia dari data penelitian yaitu *Avicennia* sp., *Rhizophora* sp., *Bruguiera* sp., *Sonneratia* sp. dan beberapa mangrove ikutan seperti *Acanthus ilisifolius* dan *Nypa fruticans* (Saru *et al.*, 2018).

Salah satu Kabupaten di Sulawesi Selatan yang memiliki kawasan mangrove adalah di Kabupaten Maros dengan luas kawasan mangrove sekitar 15.046 ha yang meliputi 4 Kecamatan yakni Kecamatan Bontoa, Lau, Maros Baru dan Marusu (Pranata, et al., 2016). Pada wilayah Kecamatan Bontoa memiliki luas wilayah mangrove sekitar 45,89 ha yang terdapat di beberapa desa yang ada di Kecamatan Bontoa. Desa Bonto Bahari merupakan salah satu dari beberapa desa di Kecamatan Bontoa yang memiliki kawasan mangrove dengan luas sekitar 15,71 ha (Dinas Perikanan, Kelautan dan Peternakan Kabupaten Maros., 2010).

Kawasan mangrove yang berada di Desa Bonto Bahari didominasi oleh sedimen pasir dan lumpur sehingga memungkinkan untuk pertumbuhan mangrove (Saru *et al.*, 2018).

Ekosistem mangrove berada di daerah pesisir antara laut dan darat yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Keadaan tersebut memungkinkan banyak faktor alam yang mempengaruhi struktur hutan mangrove. Faktor alam tersebut antara lain cahaya, angin, salinitas, kondisi tanah, pasang surut air laut dan polusi sampah organik maupun anorganik (Hayati *et al.*, 2017). Mangrove juga merupakan ekosistem yang memiliki peran yang sangat besar dalam melindungi daratan di sepanjang pantai dari bahaya bencana alam seperti tsunami, tanah longsor dan mencegah abrasi. Selain itu, mangrove memiliki sistem *root* yang tersebar luas dan mampu menyimpan sedimentasi selain mengklaim tanah dari laut yang menjadi pertahanan alami terhadap bencana ekologis dan menciptakan keseimbangan ekosistem di suatu perairan (Naresh *et al.*, 2019).

Ekosistem mangrove merupakan salah satu ekosistem yang memiliki produktivitas tinggi dibandingkan ekosistem lain dengan dekomposisi bahan organik yang tinggi dan menjadikannya sebagai mata rantai ekologis yang sangat penting bagi kehidupan makhluk hidup yang berada di perairan sekitarnya (Sinatryani *et al.*, 2014). Ekosistem ini juga memproduksi dan mengakumulasi bahan organik di sedimen mangrove sehingga daerah ini kaya akan mikroba yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler seperti enzim *proteinase*, *amylase* dan *selulase*. Hal ini terkait dengan protein, karbohidrat dan selulosa yang melimpah di sedimen mangrove. Selain itu, mikroba juga memproduksi molekul-molekul yang bermanfaat bagi kehidupan manusia baik dalam bidang pertanian, perikanan,

industri dan bioremediasi (Mahrus *et al.*, 2019). Menurut hasil penelitian Aida *et al.*, (2014) menunjukkan bahwa komponen utama yang terdapat pada serasah mangrove adalah serasah daun yang memiliki banyak kandungan mikroba yang mampu mendegradasi selulosa (Subagiyo *et al.*, 2017).

Bakteri mempunyai persebaran yang sangat luas, baik di tanah, air dan sebagai simbiosis dari organisme lain. Salah satu tempat hidupnya yaitu pada ekosistem mangrove yang memiliki peranan penting terhadap ekosistem mangrove, salah satu peran bakteri pada ekosistem mangrove yaitu sebagai dekomposer dalam proses penguraian bahan organik. Ketersediaan bahan organik pada suatu sedimen juga dapat mempengaruhi kelimpahan mikroorganisme pada suatu perairan. Oleh sebab itu, kandungan total bakteri di sebuah perairan seperti ekosistem mangrove berfungsi sebagai penyedia unsur hara yang dapat digunakan sebagai indikator kesuburan perairan (Mahrus *et al.*, 2019).

Bakteri yang terdapat pada sedimen mangrove juga berperan dalam mendegradasi dan mendaur ulang unsur-unsur atau elemen esensial seperti karbon, nitrogen dan fosfor (Yulma, *et al.*, 2017). Salah satu bakteri yang terdapat pada sedimen mangrove yaitu bakteri pendegradasi selulosa yang dapat membantu proses pemecahan selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana berupa glukosa seperti yang terdapat pada sisa-sisa pelapukan kayu, daun dan tanaman (Kurniawan *et al.*, 2018). Keberadaan dan keanekaragaman bakteri selulolitik di ekosistem mangrove juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan yaitu faktor suhu, pH, salinitas, fisik, iklim, lokasi vegetasi, nutrisi, serta unsur lainnya seperti unsur nitrogen dan fosfor (Yahya *et al.*, 2014).

Berdasarkan hal tersebut bahwa bakteri selulolitik memiliki peranan penting dalam proses degradasi bahan organik pada sedimen mangrove. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan isolat bakteri dan mengetahui kemampuan bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa yang diperoleh dari sedimen mangrove api-api *Avicennia* sp. di Kabupaten Maros, Kecamatan Bontoa, Desa Bonto Bahari.

I.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mendapatkan isolat bakteri pendegradasi selulosa dari sedimen mangrove vegetasi api-api *Avicennia* sp.
2. Mengetahui karakteristik isolat bakteri pendegradasi selulosa dari sedimen mangrove vegetasi api-api *Avicennia* sp.
3. Mengetahui kemampuan isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari sedimen mangrove vegetasi api-api *Avicennia* sp. dalam mendegradasi selulosa.

I.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi mengenai karakteristik dan kemampuan isolat bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa dari sedimen mangrove api-api *Avicennia* sp. di Kabupaten Maros.

I.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini di laksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin dengan pengambilan sampel sedimen yang dilakukan di Desa Bonto Bahari, Kecamatan Bontoa, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2022 sampai April 2022.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Ekosistem Mangrove

Ekosistem mangrove di Indonesia memiliki keanekaragaman jenis yang termasuk tertinggi di dunia, seluruhnya tercatat 202 jenis tumbuhan dan yang paling umum dikenal adalah pohon bakau *Rhizophora* sp., api-api *Avicennia* sp. dan nipah *Nypa Fruticans* sp.. Mangrove tumbuh pada pantai-pantai yang terlindung atau pantai-pantai yang datar. Biasanya di tempat yang tak ada muara sungainya hutan mangrove terdapat cukup sedikit, namun pada tempat yang mempunyai sungai yang besar dan delta yang aliran airnya banyak mengandung lumpur, biasanya tumbuh meluas (Besperi, 2011).

Ekosistem mangrove merupakan kawasan dengan potensi sumber daya alam yang tinggi, dimana saat ini masih banyak yang belum dijelajahi. Salah satunya adalah mikroorganisme yang tersembunyi di kedalaman sedimen mangrove. Mikroorganisme di ekosistem mangrove memiliki peran penting dalam dekomposisi dan mineralisasi bahan organik serta menyediakan nutrisi bagi tanaman. Selain itu, bakteri juga berperan penting dalam mendegradasi dan mendaur ulang elemen-elemen penting seperti karbon, nitrogen dan fosfor yang digunakan oleh makhluk hidup lainnya (Ambeng *et al.*, 2019). Hal ini sejalan dengan pendapat Polunin (1986) bahwa tingginya laju dekomposisi serasah disebabkan oleh adanya kehadiran mikroorganisme seperti bakteri yang memanfaatkan bahan organik. Bahan organik yang dimanfaatkan oleh mikroorganisme adalah karbon, fosfor (Sutiknowati, 2010) dan nitrogen (Sa'ban *et al.*, 2013) dalam (Yulma *et al.*, 2017).

Ekosistem mangrove memiliki produktivitas yang sangat tinggi melalui sumbangan serasah. Serasah mangrove berupa daun, ranting, bunga, buah dan biomassa lainnya yang jatuh menjadi sumber nutrisi bagi biota perairan serta menentukan produktivitas perikanan laut. Salah satu faktor kesuburan pada ekosistem mangrove ialah serasah daun yang jatuh dan mengalami proses dekomposisi. Laju dekomposisi memberikan sumbangan bahan organik yang berperan dalam pembentukan pertumbuhan dan perkembangan tumbuh-tumbuhan, ikan, udang, kepiting dan mikroorganisme lainnya di hutan mangrove. Serasah mangrove yang terdekomposisi oleh mikroorganisme akan menghasilkan bahan organik yang diserap oleh tanaman dan sebagian lagi akan terlarut dan terbawa air surut ke perairan sekitarnya. Salah satu mikroorganisme yang berperan dalam proses dekomposisi adalah bakteri (Yulma *et al.*, 2017).

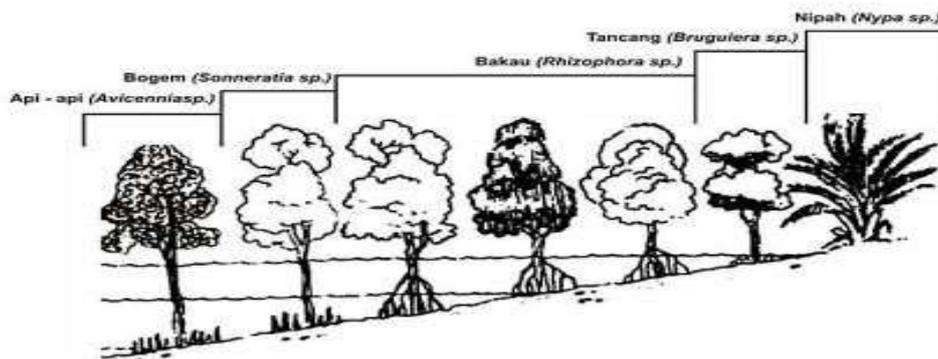
Bakteri mampu memproduksi enzim ekstraseluler yang digunakan untuk mengurai material *nutrient* organik kompleks menjadi sederhana sehingga dapat di transport masuk ke dalam sel sebagai sumber nutrisinya. Kompleksitas ekosistem mangrove dengan tekanan *anthropogenic* ini mengharuskan mikrobia menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu bekerja dalam kondisi yang kompleks. Enzim adalah protein fungsional yang *sensitive* terhadap faktor lingkungan, sehingga enzim yang dihasilkan oleh mikrobia dalam kompleksitas ekosistem merupakan enzim yang memiliki toleransi yang tinggi terhadap faktor lingkungan (Mahrus *et al.*, 2019).

Bahan organik tersedia melimpah di ekosistem mangrove yang memungkinkan bakteri dalam biomineralisasi. Lebih dari 50% bahan organik dalam daun mangrove dicirikan sebagai senyawa yang larut dalam air seperti:

tanin dan gula. Namun demikian, residunya terbuat dari lignoselulosa yang terutama terdiri dari selulosa (Behera *et al.*, 2016). Selulosa adalah rantai linier polimer D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan-(1,4)-glikosidik dan merupakan yang paling melimpah sumber karbohidrat di dunia (Naresh *et al.*, 2019).

II.2 Vegetasi api-api *Avicennia* sp.

Hutan mangrove merupakan komunitas vegetasi pantai tropis, yang didominasi oleh beberapa spesies pohon mangrove yang mampu tumbuh dan berkembang pada daerah pasang-surut pantai berlumpur. Komunitas vegetasi ini umumnya tumbuh pada daerah intertidal dan supratidal yang cukup mendapat aliran air dan terlindung dari gelombang besar serta arus pasang surut yang kuat. Ekosistem mangrove banyak ditemukan di pantai-pantai teluk yang dangkal, estuaria, delta dan daerah pantai yang terlindung (Kurniawan *et al.*, 2018). Vegetasi mangrove di bagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok utama yang terdiri dari *Rhizophora* sp., *Sonneratia* sp., *Avicennia* sp., *Xylocarpus* sp. dan kelompok tambahan, meliputi *Excoecaria agallocha*, *Aegiceras* sp., *Lumnitzera*, dan lainnya. Daya adaptasi atau toleransi jenis tumbuhan mangrove terhadap kondisi lingkungan yang ada mempengaruhi terjadinya zonasi pada kawasan hutan mangrove. Zona *Avicennia* sp., terletak paling luar dari hutan yang berhadapan langsung dengan laut. Zona ini umumnya memiliki substrat lumpur lembek dan kadar salinitas tinggi. Zona ini merupakan zona pioner karena jenis tumbuhan yang ada memiliki perakaran yang kuat untuk menahan pukulan gelombang, serta mampu membantu dalam proses penimbunan sedimen (Kurniawan *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Zonasi Mangrove berdasarkan vegetasi dominan (Kurniawan *et al.*, 2018)

Avicennia sp. merupakan marga yang memiliki kemampuan toleransi terhadap kisaran salinitas yang luas dibandingkan dengan marga lainnya. Kondisi salinitas sangat mempengaruhi komposisi mangrove. Berbagai jenis mangrove mengatasi kadar salinitas dengan cara yang berbeda-beda. Beberapa diantaranya secara selektif mampu menghindari penyerapan garam dari media tumbuhnya, sementara beberapa jenis yang lainnya mampu mengeluarkan garam dari kelenjar khusus pada daunnya. Spesies *Avicennia* yang paling sering dieksplorasi aktivitas antibakterinya adalah *A. marina*, *A. officinalis* dan *A. alba*. Daun merupakan bagian yang paling baik sebagai anti bakteri. Senyawa-senyawa polar diduga menjadi penghambat bakteri karena hasil penghambatan terbaik terdapat pada daun yang diekstrak dengan metanol. Senyawa kimia yang diduga berperan adalah turunan naftalena (Kurniawan *et al.*, 2018).

II.3 Sedimen Mangrove

Tumbuhan mangrove yang tumbuh di daerah pesisir mengandung senyawa organik yang lengkap seperti pati dan selulosa yang tersusun terutama di daun dan batang. Selulosa adalah komponen utama biomassa tumbuhan. Serasah mangrove selain sisa metabolisme organisme dan masukan dari pedalaman akan

terakumulasi di sedimen kawasan mangrove. Sumber bahan organik ini akan didegradasi oleh mikroorganisme seperti jamur dan bakteri untuk menghasilkan detritus. Detritus kaya akan enzim, protein dan mengandung populasi mikroba yang besar serta detritus dari mangrove merupakan *reservoir* besar karbon dan energi yang berpotensi sebagai penyedia untuk rantai makanan terutama pada perairan mangrove (Nursyirwani *et al.*, 2020). Mangrove adalah tumbuhan berwujud semak dan pohon dengan akar tunjang, yaitu akar yang banyak tumbuh dari batang menjadi penopang tumbuhan tersebut. Hutan Mangrove yang terdapat di sepanjang pantai atau muara sungai yang di pengaruhi oleh pasang surut, memiliki akar tunjang dan akar pernapasan yang menyembul dari tanah. Mangrove dengan akar tunjang dan akar pernapasan yang begitu ruwet di pantai dapat menangkap lumpur sehingga terjadi sedimentasi (Besperi, 2011).

Pada umumnya sedimen yang berada di daerah pantai (perairan pantai, muara sungai atau estuari, teluk) adalah sedimen kohesif dengan diameter sangat kecil yaitu dalam beberapa mikro. Sifat-sifat sedimen lebih tergantung pada gaya-gaya permukaan daripada gaya berat. Sedimen pantai bisa berasal dari erosi garis pantai itu sendiri, dari daratan yang dibawa oleh sungai dan dari laut dalam yang terbawa arus ke daerah pantai. Sifat-sifat sedimen adalah sangat penting didalam mempelajari proses erosi dan sedimentasi. Sifat-sifat tersebut adalah ukuran partikel dan distribusi butir sedimen, rapat massa, bentuk, kecepatan endap, tahanan terhadap erosi. Diantara beberapa sifat tersebut, distribusi ukuran butir adalah yang paling penting (Besperi, 2011).

Mikroorganisme sangat penting untuk pemeliharaan produktivitas, konservasi dan pemulihan sedimen mangrove. Mikroorganisme tersebut terlibat langsung dalam transformasi nutrisi, fotosintesis, fiksasi nitrogen, metanogenesis,

kelarutan fosfat, sulfat pengurangan serta produksi zat lain, termasuk antibiotik dan enzim yang merupakan *reservoir* produk bioteknologi misalnya pada bakteri yang menghasilkan *bioemulsifiers*. Pengetahuan tentang dampak tumpahan minyak pada yang masih ada komunitas mikroba di bakau dapat memberikan target yang mungkin untuk biomonitoring dampak minyak dalam pengaturan mangrove (Santos *et al.*, 2011).

II.4 Bakteri Selulolitik

Bakteri pendegradasi selulosa merupakan salah satu mikroorganisme pendegradasi bahan organik dan memiliki peranan penting dalam biosfir dengan mendaur ulang selulosa. Aktivitas bakteri pendegradasi selulosa juga dipengaruhi oleh pH tanah dan suhu (Khairiah, *et al.*, 2013). Bakteri ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan jamur dalam aspek tertentu. Secara khusus, mereka biasanya memiliki pertumbuhan yang lebih tinggi, sehingga tingkat memungkinkan untuk produksi enzim lebih cepat. Selain itu, beberapa hidrolase glikosida dari bakteri dirangkai dalam kompleks multienzim yang memberikan peningkatan sinergi, stabilitas dan efisiensi katalitik (Pinheiro *et al.*, 2015).

Mikroba yang dapat menghasilkan enzim selulase adalah bakteri selulolitik. Bakteri ini dapat memecah selulosa menjadi glukosa sebagai sumber karbon dan energi. Penggunaan bakteri sebagai sumber enzim dipilih karena memiliki beberapa keunggulan yaitu rendah biaya produksi, dapat diproduksi dalam waktu singkat, memiliki tingkat pertumbuhan yang tinggi dan mudah dikendalikan (Arfah *et al.*, 2019). Bakteri selulolitik merupakan kelompok bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi bahan yang mengandung selulosa dan memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan patogen bakteri. Bakteri

tersebut dapat ditemukan di tanah atau sedimen di ekosistem mangrove. Bakteri dalam ekosistem mangrove berperan aktif dalam biomineralisasi dan biotransformasi mineral (Nursyirwani *et al.*, 2020). Bakteri selulolitik memiliki kemampuan menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa. Bakteri selulolitik telah banyak dikaji potensinya dalam memproduksi enzim selulase dan telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang, seperti pada bidang pertanian, perikanan, industri dan kedokteran (Harjuni *et al.*, 2020).

Selulosa adalah salah satu biopolimer yang melimpah di alam, bersama dengan lignin dan polisakarida lain seperti hemiselulosa pada bahan-bahan yang berasal dari tanaman. Bahan organik yang mengandung selulosa merupakan substrat bagi pertumbuhan bakteri selulolitik, sehingga dimungkinkan bakteri selulolitik juga terdapat pada sedimen mangrove yang memiliki kandungan selulosa yang tinggi. Bakteri selulolitik secara alami terdapat pada lahan pertanian, hutan, kompos, tanaman yang telah melapuk, atau serasah daun (Arifin *et al.*, 2019).

Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri atas satuan-satuan dan mempunyai massa molekul relatif yang sangat tinggi, tersusun dari 2.000-3.000 glukosa. Struktur kimia selulosa terdiri dari unsur C, O, H yang membentuk rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan ikatan molekulnya ikatan hidrogen yang sangat erat. Gugus fungsional dari rantai selulosa adalah gugus hidroksil. Gugus-OH ini dapat berinteraksi satu sama lain dengan gugus -O, -N, dan -S, membentuk ikatan *hydrogen*. Selulosa menjadi senyawa polimer glukosa yang tersusun dari unit-unit β -1,4-glukosa yang dihubungkan dengan ikatan

β -1,4-Dglikosida. Selulosa merupakan komponen utama penyusun dinding sel tanaman. Bentuk selulosa alami paling banyak adalah selulosa yang berkombinasi dengan lignin dan polisakarida lain seperti hemiselulosa dalam dinding sel tumbuhan berkayu, baik pada kayu lunak dan keras, jerami atau bambu (Kurniawan *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian tentang bakteri selulolitik dari ekosistem mangrove di Indonesia yang telah dilakukan sebelumnya dan diperoleh identifikasi seperti empat spesies bakteri selulolitik diisolasi dari batang mangrove di Pantai Waai Pulau Ambon, Indonesia yaitu *Micrococcus luteus*, *Bacillus pumilus*, *Planococcus mycoides* dan *Bacillus cereus*.. Selanjutnya pada kawasan mangrove terutama di kawasan Mangrove peneliti daerah Kalimantan Barat, bakteri selulolitik telah mengidentifikasi sebagai *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, *Pasteurella*, *Neisseria*, *Actinobacillus*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Bacillus* dan *Chromobacterium* (Nursyirwani *et al.*, 2020).

Peran aktif bakteri terutama bakteri selulolitik mutlak diperlukan dalam proses dekomposisi di perairan ekosistem mangrove. Bakteri akan menguraikan serasah daun secara enzimatik melalui peran aktif dari enzim proteolitik, selulolitik dan kitinoklastik. Beberapa kelompok bakteri yang berperan dalam proses dekomposisi selulosa seperti bakteri *Cytophaga*, *Sporocytophaga* dan lainnya, adapun kelompok bakteri yang mampu mendekomposisi kitin meliputi *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Vibrio* serta bakteri pengurai lainnya yang terdapat pada ekosistem mangrove (Lyla dan Ajmal, 2006) dalam (Yahya *et al.*, 2014). Bakteri selulolitik pada mangrove dapat diperoleh dari sedimen, serasah daun dan kayu lapuk. Sedimen adalah partikel hasil dari pelapukan batuan, material biologi,

endapan kimia, debu, material juga sisa tumbuhan dan daun (Kasan *et al.*, 2015). Material tersebut masuk ke perairan mengalir dari sungai menuju laut dan mengendap di dasar perairan yaitu sedimen. Sedimen memiliki fungsi sebagai tempat mencari makan dan tempat untuk hidup bagi beberapa organisme (Piranto *et al.*, 2019). Distribusi sedimen mengangkut partikel dengan adanya aliran air, pasang surut dan gelombang. Sedimen yang mengalami pengendapan di dasar perairan disebut proses sedimentasi yang terdiri dari beberapa partikel penyusun berupa pasir dan lumpur, kepadatan sedimen setelah mengendap akan berubah dari waktu ke waktu. Sedimen dengan material bahan organik akan dimanfaatkan oleh bakteri heterotrof yang akan mendegradasi material tersebut sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya (Moelyo *et al.*, 2012) dalam (Putri *et al.*, 2021).

Kehidupan berbagai mikroba yang banyak terdapat disedimen mangrove mempunyai fungsi sebagai penetral limbah serta mempunyai potensi sebagai bioremediasi. Aktivitas bakteri pada bahan organik adalah memineralisasi dan juga dapat memisahkan karbon organik menjadi bentuk biomassa bakteri (Boulton dan Boon, 1991). Aktivitas bakteri dalam siklus unsur hara pada sedimen adalah hal yang tidak bisa dipisahkan karena aktivitas tersebut tergantung pada ketersediaan karbon-karbon yang dioksidasi (Pollard *et al.*, 1993). Selain itu, karbon bersama dengan unsur lainnya seperti fosfor (P) dan nitrogen (N) melalui proses fotosintesis menghasilkan jaringan tumbuhan yang menjadi makanan hewan. Keduanya menghasilkan zat organik, jika mati dan membusuk dihasilkan bahan mentah untuk memulai daur bahan organik (Yahya *et al.*, 2014).

BAB III

METODE PENELITIAN

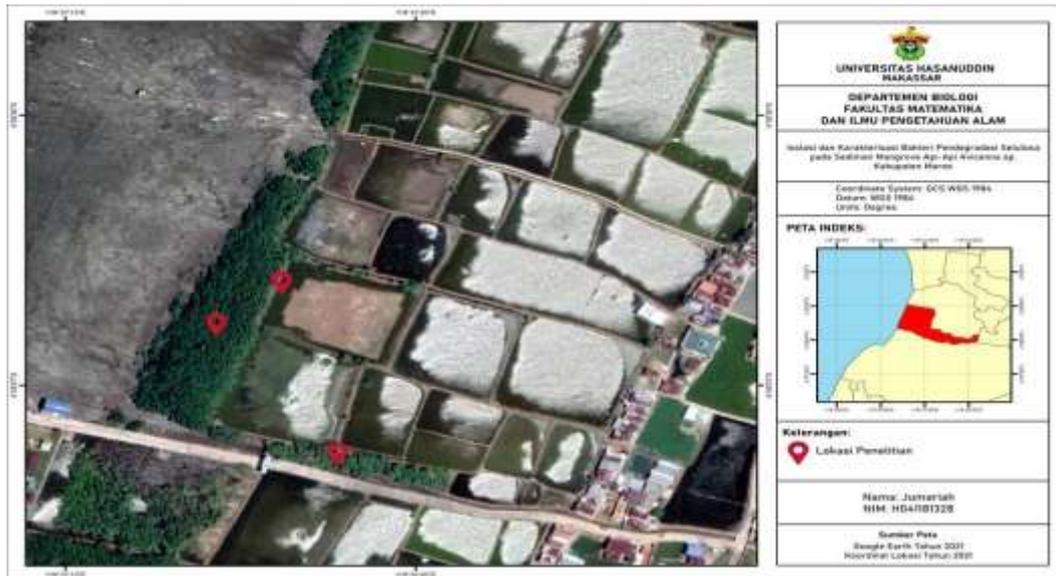
III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: objek *glass*, ose, mikroskop, enkas/LAF, cawan petri, erlenmeyer, spoit, pipet tetes, gegep kayu, gelas piala, *hot plate*, *vortex mixer*, *shaker rotator*, gelas ukur, tabung reaksi, tabung silinder, pH meter, *lux* meter, otoklaf, lemari es, inkubator, mikroskop, neraca analitik, sedimen *corer*, meteran, botol vial steril dan *cool box*. Bahan-bahan yang digunakan adalah: medium NA, medium TSIA, medium SIM, medium SCA, medium MR-VP, medium CMC 1 % dan *congo red* 0,1 %

III.3 Metode Kerja

III.3.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel sedimen mangrove api-api *Avicennia* sp. Menggunakan metode *purposive sampling* atau menentukan langsung titik lokasi pengambilan sampel yang ditentukan pada 3 (tiga) titik dari ekosistem mangrove api-api *Avicennia* sp. yang mewakili bagian depan yaitu lebih dekat ke arah laut (titik pertama), bagian tengah (titik kedua) dan bagian belakang (titik ketiga) lebih dekat ke pemukiman untuk mewakili pengambilan sampel pada lokasi. Sampel sedimen mangrove diambil pada kedalaman 5-10 cm, kemudian dikompositkan dan disimpan dalam botol vial steril lalu dibawa ke laboratorium untuk isolasi bakteri.



Gambar 3.1 Peta Lokasi Pengambilan Sampel di Desa Bonto Bahari

Keterangan:

1. Bagian depan (titik pertama)
2. Bagian tengah (titik kedua)
3. Bagian belakang (titik ketiga)

III.3.2 Sterilisasi Alat

Semua alat yang terbuat dari bahan kaca atau gelas harus disterilkan dengan menggunakan oven. Sterilisasi dilakukan dengan cara memasukkan semua alat yang telah dibungkus dengan kertas HVS bekas lalu dimasukkan kedalam oven yang bersuhu 200°C selama 2 jam, setelah itu didiamkan hingga suhunya mencapai suhu ruang sebelum digunakan. Sedangkan alat-alat non gelas dan medium disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat-alat yang terbuat dari logam disterilkan dengan cara direndam dengan alkohol lalu dibakar di atas nyala api bunsen hingga pijar.

III.3.3 Pembuatan Medium

a. Medium NA (*Nutrient Agar*)

Medium NA ditimbang sebanyak 6 g yang kemudian dilarutkan dalam 300 mL aquades didalam erlenmeyer lalu ditutup aluminium foil. Selanjutnya dipanaskan di atas *hot plate* sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer*, lalu disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

b. Medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Medium TSIA ditimbang sebanyak 6,5 g kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades di dalam gelas kimia, setelah itu dipanaskan diatas *hot plate* dan di homogenkan menggunakan *magnetic stirer*, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 7 mL sebelum disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

c. Medium SIM (*Sulfid Indol Motility*)

Medium SIM ditimbang sebanyak 3 g kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades didalam gelas kimia dan dipanaskan di atas *hot plate*, kemudian dipindahkan ketabung reaksi kecil masing-masing sebanyak 3 mL sebelum disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

d. Medium SCA (*Simmons Citrate Agar*)

Medium SCA ditimbang sebanyak 2,42 g kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades didalam gelas kimia dan dipanaskan diatas *hot plate*, lalu dihomogenkan menggunakan *magnetic stirer*, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 mL sebelum disterilkan dengan menggunakan autoklaf

pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah disterilkan medium di miringkan hingga memadat.

e. Medium MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*)

Medium MR-VP ditimbang sebanyak 1,7 g kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades didalam gelas kimia dan dipanaskan diatas *hot plate*, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL sebelum disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

f. Medium CMC (*Carboxymethyl cellulose*)

Medium CMC agar ditimbang sebanyak 1 g CMC; 0,04 g MgSO₄.7H₂O; 0,15 g KNO₃; 0,1 g K₂HPO₄; 0,004 g CaCl₂. 2H₂O; 0,4 g *yeast extract* dan 3,4 agar. Kemudian, semua bahan dimasukkan kedalam gelas ukur, lalu ditambahkan 100 mL aquades dan dimasukkan di tabung erlenmeyer, lalu di *hot plate*. Selanjutnya, disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.3.4 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode *pour plate* menggunakan sampel sedimen mangrove api-api *Avicennia* sp., lalu ditimbang masing-masing dari 3 titik sebanyak 10 gram kemudian disuspensikan dalam 90 mL *aquadest* steril dan dihomogenkan menggunakan *shaker*. Selanjutnya diambil 1 ml suspensi dan dimasukkan ke dalam 9 mL *aquadest* steril dalam tabung reaksi sehingga diperoleh faktor pengenceran 10⁻¹. Setelah itu dibuat pengenceran 10⁻² sampai 10⁻¹². Kemudian, masing-masing pengenceran 10⁻¹⁰, 10⁻¹¹ dan 10⁻¹² dimasukkan

ke dalam cawan petri aseptik, ditambahkan media nutrient agar (NA) dan dibiarkan sampai memadat, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam sampai tumbuh koloni pada media. Analisis total koloni bakteri dihitung dengan metode *plate count* dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total Plate Count} = \text{Jumlah koloni bakteri} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

III.3.5 Pemurnian bakteri

Selanjutnya pemurnian bakteri dilakukan dengan inokulasi koloni bakteri yang tumbuh menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media CMC Agar dengan metode goresan sinambung. Pemilihan koloni bakteri yang tumbuh berbeda ditentukan jenisnya berdasarkan karakteristik morfologi secara makroskopis seperti warna koloni, bentuk koloni, elevasi koloni dan tepian koloni. Koloni bakteri yang akan dimurnikan ditentukan dari perwakilan tiap kelompok bakteri yang memiliki ciri khas yang berbeda.

III.3.6 Pembuatan Sediaan Bakteri

Bakteri yang telah dimurnikan selanjutnya di inokulasikan dengan cara digores di media CMC Agar miring pada tabung reaksi. Lalu, diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

III.3.7 Uji Kemampuan Degradasi Selulosa

Setiap jenis isolat yang diperoleh dari masing-masing titik pengambilan sampel diuji kemampuan degradasi selulosa yaitu dengan menggunakan metode uji *Hydrolysis Capacity* (HC) untuk mengetahui kemampuan dari isolat bakteri dalam mendegradasi selulosa dari sedimen mangrove. Isolat bakteri murni diinokulasikan pada cawan petri yang berisi media *carboxymethyl cellulose*

(CMC) dengan metode titik. Biakan dari isolat murni diambil 2-4 isolat bakteri dengan menggunakan jarum ose kemudian disentuhkan bagian ujung jarum yang mengandung biakan pada beberapa bagian media *carboxymethyl cellulose* (CMC).

Selanjutnya, biakan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam dan diukur rasio HC. Rasio HC (*Hydrolysis capacity/ HC value*) adalah rasio antara diameter zona bening dengan diameter koloni yang menghasilkan zona bening. Indeks selulolitik dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Indeks Selulolitik} = \frac{DB - DK}{DK}$$

Keterangan:

DB = Diameter zona bening (mm)

DK = Diameter koloni (mm)

Kemudian, zona bening yang terbentuk dari setiap jenis isolat di ukur menggunakan penggaris. Setelah pengujian zona bening, dihitung persentase bakteri selulolitik dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Selulolitik} = \frac{\text{Jumlah koloni bakteri selulolitik}}{\text{Total keseluruhan koloni bakteri}} \times 100\%$$

III.3.8 Karakterisasi Isolat Bakteri

Karakterisasi isolat bakteri dilakukan melalui pengamatan morfologi secara makroskopis, sel bakteri secara mikroskopis dan fisiologis menggunakan uji biokimia. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk, ukuran dan warna sel melalui pewarnaan gram.

III.3.8.1 Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Uji TSIA dilakukan dengan menggoreskan biakan dengan ose steril pada media TSIA dengan metode tusuk sampai sepertiga dasar tabung. Kemudian diangkat dan digores secara sinambung (zig-zag) pada permukaannya setelah itu

diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu ruang. Hasil positif jika medium berubah warna merah menjadi kuning pada bagian *slant* atau *butt*. Selain itu, hasil positif gas H₂S adalah terbentuknya warna hitam pada media TSIA.

III.3.8.2 Uji Motilitas *Sulfid Indol Motility* (SIM)

Isolasi bakteri diinokulasikan secara tusukan pada medium SIM agar tegak. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 3x24 jam lalu ditetesi 2-3 tetes *kovacs reagen* apabila indol berubah warna merah yang menandakan hasil positif. Pengamatan juga dilakukan dengan melihat adanya rambatan disekitar tusukan.

III.3.8.3. Uji *Simmons Citrate Agar* (SCA)

Diambil masing-masing isolat yang diinokulasikan pada medium SCA lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Reaksi positif jika medium berubah dari hijau menjadi biru.

III.3.8.4. Uji *Methyl Red* (MR)

Dilakukan dengan cara menginokulasikan masing-masing isolat bakteri ke dalam MR-VP broth lalu diinkubasi selama 5x24 jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 3-5 tetes *methyl red* pada masing-masing tabung reaksi lalu dihomogenkan. Hasil positif menunjukkan warna merah muda pada *broth*. Hasil negatif menunjukkan warna kuning.

III.3.8.5. Uji *Voges-Proskauer* (VP)

Dilakukan dengan cara menginokulasi masing-masing isolat bakteri kedalam medium MR-VP *broth* lalu diinkubasi selama 3x24 jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 0,6 ml reagen VP A (yang mengandung

naphtol) dan ditambahkan pula 0,2 ml reagen VP B (yang mengandung KOH), kemudian dikocok hingga homogen. Sebelum memastikan hasilnya, dibiarkan dahulu selama 15-20 menit agar bereaksi. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi *pink* atau merah yang mengindikasikan adanya kehadiran aseton. Sedangkan reaksi negatif pada broth adalah tidak berubahnya warna medium atau menjadi warna tembaga.

III.3.8.6. Pewarnaan Gram

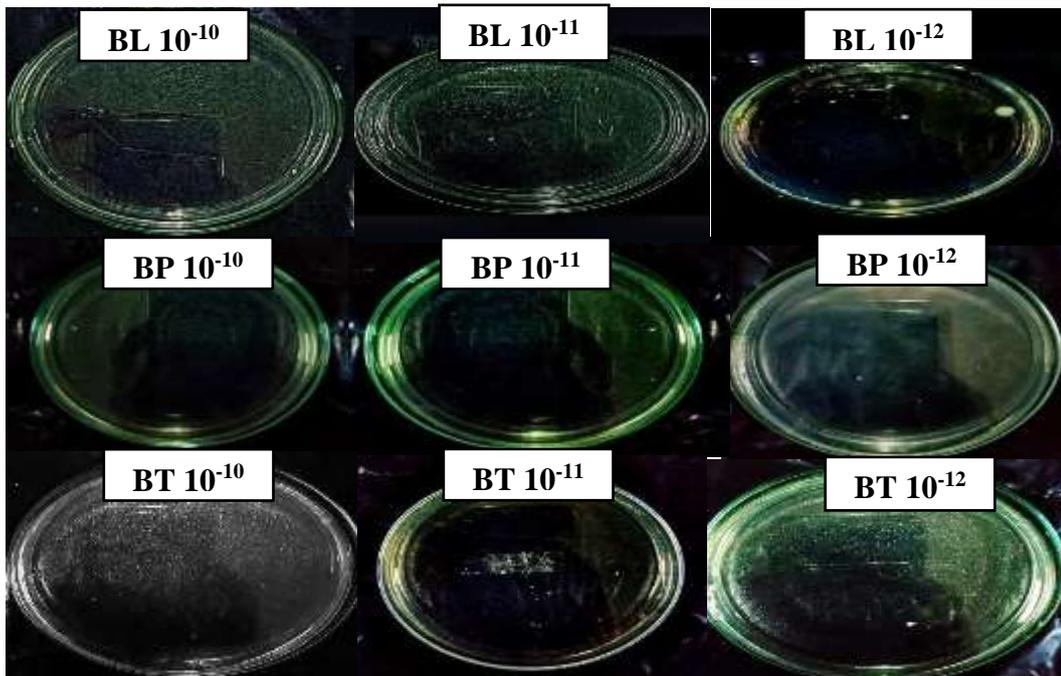
Disiapkan preparat olesan bakteri lalu difiksasi diatas api bunsen. Lalu ditetaskan larutan gram A (Cristal violet) sebanyak 2-3 tetes pada olesan bakteri. Biarkan selama 1 menit. Dicuci dengan *aquades* yang mengalir, keringkan. Tetaskan larutan gram B (lugol/JKJ) biarkan selama 1 menit. Dicuci dengan *aquades* dan keringkan. Lalu tetesi dengan larutan gram C (alkohol) biarkan selama 30 detik. Dicuci dengan *aquades* dan keringkan. Selanjutnya, ditetesi dengan larutan gram D (Safranin) biarkan selama 30 detik dan cuci dengan *aquades* serta keringkan. Kemudian, diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000X. dan ditetesi minyak emersi untuk mengumpulkan cahaya yang hasilnya tidak terbayang pada mikroskop binokuler yang digunakan. Lalu, dilakukan pengamatan bakteri jika hasil pewarnaan isolat bakteri merah maka termasuk kedalam bakteri gram negatif sedangkan jika hasil pewarnaan biru keunguan (violet) maka termasuk kedalam bakteri gram positif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Isolat Bakteri Selulolitik Dari Sedimen Mangrove Vegetasi Api-api *Avicennia* sp.

Sumber isolat bakteri diperoleh dari sedimen mangrove vegetasi api-api *Avicennia* sp. di Desa Bonto Bahari, Kabupaten Maros. Pengambilan sampel dilakukan pada tiga titik stasiun yakni bagian depan berdekatan dengan laut (BL), bagian tengah (BT) dan bagian yang dekat dengan pemukiman warga (BP). Kemudian, dilakukan pengenceran secara bertingkat menggunakan *aquades* steril hingga pengenceran 10^{-12} , masing-masing tiga pengenceran terakhir yang ditumbuhkan terlebih dahulu pada media umum *Nutrient Agar* (NA) untuk menghitung jumlah koloni bakteri. Hasil isolasi bakteri dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1 Hasil isolasi bakteri pada medium NA