

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA PADA
SEDIMEN MANGROVE BAKAU *Rhizophora* sp. DI KABUPATEN MAROS**



**MUTMAINNAH
H041201057**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA PADA
SEDIMEN MANGROVE BAKAU *Rhizophora* sp. DI KABUPATEN MAROS**

**MUTMAINNAH
H041 20 1057**



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA PADA
SEDIMEN MANGROVE BAKAU *Rhizophora* sp. DI KABUPATEN MAROS**

MUTMAINNAH
H041 20 1057

Skripsi

Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana

Program Studi Biologi

Pada

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

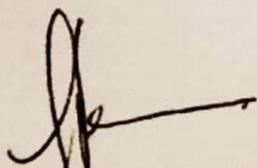
SKRIPSI**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENDEGRADASI SELULOSA PADA
SEDIMEN MANGROVE BAKAU *Rhizophora* sp. DI KABUPATEN MAROS****MUTMAINNAH****H041201057**

Skripsi,

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sarjana Biologi pada
15 Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Biologi
Departemen Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan,
Pembimbing Utama



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

Mengetahui,

Ketua Program Studi



Dr. Magdalena Litaay, M.Sc
NIP.196409291989032002

**PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, karya ilmiah berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Pada Sedimen Mangrove Bakau *Rhizophora* Sp. di Kabupaten Maros" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Dr. Fahrudin, M.Si sebagai Pembimbing Utama. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 20 Agustus 2024



MUTMAINNAH
H041201057

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan mengucapkan *Alhamdulillahirabbil'alamin*, Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurah kepada Baginda Rasulullah SAW Nabi dan Rasul yang telah mengantarkan manusia dari zaman jahiliyah menuju zaman yang terang benderang seperti saat ini.

Skripsi dengan judul "**Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Pada Sedimen Mangrove Bakau *Rhizophora Sp.* di Kabupaten Maros**" disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itu penulis mengharapkan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini, dukungan dari berbagai pihak sangat berperan penting. Rasa terima kasih yang mendalam disampaikan kepada semua yang dengan tulus memberikan doa, semangat, serta motivasi dalam pencapaian gelar sarjana. Dengan penuh kerendahan hati, penulis menyampaikan apresiasi dan penghargaan setinggi-tingginya, khususnya kepada orang tua, Ibunda tercinta Maryam yang telah melahirkan penulis dan Mama tercinta dan tersayang Halija yang telah merawat, mendidik, membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang sehingga penulis bisa berada pada titik ini dan Ayahanda tercinta Muhammad Dahlan yang selalu mengusahakan semua keinginan penulis, selalu berada di sisi penulis apapun yang terjadi dan nenek tersayang penulis Hj.Pattimang yang selalu memberikan semangat dan dukungan untuk penulis agar dapat menyelesaikan kuliah serta saudara penulis Mashudin yang selalu dengan sepenuh hati memberikan dukungan, semangat dan motivasi tanpa henti. Terima kasih telah menjadi sumber kebahagiaan dan alasan bagi penulis untuk tetap semangat berjuang untuk menyelesaikan kuliah ini agar dapat membanggakan kalian semua.

Dengan segenap kerendahan hati penulis ucapkan salam hormat dan beribu ucapan terima kasih yang sebesarnya kepada Prof Dr. Fahrudin, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan motivasi yang berharga dalam penyusunan skripsi ini. Tentunya dalam proses penelitian skripsi ini, penulis banyak mendapatkan kendala dan hambatan. Oleh karena itu, terima kasih kepada pembimbing penulis yang selalu memberikan solusi sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin, Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Si., beserta jajarannya.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Sc. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta jajarannya.
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi. Terima kasih atas motivasi yang diberikan kepada penulis selama menimba ilmu.

4. Bapak Dr. Eddyman W. Ferial, S.Si., M.Si selaku dosen Penasehat Akademik sekaligus dosen penguji penulis. Terima kasih atas segala perhatian, saran dan bimbingan dalam pengembangan akademik penulis. Terima kasih juga kepada Bapak Drs. Andi Masniawati, S.Si., M.Si selaku dosen penguji penulis yang telah banyak memberikan kritik dan saran demi kemajuan skripsi penulis.
5. Seluruh Bapak/Ibu dosen Program Studi Biologi yang telah memberikan ilmunya dan mengajarkan banyak hal selama proses perkuliahan. Terima kasih kepada staff pegawai yang banyak membantu dalam proses administrasi.
6. Kak Fuad Gani, S.Si yang telah banyak memberi bantuan dalam penelitian ini baik ilmu, bimbingan, kritik dan saran yang sangat berharga bagi penulis.
7. Sahabatku tercinta dari bangku SMA sampai sekarang Musdalifa Zainal, Yupita Meliana Putri, Nurul Ainun Naimah, dan Fitri Amalia. Terima kasih atas setiap momen suka dan duka yang dilakukan bersama. Terima kasih atas dukungan, ketulusan dan kehadiran setia dalam setiap langkah penulis. Doa dan harapan terbaik selalu menyertai kalian. Semoga persahabatan kita terjalin selamanya.
8. Sahabatku Wacana Girl's Ashriyah Irfiana, Asti Khaerani, Wilda Auliah Febriani, Nurul Ardiyah Sari, Vemy Arruanlaya dan Indira Djiloi yang selalu memberikan dukungan, menemani selama perkuliahan dan motivasi bagi penulis serta membantu dalam menyelesaikan tugas akhir saya.
9. Sahabatku Belusyifa Irhamni, Fatimah Az-zahra, Adiatna Ayu Kamila Eka Purnamasari, Like Ayu Sutrisno yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan serta semangat kepada penulis untuk bertahan dan menyelesaikan skripsi ini
10. Rekan penelitian saya Fatimah Az-Zahra dan Siti Rofiqoh, terima kasih telah menjadi bagian tak terpisahkan dari perjalanan hebat penulis. Terima kasih karena selalu bersedia mendengar keluh kesah, setia menemani, menghibur dan berbagi banyak hal kepada penulis. Terima kasih atas kehadiran setia dalam proses penelitian dan penyusunan tugas akhir dan telah bertahan sejauh ini.
11. Saudara-saudara seperjuangan, Biologi 20 UNHAS (BIOT2OPIC) atas kebersamaanya baik suka maupun duka selama perkuliahan.
12. Keluarga Mahasiswa HIMBIO FMIPA UNHAS
13. Kepada seluruh member EXO Kim Minseok, Kim Junmyeon, Zhang Yixing, Byun Baekhyun, Kim Jongdae, Park Chanyeol, Doh Kyungsoo, Kim Jongin dan Oh Sehun yang menjadi salah satu alasan penulis untuk segera menyelesaikan perkuliahan agar dapat bertemu kalian dengan hati yang tenang dan penuh cinta *We Are One, EXO Saranghaja!*

Terima kasih saya ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu. Semoga bantuan tulus yang telah diberikan mendapat imbalan yang berlipat ganda dari Allah SWT, semoga di masa yang akan datang skripsi ini bisa berguna dan bermanfaat bagi banyak orang dan terutama bagi penulis, *Aamiin Allahumma Aamiin.*

Penulis,

Mutmainnah

ABSTRAK

Mutmainnah. 2024. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Pada Sedimen Mangrove Bakau *Rhizophora* Sp. di Kabupaten Maros (dibimbing oleh Prof. Dr. Fahrudin, M.Si)

Rhizophora sp. adalah tanaman mangrove dari famili *Rhizophoraceae*, yang dikenal karena toleransinya terhadap kondisi lingkungan ekstrem seperti tanah tergenang dan kadar garam tinggi. Ekosistem mangrove ini efektif dalam memproduksi dan menyimpan bahan organik, sehingga sedimennya kaya akan bakteri penghasil enzim ekstraseluler, termasuk bakteri pendegradasi selulosa yang memecah selulosa menjadi glukosa. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri, mengkarakterisasi serta menguji kemampuannya dalam mendegradasi selulosa, dan menganalisis kandungan Karbon (C), Nitrogen (N), Fosfor (P), dan Kalium (K) dalam sedimen mangrove vegetasi bakau *Rhizophora sp.* Sampel sedimen diambil dari 3 titik vegetasi bakau *Rhizophora sp.*, di Desa Bonto Bahari, Kabupaten Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, kemudian dilakukan isolasi bakteri menggunakan media selektif yang mengandung selulosa sebagai sumber karbon yaitu *Carboxymethyl Cellulose* (CMC). Bakteri yang berhasil diisolasi kemudian diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi, biokimia, dan molekuler serta dilakukan juga Analisis kandungan C, N, P, dan K untuk memahami hubungan antara keberadaan bakteri dengan kandungan bahan organik di sedimen. Hasil penelitian diperoleh 5 isolat bakteri yang memiliki potensi tinggi dalam mendegradasi selulosa. ditandai adanya zona bening yang terbentuk dengan indeks selulolitik kategori sedang yaitu MS1A sebesar 1,28 mm sedangkan kategori rendah yaitu MS1C dengan indeks selulolitik 0,5 mm. Rasio Hasil analisis menunjukkan kandungan C/N berturut-turut sebesar 17%, 17%, dan 12%, kandungan fosfor (P) 20.19 ppm, 16.25 ppm, dan 20.14 ppm, serta kandungan kalium (K) 0.32%, 0.19%, dan 0.25%. Semua kandungan ini berada dalam batas aman untuk pertumbuhan mangrove *Rhizophora sp.* Selain itu, pH tanah di semua titik berada di atas 6, yang masih dalam kisaran toleransi untuk pertumbuhan optimal mangrove.

Kata Kunci: Isolasi Bakteri, Karakterisasi Bakteri, Pendegradasi Selulosa, Sedimen Mangrove, Bakau *Rhizophora sp.*, Bahan Organik

ABSTRACT

Mutmainnah. 2024. Isolation and Characterization of Cellulose-Degrading Bacteria from Mangrove Sediment of *Rhizophora* sp. in Maros Regency (supervised by Prof. Dr. Fahrudin, M.Si)

Rhizophora sp. is a mangrove plant from the family *Rhizophoraceae*, known for its tolerance to extreme environmental conditions such as waterlogged soils and high salinity. This mangrove ecosystem is effective in producing and storing organic matter, making its sediments rich in extracellular enzyme-producing bacteria, including cellulose-degrading bacteria that break down cellulose into glucose. This study aims to isolate bacteria, characterize and test their ability to degrade cellulose, and analyze the content of Carbon (C), Nitrogen (N), Phosphorus (P), and Potassium (K) in the mangrove sediments of *Rhizophora* sp. vegetation. Sediment samples were collected from three vegetation of *Rhizophora* sp. in Bonto Bahari Village, Maros Regency, South Sulawesi Province, and bacterial isolation was performed using selective media containing cellulose as the carbon source, namely *Carboxymethyl Cellulose* (CMC). The successfully isolated bacteria were identified based on their morphological, biochemical, and molecular characteristics, and C, N, P, and K content analysis was also conducted to understand the relationship between bacterial presence and the organic matter content in the sediments. The results of the study obtained five bacterial isolates with high potential in degrading cellulose, indicated by the formation of clear zones with medium cellulolytic index, where isolate MS1A had 1.28 mm, while isolate MS1C had a low cellulolytic index of 0.5 mm. The analysis showed that C/N content was 17%, 17%, and 12%, while phosphorus (P) content was 20.19 ppm, 16.25 ppm, and 20.14 ppm, and potassium (K) content was 0.32%, 0.19%, and 0.25%. All of these values are within safe limits for the growth of *Rhizophora* sp. mangroves. Additionally, soil pH at all sample was above 6, which is still within the tolerance range for optimal mangrove growth.

Keywords: Bacterial Isolation, Bacterial Characterization, Cellulose-Degrading Bacteria, Mangrove Sediment, *Rhizophora* sp., Organic Matter

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Teori.....	4
1.2.1 Mangrove <i>Rhizophora</i> Sp. (Bakau)	4
1.2.2 Kandungan Bahan Organik Sedimen Mangrove	5
1.2.3 Bakteri Pendegradasi Selulolitik	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB II METODE PENELITIAN	9
2.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	9
2.2 Alat	9
2.3 Bahan	9
2.4 Prosedur Penelitian.....	9
2.4.1 Pengambilan Sampel.....	9

2.4.2 Analisis Sedimen	10
2.4.3 Sterilisasi Alat	12
2.4.4 Pembuatan Media	12
2.4.5 Isolasi Bakteri Selulolitik	13
2.4.6 Pemurniaan Bakteri Selulolitik	13
2.4.7 Pembuatan Kultur Bakteri Selulolitik	14
2.4.8 Uji Kemampuan Degradasi Selulosa	14
2.4.9 Kemampuan Tumbuh isolat Bakteri pada Medium CMC <i>Broth</i>	14
2.4.10 Karakterisasi Isolat Bakteri Selulolitik	15
2.4.10.1 Pengamatan Morgologi Koloni.....	15
2.4.10.2 Pengamatan Morfologi Sel.....	15
2.4.10.3 Uji Biokimia	16
2.4.11 Analisis Data	17
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
3.1 Karakterisasi Sampel Sedimen Mangrove.....	18
3.2 Kualitas Bahan Organik Sedimen Mangrove	19
3.3 Isolasi Bakteri Selulolitik dari Sedimen Bakau <i>Rhizophora Sp.</i>	22
3.4 Jumlah Kultur Bakteri dengan Metode Standar Plate Count (SPC)	24
3.5 Pemurniaan Isolat Bakteri Selulolitik.....	25
3.6 Pembuatan Kultur Bakteri pada Media CMC	26
3.7 Uji Kemampuan Degradasi Isolat Bakteri Selulolitik.....	27
3.8 Kemampuan Tumbuh Isolat Bakteri pada Media CMC <i>Broth</i>	31
3.9 Karakterisasi Isolat Bakteri Selulolitik	33
3.9.1 Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Bakteri Selulolitik.....	33
3.9.2 Pengamatan Morfologi Sel Isolat Bakteri Selulolitik	35
3.9.3 Uji Biokimia	38
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	48

4.1 Kesimpulan	48
4.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengukuran Analisis Kualitas Sedimen Mangrove	19
2. Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri dengan Metode <i>Standar Plate Count</i> (SPC) dari Ketiga Titik Pengambilan Sampel	24
3. Hasil Uji Degradasi Isolat Bakteri Selulolitik	29
4. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Selulolitik	34
5. Hasil Pengamatan Morfologi Sel Bakteri dengan Pembesaran 1000x.....	37
6. Hasil Pengamatan Uji Biokimia Isolat Bakteri Selulolitik	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Lokasi Pengambilan Sampel Sedimen Mangrove di Desa Bonto Bahari Kabupaten Maros	10
2. Kondisi Lokasi Pengambilan Sampel	18
3. Pertumbuhan Isolat Bakteri Paa Media CMC.....	23
4. Pemurniaan Isolat Bakteri Selulolitik	26
5. Stok Kultur Isolat Murni Bakteri Selulolitik	27
6. Uji Degradasi Bakteri Selulolitik ditandai Terbentuknya Zona Bening di Sekitar Koloni.....	28
7. Pertumbuhan Isolat Bakteri Selulolitik pada Media CMC <i>Broth</i>	32
8. Pengamatan Morfologi Koloni dibawah Mikroskop Stereo dengan Perbesaran 10x.....	35
9. Pengamatan Morfologi Mikroskopik Sel Isolat Selulolitik dengan Perbesaran 1000x	36
10. Uji TSIA Isolat Bakteri Selulolitik	39
11. Uji SIM Isolat Bakteri Selulolitik.....	42
12. Uji SCA Isolat Bakteri Selulolitik	43
13. Uji MR Isolat Bakteri Selulolitik.....	44
14. Uji VP Isolat Bakteri Selulolitik.....	45
15. Uji Katalase Isolat Bakteri Selulolitik	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Prosedur Penelitian Analisis Sedimen Mangrove	57
2. Bagan Prosedur Penelitian Isolasi Bakteri Pendegradasi Selulolitik	58
3. Skema Kerja Pengambilan Sampel, Isolasi dan Seleksi Bakteri Selulolitik	59
4. Skema Kerja Uji TSIA (<i>Triple Sugar Iron Agar</i>)	60
5. Skema Kerja Uji SIM (<i>Sulfide Indole Motility</i>)	61
6. Skema Kerja Uji SCA (<i>Simmons Citrate Agar</i>)	62
7. Skema Kerja Uji MR (<i>Methyl Red</i>)	63
8. Skema Kerja Uji VP (<i>Voges Proskauer</i>)	64
9. Skema Kerja Uji Katalase	65
10. Skema Kerja Uji Degradasi	66
11. Skema Kerja Pengamatan Gram	67
12. Hasil Perhitungan Populasi Bakteri dengan Metode <i>Standar Plate Count</i> (SPC)	68
13. Foto Pengambilan Sampel	69
14. Kondisi Kultur Isolat Bakteri Selulolitik pada Media <i>CMC Broth</i>	70
15. Foto Prosedur Kerja Penelitian	72
16. Hasil Analisis Kandungan Bahan Organik Sedimen Mangrove <i>Rhizophora</i> Sp.	76

BAB 1

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Ekosistem Mangrove di Indonesia memiliki banyak keanekaragaman jenis di antaranya adalah *Rhizophora* sp., *Avicenna* sp., *Sonneratia* sp., *Bruguiera* sp., *Xylocarpus* sp., *Ceriops* sp., dan *Exoecaria* sp. Ekosistem berperan baik bagi lingkungan maupun manusia. Ekosistem Mangrove adalah salah satu ekosistem di kawasan pesisir yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Ekosistem Mangrove dapat hidup dengan baik dalam wilayah pesisir, sehingga ekosistem ini dapat mendukung lingkungan pantai. Ekosistem Mangrove memiliki fungsi seperti hutan lainnya yaitu menyerap karbon (Nasprianto,2016). Ekosistem mangrove berfungsi sebagai pencegah abrasi, produsen bagi biota laut lainnya dan juga sebagai upaya mitigasi dari pemanasan global. Ekosistem Mangrove memiliki kemampuan untuk menyimpan karbon lebih banyak dibandingkan hutan lainnya. Mangrove menyerap karbon dioksida dari atmosfer untuk proses fotosintesis yang kemudian akan diubah menjadi karbon organik dalam bentuk biomassa (Fitria *et al.*,2021).

Provinsi Sulawesi Selatan merupakan salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki kawasan mangrove sepanjang garis pantai Selat Makassar dan Teluk Bone. Status keberadaan mangrove diperkirakan telah mengalami kerusakan sekitar 90 persen dari total luas 12.256,90 ha (Mayudin, 2012). Berkurangnya kawasan mangrove hampir di seluruh kawasan pesisir di Provinsi Sulawesi Selatan, membentang di garis pantai sepanjang 1.973 km, termasuk di wilayah pesisir Kabupaten Maros. Diketahui Kabupaten Maros memiliki kawasan pesisir dengan karakteristik geografis dataran rendah yang cukup luas, di dalamnya terdapat berbagai macam penggunaan lahan seperti tambak, sawah, perkebunan, permukiman juga kawasan mangrove yang dapat dijumpai sepanjang pesisir pantai (Nursaputra, 2014).

Hasil penelitian Pranata *et al.*,2016) luas kawasan mangrove wilayah pesisir Kabupaten Maros sebesar 457,75 ha. Sejumlah wilayah telah mengalami penjarangan tajuk dengan luas total kawasan yaitu 113,16 ha, dapat dijumpai di Kecamatan Bontoa, Kecamatan Lau, Kecamatan Maros Baru dan Kecamatan Marusu. Kabupaten Maros berada di bawah garis khatulistiwa dan beriklim tropis, terdapat tata guna lahan seperti tambak, permukiman dan aktivitas nelayan yang berpusat di Dermaga Sabang Tambua Desa Bonto Bahari, Kecamatan Bontoa. Selain itu,wilayah daratan pesisir Kabupaten Maros sangat dipengaruhi oleh cuaca, khususnya pada sektor lahan pertanian (Mappiasse *et al.*,2021).

Ekosistem hutan 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. Materi organik menjadikan hutan mangrove sebagai tempat sumber makanan dan tempat asuhan berbagai biota seperti ikan, udang dan kepiting. Hutan mangrove merupakan jenis maupun komunitas tumbuhan yang tumbuh di daerah pasang surut. Selain itu, hutan

mangrove mempunyai karakteristik yang unik dibandingkan dengan formasi hutan lainnya. Keunikan hutan tersebut terlihat dari habitat tempat hidupnya, juga keanekaragaman flora, yaitu: *Avicennia*, *Rhizophora*, *Bruguiera*, dan tumbuhan lainnya yang mampu bertahan hidup disalinitas air laut, dan fauna yaitu kepiting, ikan, jenis Molusca, dan lain-lain. Hutan mangrove juga memiliki fungsi ekologi yaitu sebagai pelindung garis pantai, mencegah intrusi air laut, sebagai habitat berbagai jenis burung, dan lain-lain (Karimah.,2017).

Ekosistem mangrove memiliki kandungan tanah yang kaya akan bahan organik. Kandungan bahan organik yang terdapat di dalam tanah berasal dari daun-daun tanaman mangrove yang gugur sepanjang tahun. Daun-daun ini lama-kelamaan menumpuk dan bersatu dengan tanah. Salah satu sumber bahan organik yang dimanfaatkan sebagai nutrisi bagi sebagian besar mikroorganisme adalah serasah mangrove. Serasah yang tertimbun pada tanah selanjutnya terdekomposisi sehingga menghasilkan mineral dan nutrien yang berperan dalam kesuburan tanah. Ekosistem mangrove adalah wilayah pesisir yang menyimpan beragam plasma nutfah salah satunya adalah bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki kemampuan menghidrolisis kompleks selulosa menjadi glukosa karena menghasilkan selulase (Biswas *et al.*,2020).

Rawa bakau dicirikan berada didekat garis pantai dengan riak ringan. tidak terpengaruh oleh kekuatan gelombang, di dekatnya daerah muara dan delta yang terkena dampak Puing dan sedimen mengalir ke danau dari daratan. Mangrove merupakan tumbuhan pesisir yang dapat ditemukan di berbagai daerah. biasanya terletak di dekat laut, dan juga selalu atau kadang-kadang. secara teratur dibanjiri air laut atau cairan serupa. dipengaruhi oleh pasang surut, biasanya secara positif. hutan dengan tanah berpasir atau berlumpur dan daerah pesisir dengan tanah yang tidak stabil (Mahmuda *et al.*,2023)

Jenis mangrove *Rhizophora* atau dikenal dengan akar tunjang disebut sebagai mangrove minyak, mangrove tandok dan mangrove bushman. Disebut juga bakau kacang dan berbagai nama lainnya. Ini adalah batang pohon yang tumbuh dari *Rhizophora* Sp. Bagian luarnya yang kasar berwarna abu-abu gelap. *Rhizophora* Sp. bercabang akar ke udara dengan daun hijau tua. warna hijau gelap di tengah dengan tepi kemerahan. menyerupai oval runcing dengan ujung yang ramping. Dedaunan *Rhizophora* Sp. biasanya memiliki tepi bergerigi. Bunga berukuran 7-8 x 3,5-7 sentimeter. Ini memiliki empat kelopak. Buah berbentuk bulat seperti bola. Memiliki 4 kelopak dan 12 benang sari. Buah berbentuk memanjang dan berwarna coklat kehijauan. Permukaannya kasar. Genus ini memiliki daun berwarna hijau tua dengan daun lonjong runcing. Daunnya runcing, tepi halus mengkilat, dengan stipula merah. tangkai daun pendek dengan ketebalan 6 sampai 14 sentimeter. Tunas bercabang menjadi silinder, dengan pasir di lingkungan alaminya. campuran lumpur berpasir dan tanah berlumpur (Mahmuda *et al.*,2023).

Mikroorganisme penghasil enzim banyak dijumpai di alam, seperti dari air, tanah dan biota, termasuk pada ekosistem mangrove. Enzim ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulase) merupakan enzim yang diproduksi oleh bakteri yang ditemukan pada sedimen dari ekosistem mangrove. Mangrove

merupakan ekosistem pesisir yang sangat produktif dimana bakteri yang terdapat di kawasan ini berperan aktif dalam biomineralisasi dan biotransformasi mineral. Serasah yang berasal dari daun mangrove yang jatuh ke tanah merupakan tempat hidup bagi bakteri, jamur dan mikroorganisme lainnya. Selain itu serasah merupakan sumber utama selulosa, sehingga memungkinkan kandungan selulosa di tanah mangrove tinggi. Proses penguraian selulosa sangat bergantung kepada keberadaan enzim selulase yang dimiliki oleh mikroorganisme pengurai yaitu bakteri selulolitik (Harjuni et al.,2020).

Bakteri selulolitik mendegradasi selulosa yang terdapat pada daun, terutama pada dedaunan yang tertimbun lumpur mangrove. Hasil hidrolisis selulosa selanjutnya digunakan sebagai sumber karbon dan energi di dalam sel (Biswas et al, 2020). Selulase tergolong biokatalisator yang berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis selulosa menjadi rantai selulosa sederhana (oligosakarida) yang kemudian diubah menjadi glukosa. Selulase merupakan nama kelompok enzim yang memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 didalam selulosa. Selulase terdiri dari enzim-enzim yang bekerjasama secara sinergis untuk menghidrolisis selulosa Beberapa genus bakteri selulolitik penghasil selulase yaitu *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Pseudomonas* (Batubara et al.,2022).

Ekosistem mangrove merupakan salah satu sumber ditemukannya mikroba yang berpotensi dalam menghasilkan enzim dan molekul yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia, industri, pertanian, perikanan, dan bioremediasi (Subagiyo et al., 2017). Bakteri memainkan peran penting dalam ekosistem mangrove terutama dalam mengurai serasah daun dan kayu lapuk (Yahya et al., 2018). Bakteri selulolitik pada serasah dan kayu diindikasikan memiliki kemampuan mendegradasi serat dan selulosa sehingga mempercepat pelapukan disekitar wilayah mangrove (Kurniawan et al., 2018).

Bakteri selulolitik memiliki kemampuan dalam mendegradasi komponen kompleks selulosa ke bentuk yang lebih sederhana yaitu glukosa (Fauziah & Ibrahim, 2020). Menurut Rudiansyah et al. (2017), bakteri selulolitik memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan bakteri jenis lainnya sehingga produksi bakteri selulolitik hanya membutuhkan waktu yang singkat. Genus-genus bakteri yang umumnya dapat mendegradasi selulosa antara lain adalah anggota dari genus *Nisseria*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *flavobacterium*, dan *Actinobacillus*. Hutan mangrove memiliki kelimpahan bahan organik. Bahan organik merupakan sumber makanan bagi bakteri selulolitik (Ananda et al.,2023).

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 bakau *Rhizophora* sp. di Kabupaten Maros, Kecamatan Bontoa, Desa Bonto Bahari.

I.2 Teori

Penelitian ini memiliki beberapa poin teori sebagai berikut:

1.2.1 Mangrove *Rhizophora* sp. (Bakau)

Rhizophora sp. merupakan salah satu jenis tanaman mangrove, yaitu kelompok tanaman tropis yang bersifat *halophytic* atau toleran terhadap garam. Mangrove memiliki kemampuan khusus untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ekstrim, seperti kondisi tanah yang tergenang, kadar garam yang tinggi serta kondisi tanah yang kurang stabil. Kondisi lingkungan seperti itu menyebabkan beberapa jenis mangrove mengembangkan mekanisme yang memungkinkan secara aktif mengeluarkan garam dari jaringan, sementara yang lainnya mengembangkan sistem akar napas untuk membantu memperoleh oksigen bagi sistem perakarannya (Nusaibah *et al.*,2022).

Ekosistem mangrove memiliki zonasi yang terbagi menjadi empat zona utama: zona terbuka, zona tengah, zona payau, dan zona daratan, yang masing-masing ditentukan oleh kondisi lingkungan seperti salinitas, penggenangan, pasang surut, serta laju pengendapan dan pengikisan tanah. Di zona terbuka, yang paling dekat dengan laut, hanya spesies mangrove yang sangat toleran terhadap salinitas tinggi dan sering terendam air yang dapat bertahan, seperti *Avicennia* dan *Sonneratia*. Zona tengah, yang masih dipengaruhi pasang surut namun dengan salinitas lebih rendah, umumnya didominasi oleh spesies seperti *Rhizophora* yang memiliki adaptasi akar kuat untuk menahan erosi. Zona payau terletak lebih jauh ke daratan, di mana air asin dan air tawar bercampur, memungkinkan tumbuhnya spesies seperti *Bruguiera* dan *Ceriops* yang toleran terhadap kondisi tanah lebih padat dan kurang asin. Terakhir, zona daratan, yang paling jauh dari laut, memiliki salinitas rendah dan dipengaruhi oleh air tawar, sehingga didominasi oleh spesies seperti *Xylocarpus* dan *Excoecaria* yang lebih toleran terhadap kondisi tanah lebih kering. Zonasi ini mencerminkan tahapan suksesi ekologis yang terjadi seiring perubahan lingkungan, di mana spesies mangrove yang lebih adaptif terhadap kondisi spesifik pada setiap zona menentukan komposisi vegetasi. Semakin jauh dari laut, komposisi spesies berubah secara bertahap hingga mencapai perbatasan dengan rawa air tawar atau hutan pedalaman, menciptakan transisi alami antara ekosistem mangrove dan ekosistem daratan. (Rahmadhani *et al.*,2021).

Zonasi adalah kondisi dimana kumpulan vegetasi yang saling berdekatan mempunyai sifat atau tidak ada sama sekali jenis yang sama walaupun tumbuh dalam lingkungan yang sama dimana dapat terjadi perubahan lingkungan yang dapat mengakibatkan perubahan nyata di antara kumpulan vegetasi, selanjutnya perubahan vegetasi tersebut dapat terjadi pada batas yang jelas atau tidak jelas atau bisa terjadi Bersama-sama Zonasi hutan mangrove sangat dipengaruhi oleh substrat, salinitas dan pasang surut. Hal tersebut berkaitan erat dengan tipe tanah (lumpur, pasir atau gambut), keterbukaan (terhadap hempasan gelombang), salinitas serta pangaruh pasang surut. Pasang surut dan arus yang membawa material sedimen dan substrat yang membawa material sedimen dan substrat yang terjadi secara priodik menyebabkan perbedaan dalam pembentukan zonasi mangrove. Substrat berlumpur ini sangat baik untuk tegakan *Rhizophora mucronate* (Mughofur *et al.*,2018).

Jenis mangrove yang sering di jumpai di Indonesia yaitu *Rhizophora* yang terdiri dari 3 spesies antara lain *Rhizophora mucronata*, *Rhizophora apiculata*, dan *Rhizophora stylosa*. Jenis-jenis mangrove tersebut menempati dan tumbuh pada berbagai habitat pasang surut, bahkan di tempat dengan salinitas tinggi. Hidupnya bergerombol membentuk suatu kelompok. Berbuah sepanjang tahun, kadang - kadang bersifat vivipar, buah membuka pada saat telah matang melalui lapisan dorsal dan terbuka karena dimakan semut atau setelah terjadi penyerapan air (Maretik *et al.*,2022).

Vegetasi *Rhizophora* sp. merupakan salah satu jenis mangrove, yaitu kelompok tanaman tropis yang bersifat halofitik (jenis tanaman yang tumbuh dan hidup dengan baik di pantai maupun di laut) dan toleran terhadap garam. Genus *Rhizophora* merupakan tanaman mangrove yang paling sering dijumpai, dikenal juga dengan nama lokal sebagai bakau, ancang, ranjang (Jawa), wako atau jangkar. Habitatnya adalah daerah yang memiliki salinitas (kadar garam) sedang, di seluruh pematang, tambak, pinggir sungai dan pantai berlumpur (Prihatin *et al.*,2023).

Rhizophora sp. adalah salah satu jenis tumbuhan mangrove yang dominan di Asia Pasifik, termasuk di Indonesia. Tumbuhan ini menyukai tanah berlumpur pasir. Jika dilihat dari ciri struktur vegetasinya, tumbuhan ini memiliki bentuk akar tunjang sebagai penanda kemampuan beradaptasi terhadap kondisi substrat anoksik dan minim oksigen (Kadarsah *et al.*,2013).

1.2.2 Kandungan Bahan Organik Sedimen Mangrove

Bahan organik merupakan salah satu komponen penyusun substrat dasar perairan yang merupakan penimbunan sisa-sisa tumbuhan dan hewan. Sumber penting bahan organik juga berasal dari daratan melalui sungai, sehingga di daerah tersebut memiliki besar bahan organik. Dalam perairan, bahan organik terdapat dalam bentuk detritus. Sejumlah besar bahan-bahan ini terbentuk sisa-sisa tumbuhan atau hewan bentik yang hancur, yang hidup di perairan pantai yang dangkal. Sumber lain bahan organik adalah sisa-sisa tubuh organisme pelagis yang mati dan tenggelam ke dasar serta kotoran binatang dalam perairan. Semakin dalam (dari permukaan) maka kandungan bahan organik semakin menurun dengan kandungan tertinggi pada lapisan atas atau top soil (0-10 cm) diikuti bagian bawah atau subsoil (10-20 cm) (Ambeng.,2020).

Bahan organik merupakan pencemar perairan yang paling umum dijumpai, dan dampak yang ditimbulkannya tidak langsung. Masalah yang ditimbulkannya adalah menurunkan kandungan oksigen terlarut dan terjadi proses eutrofikasi (proses bertumbuh-kembangnya organisme perairan karena kesuburan yang meningkat dan biasanya mempunyai dampak negatif terhadap ikan). Sedimen yang berasal dari hancuran bahan-bahan organik dari hewan maupun tumbuhan yang sudah mati, disebut juga sedimen organik atau sedimen *organogen* atau *biolit*. Secara umum, pendeposisian material organik karbon dan keadaannya (material yang bersumber dari cangkang dan karang) lebih banyak terdapat di daerah dekat pantai dan pada lingkungan laut lepas (Manengkey.,2010).

Sedimen merupakan tempat terakumulasinya bahan organik baik yang sudah terdekomposisi atau yang belum terdekomposisi. Bahan organik merupakan salah satu indikator kesuburan lingkungan baik di darat maupun di laut. Kandungan bahan organik di darat mencerminkan kualitas tanah dan di perairan menjadi faktor kualitas perairan pada suatu lingkungan. Bahan organik dalam jumlah tertentu akan berguna bagi perairan, tetapi apabila jumlah yang masuk melebihi daya dukung perairan maka akan mengganggu perairan itu sendiri (Sari et al., 2014).

Nitrogen dan Fosfor merupakan salah satu dari bahan organik yang sangat penting, oleh sebab itu di suatu ekosistem perairan bahan organik Nitrogen dan Fosfor harus lebih banyak dari pada bahan organik yang lain. Nitrogen dan Fosfor memiliki fungsi yang sangat diperlukan atau dibutuhkan oleh tumbuhan khususnya mangrove. Nitrogen dan Fosfor digunakan oleh tanaman untuk membantu proses fotosintesis, dimana untuk keberlangsungan hidup dan juga untuk mempertahankan rantai makanan pada ekosistem di sekitar tanaman tersebut (Yulma et al., 2018).

Keberadaan bahan organik di perairan memiliki manfaat utama yaitu sebagai sumber nutrisi bagi biota yang berada di perairan tersebut. Bahan organik di perairan akan dirombak oleh bakteri pengurai menjadi senyawa amonia dan amonium yang akan mengalami proses nitrifikasi menjadi nitrit dan nitrat. Konsentrasi bahan organik berkaitan erat dengan kepadatan total bakteri pada perairan, karena semakin banyak konsentrasi bahan organik maka semakin banyak pula kepadatan total bakteri yang terkandung di perairan tersebut (Andriyanto et al., 2019).

Sedimen hutan mangrove memiliki potensi yang besar sebagai sumber berbagai bahan organik pada vegetasi kehidupan pesisir. Mangrove merupakan jalur penting bagi siklus bahan organik di lingkungan tropis, khususnya karbon. Hutan mangrove memiliki produktivitas primer sangat tinggi, serta dapat mempengaruhi dan mengatur siklus nutrisi, dalam bentuk serasah dan bahan organik partikulat atau terlarut. Berdasarkan penelitian Prasad (2008), sedimen hutan mangrove memiliki kandungan karbon organik sebanyak 70 %, lebih banyak dibandingkan sedimen muara sungai (Wiryawan et al., 2014).

Karbon organik merupakan salah satu komponen penting bagi kehidupan biota laut. Kandungan karbon organik mudah urai di perairan dapat menyumbang kesuburan dan kualitas perairan. Karbon organik berasal dari 2 (dua) sumber yaitu alamiah dan aktivitas antropogenik. Beberapa bahan organik dapat terdekomposisi dan diubah menjadi komponen anorganik, namun sebagian tidak dapat berubah dan menjadi komponen penting sebagai penyusun unsur kimiawi di sedimen dan dapat menyerap senyawa kimiawi lain yang terlarut dalam air (Barus et al., 2020).

Fosfat mempunyai peranan penting sebagai zat hara yang diperlukan untuk kehidupan organisme di laut. Selain bersumber dari pelapukan batuan mineral dari daratan, fosfat di perairan juga dapat berasal dari degradasi bahan organik sehingga jika kandungan karbon organik di suatu perairan memiliki konsentrasi yang tinggi maka terdapat kemungkinan kandungan fosfat di perairan tersebut juga tinggi (Patty et al., 2015).

1.2.3 Bakteri Pendegradasi Selulolitik

Selulosa adalah salah satu biopolimer yang melimpah di alam, bersama dengan lignin dan polisakarida lain seperti hemiselulosa pada bahan-bahan yang berasal dari tanaman dan kompos. Bakteri selulolitik adalah salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim selulase. Fungsi bakteri selulolitik adalah untuk menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa. Bahan organik yang mengandung selulosa merupakan substrat bagi pertumbuhan bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik secara alami terdapat pada lahan pertanian, hutan, kompos, tanaman yang telah melapuk, atau pada serasah daun (Arifin *et al.*,2019).

Mangrove sebagai area dengan dekomposisi bahan organik yang tinggi memungkinkan wilayahnya menjadi sumber makanan dan habitat untuk berbagai komoditas perikanan seperti ikan, kepiting, udang dan kerrang. Proses dekomposisi membutuhkan bahan organik dari serasah daun mangrove sebagai sumber selulosa. Jumlah serasah daun dipengaruhi kerapatan mangrove dan mempengaruhi dominasi organisme pengurai. Keberadaan pengurai, salah satunya adalah bakteri pendegradasi selulosa, berperan penting pada rantai manfaat mangrove (Kurniawan *et al.*,2019).

Perombakan bahan organik dengan kandungan selulosa memungkinkan peran mikroorganisme yang menghasilkan enzim ekstraseluler sebagaimana bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik mampu degradasi selulosa menjadi gula yang lebih sederhana dalam bentuk oligosakarida dan glukosa melalui enzim selulase yang dihasilkannya. Selulosa merupakan salah satu polimer dengan ketersediaan melimpah di alam. Pemanfaatannya sebagai bahan organik yang terkendala pada kecernaannya yang rendah dimungkinkan dapat diperbaiki dengan proses dekomposisi memanfaatkan bakteri selulolitik. Limbah pertanian dan perkebunan yang kaya selulosa dapat ditingkatkan kegunaannya sebagai sumber energi dengan melibatkan bakteri selulolitik dari mangrove (Kurniawan *et al.*, 2018).

Mikroorganisme penghasil enzim banyak dijumpai di alam, seperti dari air, tanah dan biota, termasuk pada ekosistem mangrove. Enzim ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulase) merupakan enzim yang diproduksi oleh bakteri yang ditemukan pada sedimen dari ekosistem mangrove. Bakteri selulolitik, yaitu bakteri pengurai selulosa, banyak dijumpai dari berbagai sumber. Sumber alami bakteri ini telah diisolasi dari tanah dan dari tanah mangrove (Maulani *et al.*, 2016).

Mangrove merupakan ekosistem pesisir yang sangat produktif dimana bakteri yang terdapat di kawasan ini berperan aktif dalam biomineralisasi dan biotransformasi mineral. Serasah yang berasal dari daun mangrove yang jatuh ke tanah merupakan tempat hidup bagi bakteri, jamur dan mikroorganisme lainnya. Selain itu serasah merupakan sumber utama selulosa, sehingga memungkinkan kandungan selulosa di tanah mangrove tinggi. Proses penguraian selulosa sangat bergantung kepada keberadaan enzim selulase yang dimiliki oleh mikroorganisme pengurai yaitu bakteri selulolitik (Harjuni *et al.*,2020). Adanya aktivitas bakteri pengurai inilah yang menyebabkan produktivitas ekosistem mangrove menjadi tinggi. Pada penelitian yang dilakukan terhadap dekomposisi serasah di kawasan pesisir

Kuala Indragiri Kabupaten Indragiri Hilir Provinsi Riau didapatkan tiga genus bakteri yang berperan, yaitu *Pseudomonas*, *Xanthomonas* dan *Bacillus* (Simanjuntak *et al.*, 2015).

Selulase merupakan kumpulan dari beberapa enzim yang bekerja bersama untuk hidrolisis selulosa. Mikroorganisme tertentu menghasilkan partikel yang dinamakan selulosom. Partikel inilah yang akan terdisintegrasi menjadi enzim-enzim, yang secara sinergis mendegradasi selulosa. Sedikitnya ada tiga enzim yang terlibat dalam degradasi atau hidrolisis selulosa, yaitu endo- β -glukanase, ekso- β -glukanase, dan β -glukosidase. Enzim selulase yang dihasilkan bakteri selulolitik mendegradasi selulose pada tumbuhan menjadi sumber energi yang dapat dicerna. Bakteri selulolitik teridentifikasi di tanah mangrove atau hutan bakau dan vermikompos. Bahan-bahan organik dari tumbuhan yang mengalami pelapukan baik berupa kayu maupun daun di area hutan mangrove dimungkinkan adanya peran bakteri selulolitik (Kurniawan *et al.*, 2018).

Selulase tergolong biokatalisator yang berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis selulosa menjadi rantai selulosa sederhana (oligosakarida) yang kemudian diubah menjadi glukosa. Selulase merupakan nama kelompok enzim yang memutuskan ikatan glikosidik β -1,4 didalam selulosa. Selulase terdiri dari enzim-enzim yang bekerjasama secara sinergis untuk menghidrolisis selulosa. Beberapa genus bakteri selulolitik penghasil selulase yang telah dilaporkan sebelumnya yaitu *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Pseudomonas* (Maulani *et al.*, 2016).

Produksi serasah mangrove yang tinggi secara langsung berhubungan dengan struktur komunitas mangrove yang juga didukung oleh faktor-faktor lingkungan, antara lain musim dan suhu udara. Struktur komunitas yang terdiri dari banyak jenis mangrove akan menghasilkan serasah dalam jumlah yang lebih besar, karena tegakan mangrove memiliki kerapatan tinggi dan menghasilkan produksi serasah yang tinggi pula. Kerapatan mangrove yang tinggi akan menghalangi intensitas cahaya matahari masuk ke dasar hutan karena terhalang oleh rimbunnya tajuk daun mangrove, hal ini menyebabkan kelembaban di permukaan tanah tinggi, sehingga meningkatkan laju dekomposisi oleh bakteri dan jamur (Yulma *et al.*, 2013).

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

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

I.4 Manfaat Penelitian

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

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan 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 April 2024 sampai Juni 2024.

2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, erlenmeyer, wadah kaca, tabung reaksi, gelas kimia, gelas ukur, ose bulat, ose lurus, bunsen, pipet tetes, sendok tanduk, rak tabung, sekop, spoit, plastik sampel, *cool box*, pH meter, timbangan analitik, *laminar air flow*, inkubator, *shaker*, *hot plate*, otoklaf, buret, mikroskop, oven, sentrifuse, neraca analitik, *flame photometer*, dan spektrofotometer UV-VIS

2.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sedimen mangrove *Rhizophora* sp. medium *Nutrient Agar* (NA), medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), medium *Sulfite Indol Motility* (SIM), medium *Simmon Citrate Agar* (SCA), medium *Methyl Red* dan *Voges-Prokauer* (MR-VP), medium CMC 1%, *congo red* 0,1%, larutan H₂O₂ 3%, kalium dikromat (K₂Cr₂O₇), barium hidroksida (Ba(OH)₂), larutan asam borat, asam sulfat pekat, reagen Bray 1, spiritus, akuades, kapas, alkohol, kain kasa, *clingwrap*, label dan aluminium foil.

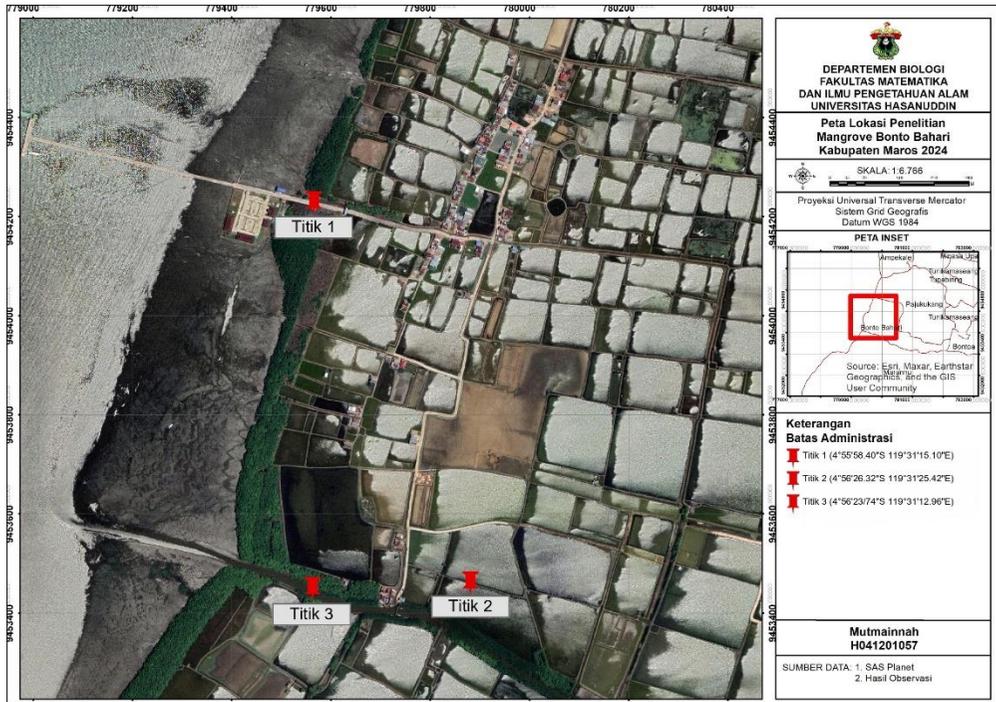
2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel sedimen mangrove *Rhizophora* sp. dilakukan menggunakan metode *purposive sampling*, di mana lokasi pengambilan sampel ditentukan secara langsung pada tiga titik sampel yang representatif. Titik pertama berada di bagian depan, yang terletak lebih dekat ke laut. Lokasi ini dipilih karena merupakan zona yang paling sering terpengaruh oleh pasang surut air laut, yang dapat mempengaruhi sifat fisik dan kimia sedimen. Titik kedua berada di bagian tengah kawasan mangrove. Area ini dianggap sebagai zona transisi yang memiliki karakteristik antara zona depan yang lebih terbuka dan zona belakang yang lebih terlindung. Titik ketiga terletak di bagian belakang, yang lebih dekat ke pemukiman warga. Titik ini dipilih untuk melihat pengaruh aktivitas manusia terhadap kondisi sedimen mangrove.

Sampel sedimen diambil dari kedalaman 5-10 cm, yang dianggap sebagai lapisan stabil dan kaya akan mikroorganisme. Kedalaman ini dipilih karena lapisan tersebut biasanya memiliki kondisi lingkungan yang lebih konsisten, seperti kelembaban dan ketersediaan nutrisi, yang mendukung pertumbuhan dan aktivitas

mikroorganismenya. Setelah diambil, sampel dimasukkan ke dalam botol steril untuk mencegah kontaminasi dan diberi label sesuai dengan lokasi pengambilan. Selanjutnya, sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi bakteri, dengan tujuan mengidentifikasi jenis-jenis bakteri yang hidup di lingkungan mangrove *Rhizophora* sp. Peta lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel sedimen mangrove di Desa Bonto Bahari Kabupaten Maros

2.4.2 Analisis Sedimen

Karakterisasi secara kimia meliputi pengukuran pH, karbon (C), kandungan nitrogen (N), penentuan fosfor (P) dan kalium (K).

1. Kandungan Karbon (C) dengan metode Walkley & Black

Ditimbang 0,500 g contoh tanah ukuran <0,5 mm, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Tambahkan 5 ml $K_2Cr_2O_7$ 1 N, lalu dikocok. Tambahkan 7,5 ml H_2SO_4 pekat, dikocok lalu diamkan selama 30 menit. Diencerkan dengan air bebas ion, biarkan dingin dan diimpitkan. Keesokan harinya diukur absorbansi larutan jernih dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 561 nm. Sebagai pembanding dibuat standar 0 dan 250 ppm, dengan memipet 0 dan 5 ml larutan standar 5.000 ppm ke dalam labu ukur 100 ml dengan perlakuan yang sama dengan pengerjaan contoh.

2. Kandungan Nitrogen (N) dengan metode Kjeldahl

Ditimbang 0,500 g contoh tanah ukuran <0,5 mm, masukan ke dalam tabung digest. Tambahkan 1 g campuran selen dan 3 ml asam sulfat pekat, didestruksi hingga suhu 350°C (3-4 jam). Destruksi selesai bila keluar uap putih dan didapat ekstrak jernih (sekitar 4 jam). Tabung diangkat, didinginkan dan kemudian ekstrak diencerkan dengan air bebas ion hingga tepat 50 ml. Kocok sampai homogen, biarkan semalam agar partikel mengendap. Ekstrak digunakan untuk pengukuran N dengan cara destilasi atau cara kolorimetri.

Pindahkan secara kualitatif seluruh ekstrak contoh ke dalam labu didih (gunakan air bebas ion dan labu semprot). Tambahkan sedikit serbuk batu didih dan aquades hingga setengah volume labu. Disiapkan penampung untuk NH₃ yang dibebaskan yaitu erlenmeyer yang berisi 10 ml asam borat 1% yang ditambah 3 tetes indikator Conway (berwarna merah) dan dihubungkan dengan alat destilasi. Dengan gelas ukur, tambahkan NaOH 40% sebanyak 10 ml ke dalam labu didih yang berisi contoh dan secepatnya ditutup. Didestilasi hingga volume penampung mencapai 50-75 ml (berwarna hijau). Destilat dititrasi dengan H₂SO₄ 0,050 N hingga warna merah muda. Catat volume titar contoh (V_c) dan blanko (V_b).

3. Kandungan Fosfat (P) dengan metode Olsen

Ditimbang 1,000 g contoh tanah <2 mm, dimasukkan ke dalam botol kocok, ditambah 20 ml pengeksrak Olsen, kemudian dikocok selama 30 menit. Saring dan bila larutan keruh dikembalikan lagi ke atas saringan semula. Ekstrak dipipet 2 ml ke dalam tabung reaksi dan selanjutnya bersama deret standar ditambahkan 10 ml pereaksi pewarna fosfat, kocok hingga homogen dan biarkan 30 menit. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 693 nm.

4. Kandungan Kalium (K) dengan ekstrak HCL 25%

Ditimbang 2,000 g contoh tanah ukuran <2 mm, dimasukkan ke dalam botol kocok dan ditambahkan 10 ml HCl 25% lalu kocok dengan mesin kocok selama 5 jam. Masukan ke dalam tabung reaksi dibiarkan semalam atau disentrifuse. Pipet 0,5 ml ekstrak jernih contoh ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 9,5 ml air bebas ion (pengenceran 20x) dan dikocok. Pipet 2 ml ekstrak contoh encer dan deret standar masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian diukur langsung dengan alat *flamefotometer*.

5. Derajat Keasaman (pH) Sedimen Mangrove

Ditimbang 10,00 g contoh tanah sebanyak dua kali, masing-masing dimasukkan ke dalam botol kocok, ditambah 50 ml air bebas ion ke botol yang satu (pH H₂O) dan 50 ml KCl 1 M ke dalam botol lainnya (pH KCl). Kocok dengan mesin pengocok selama 30 menit. Suspensi tanah diukur dengan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan *buffer* pH 7,0 dan pH 4,0. Laporkan nilai pH dalam 1 desimal. Pengukuran pH H₂O memberikan gambaran tentang reaktivitas tanah secara alami, sementara pengukuran pH KCl memberikan hasil yang lebih stabil dan mencerminkan kapasitas penyangga tanah.

2.4.3 Sterilisasi Alat

Semua peralatan yang terbuat dari kaca atau gelas harus disterilkan dengan menggunakan oven. Untuk sterilisasi dilakukan dengan cara memasukkan semua alat yang telah dibungkus dengan kertas HVS kedalam oven yang bersuhu 200°C selama 2 jam, setelah itu dibiarkan hingga suhunya mencapai suhu ruang sebelum digunakan. Sedangkan alat instrumen non kaca dan berukuran sedang disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C pada 2 atm selama 15 menit. Peralatan yang terbuat dari logam disterilkan dengan cara direndam dalam alkohol kemudian dibakar dengan api bunsen hingga pijar.

2.4.4. Pembuatan Media

a. Medium NA (*Nutrient Agar*)

Medium NA ditimbang sebanyak 6 gram, kemudian dilarutkan dalam 300 mL akuades dalam labu Erlenmeyer lalu ditutup dengan aluminium foil. Kemudian panaskan di atas hot plate sambil dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan disterilkan dalam autoklaf bersuhu 121°C pada 2 atm selama 15 menit.

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

Medium TSIA ditimbang sebanyak 6,5 gram kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades di dalam gelas kimia, setelah itu dipanaskan di atas hot plate kemudian di homogenkan menggunakan *magnetic stirrer*, selanjutnya 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 gram kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades didalam gelas kimia dan dipanaskan di atas hot plate, selanjutnya dipindahkan ketabung reaksi berukuran kecil masing-masing sebanyak 3 mL setelah itu 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 gram kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades didalam gelas kimia dan dipanaskan di atas hot plate, lalu dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5 mL setelah itu 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 gram kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades didalam gelas kimia dan dipanaskan di atas hot plate,

selanjutnya dimasukkan kedalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

f. Medium CMC (*Carboxymethyl cellulose*)

Medium CMC agar ditimbang sebanyak 1 gram 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. Setelah sterilisasi selesai, medium didinginkan hingga mencapai suhu ruang atau suhu yang sesuai sebelum digunakan untuk inokulasi mikroorganisme.

2.4.5 Isolasi Bakteri Selulolitik

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode *pour plate* menggunakan sampel sedimen mangrove Bakau *Rhizophora* sp., lalu ditimbang masing-masing dari 3 titik sebanyak 45 gram kemudian disuspensikan dalam 90 mL aquadest steril dan dihomogenkan menggunakan sendok. 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 10⁻⁶. Kemudian, masing-masing pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵ dan 10⁻⁶ dimasukkan ke dalam cawan petri aseptik, yang berisikan media *nutrient agar* (NA) dan dibiarkan sampai memadat, selanjutnya 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:

$$\text{Total Plate Count} = \text{Jumlah Koloni Bakteri} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

2.4.6 Pemurniaan Bakteri Selulolitik

Pemurnian bakteri dilakukan dengan menginokulasi koloni bakteri yang tumbuh pada media NA menggunakan jarum ose dan digoreskan pada media CMC Agar dengan metode goresan sinambung. Metode goresan sinambung ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri murni dengan menyebarkan bakteri secara bertahap sehingga koloni yang tumbuh terpisah dengan jelas. Pemilihan koloni bakteri yang tumbuh berbeda ditentukan jenisnya berdasarkan karakteristik morfologi secara makroskopis seperti warna koloni, bentuk koloni, elevasi koloni dan tepian koloni. Setiap koloni yang memiliki perbedaan morfologis ini dipilih untuk dilakukan pemurnian, dengan tujuan untuk memastikan bahwa tiap isolat bakteri yang diambil berasal dari jenis yang berbeda. Koloni bakteri yang akan dimurnikan ditentukan dari perwakilan tiap kelompok bakteri yang memiliki ciri khas yang berbeda.

2.4.7 Pembuatan Kultur Bakteri Selulolitik

Bakteri yang telah dimurnikan kemudian diinokulasikan dengan metode goresan pada media CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) Agar miring dalam tabung reaksi. Proses inokulasi ini bertujuan untuk menumbuhkan bakteri pada media yang mengandung selulosa sebagai sumber karbon, sehingga bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa dapat berkembang. Setelah diinokulasikan, tabung reaksi diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Suhu 37°C dipilih karena ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan sebagian besar bakteri mesofilik, termasuk bakteri penghasil enzim selulase. Selama inkubasi, bakteri diharapkan tumbuh dan mulai mendegradasi selulosa pada media CMC, yang nantinya dapat diidentifikasi melalui pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri.

2.4.8 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 disentuh bagian ujung jarum yang mengandung biakan pada beberapa bagian media *carboxymethyl cellulose* (CMC).

Selanjutnya, biakan diinkubasi 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 :

$$\text{indeks selulolitik} = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diamter Koloni}}$$

Keterangan:

DB = Diamter zona bening (mm)

DK = Diameter koloni (mm)

2.4.9 Uji Pertumbuhan Isolat Bakteri pada Medium CMC Broth

Uji pertumbuhan isolat bakteri dilakukan untuk memahami dinamika pertumbuhan bakteri dalam medium CMC *broth* tanpa penambahan agar, yang berfungsi sebagai substrat cair. Proses pengujian dimulai dengan menyiapkan medium CMC *broth*, yang kemudian dibagi ke dalam lima tabung Erlenmeyer, masing-masing berisi 50 mL medium. Setelah itu, medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, suspensi isolat bakteri diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung Erlenmeyer sebanyak 1-2 loop ose. Inokulasi ini dilakukan di bawah kondisi aseptik untuk menghindari kontaminasi. Seluruh tabung Erlenmeyer kemudian diinkubasi pada shaker rotary dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang selama 4x24 jam.

Shaker rotary digunakan untuk memberikan aerasi yang cukup, sehingga bakteri dapat tumbuh optimal di seluruh medium. Selama periode inkubasi, pertumbuhan bakteri diukur setiap 24 jam selama 4 hari menggunakan metode turbidimetri. Dalam metode ini, jumlah biomassa sel diukur dengan spektrofotometer, yang mengukur kekeruhan (turbiditas) medium sebagai indikasi kepadatan sel bakteri dalam suspensi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu, yang berkorelasi dengan konsentrasi sel bakteri dalam medium.

2.4.10 Karakterisasi Isolat Bakteri Selulolitik

Proses karakterisasi isolat bakteri melibatkan beberapa tahap analisis yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan memahami karakteristik bakteri secara menyeluruh. Tahap pertama adalah observasi morfologi makroskopis, di mana koloni bakteri diamati secara kasat mata untuk menilai karakteristik seperti bentuk, warna, ukuran, tekstur, dan pola pertumbuhan koloni pada medium kultur. Setelah itu, dilakukan analisis sel bakteri melalui pengamatan mikroskopis, yang melibatkan penggunaan mikroskop untuk mengamati detail morfologi seluler. Dalam proses ini, teknik pewarnaan Gram digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya, yang akan menentukan apakah bakteri tersebut Gram positif atau Gram negatif. Tahap akhir dari karakterisasi adalah evaluasi fisiologis melalui uji biokimia, yang bertujuan untuk menilai aktivitas metabolik bakteri, seperti kemampuan memfermentasi gula, produksi enzim tertentu, dan reaksi terhadap berbagai substrat.

2.4.10.1 Pengamatan Morfologi Koloni

Sebanyak 1 ose isolate bakteri diinokulasikan pada medium CMC tanpa penambahan congo red dengan metode quadran streak, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam. Koloni yang terbentuk kemudian diamati menggunakan mikroskop stereoskopis. Pengamatan morfologi meliputi bentuk, tepian, warna, dan elevasi dari koloni bakteri. Bentuk koloni dapat bervariasi dari bulat hingga tidak beraturan, sementara tepian dapat halus atau bergelombang. Warna koloni juga dapat memberikan petunjuk tentang pigmen yang dihasilkan oleh bakteri, dan elevasi menunjukkan seberapa tinggi koloni tersebut menonjol dari permukaan medium, dapat bervariasi dari datar hingga menonjol dan juga merupakan karakteristik penting dalam identifikasi dan klasifikasi bakteri.

2.4.10.2 Pengamatan Morfologi Sel

Pengamatan morfologi sel dilakukan dengan Teknik pengecatan gram untuk melihat bentuk serta sifat gram dari isolate bakteri. Teknik pengecatan gram dilakukan dengan membuat ulasan bakteri pada kaca preparat lalu ditetesi dengan air suling sebanyak 1-2 tetes kemudian difiksasi. Kemudian, ditetaskan larutan Gram A (Kristal violet) sebanyak 2-3 tetes diberikan pada preparat olesan bakteri dan dibiarkan selama 1 menit. Preparat kemudian dicuci dengan aliran air aquades dan dikeringkan. Larutan Gram B (Lugol/JKJ) ditetaskan pada preparat dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air aquades dan dikeringkan. Selanjutnya,

larutan Gram C (alkohol) diteteskan pada preparat dan dibiarkan selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air aquades dan dikeringkan. Larutan Gram D (Safranin) diteteskan pada preparat dan dibiarkan selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air aquades dan dikeringkan. Minyak emersi diteteskan untuk mengumpulkan cahaya yang hasilnya tidak terbayang pada mikroskop binokuler yang digunakan. Pengamatan bakteri dilakukan, dan jika hasil pewarnaan isolat bakteri menunjukkan warna merah, maka bakteri termasuk dalam kategori gram negatif. Sedangkan jika hasil pewarnaannya berwarna biru keunguan (violet), maka bakteri termasuk dalam kategori gram positif. Hasil pengecatan kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x.

2.4.10.3 Uji Biokimia

a) Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dilakukan dengan menggunakan teknik tusuk untuk mengevaluasi karakteristik pertumbuhan bakteri pada media tersebut. Ose steril digunakan untuk menorehkan biakan bakteri hingga sepertiga dasar tabung media TSIA. Setelah itu, ose diangkat dan digunakan untuk menggoreskan secara *zig-zag* (sinambung) di permukaan media. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Hasil positif ditunjukkan oleh perubahan warna medium dari merah menjadi kuning di bagian *slant* atau *butt*. Selain itu, terbentuknya warna hitam pada media TSIA menandakan hasil positif untuk gas H₂S.

b) Uji *Motilitas Sulfid Indol Motility* (SIM)

Isolat bakteri diinokulasikan secara tusukan ke dalam medium SIM yang diposisikan secara vertikal. Setelah itu, inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama periode 3x24 jam. Setelah inkubasi, dilakukan penambahan 2-3 tetes reagen Kovacs untuk pengujian indol. Perubahan warna menjadi merah dalam reagen menunjukkan hasil positif untuk produksi indol. Pengamatan juga dilakukan untuk mendeteksi adanya perambatan di sekitar titik tusukan.

c) Uji *Simmons Citrate Agar* (SCA)

etiap isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium *Simmon's Citrate Agar* (SCA) dan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Medium SCA dirancang untuk menguji kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Reaksi positif diamati ketika medium berubah warna dari hijau menjadi biru, yang menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

d) Uji *Methyl Red* (MR)

Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam larutan MR-VP broth lalu diinkubasi selama periode 5x24 jam. Setelah periode inkubasi, 3-5 tetes larutan *methyl red* ditambahkan ke setiap tabung reaksi lalu dihomogenkan. Hasil positif ditunjukkan oleh munculnya warna merah muda dalam larutan, sementara hasil negatif ditunjukkan oleh warna kuning.

e) Uji Voges-Proskauer (VP)

Masing-masing isolat bakteri diinokulasi ke dalam medium MR-VP broth dan diinkubasi selama 3x24 jam. Setelah inkubasi, ditambahkan sebanyak 0,6 ml reagen VP A (yang mengandung naphtol) dan 0,2 ml reagen VP B (yang mengandung KOH) ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan. Campuran kemudian dibiarkan selama 15-20 menit untuk bereaksi. Reaksi positif ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi pink atau merah dalam larutan, menandakan keberadaan aseton. Sebaliknya, reaksi negatif dicirikan oleh tidak adanya perubahan warna dalam medium atau perubahan warna menjadi tembaga.

f) Uji Katalase

Prosedur ini dimulai dengan sterilisasi alat seperti loop inokulasi, yang kemudian digunakan untuk mengambil sampel bakteri selulolitik dari media agar. Sampel bakteri ini diletakkan di atas kaca objek atau pelat kaca, lalu ditambahkan 1-2 tetes larutan hidrogen peroksida 3%. Hasil uji katalase ditentukan dengan mengamati pembentukan gelembung oksigen pada sampel bakteri. Jika gelembung terbentuk, bakteri dinyatakan positif katalase, yang berarti bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim katalase. Sebaliknya, jika tidak ada gelembung yang muncul, bakteri dinyatakan negatif katalase. Uji katalase ini dapat membantu membedakan antara kelompok bakteri yang berbeda, seperti bakteri aerob atau fakultatif anaerob yang biasanya positif katalase, dan bakteri anaerob obligat yang umumnya negatif katalase.

2.4.11 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel serta gambar. Kemudian data dijelaskan secara deskriptif yang didukung dengan referensi yang terkait dengan penelitian ini. Semua hasil karakterisasi yang didapatkan digunakan sebagai referensi untuk mengidentifikasi genus bakteri dengan mencocokkannya dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.