

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Laporan khusus *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) tahun 2018 menegaskan bahwa emisi CO_2 harus turun menjadi nol antara tahun 2045 hingga 2080 untuk memenuhi target KTT iklim Paris, yaitu membatasi kenaikan suhu global hingga $1,5 - 2^{\circ}C$. Namun, laporan IPCC *Working Group 1* terbaru yang berjudul “*Code red for Humanity*” menunjukkan bahwa pemanasan telah dipercepat dalam beberapa dekade terakhir dan telah mencapai $1,2^{\circ}C$, berarti sudah sangat dekat dengan ambang batas $1,5^{\circ}C$ yang berbahaya. Pada saat yang sama, peristiwa cuaca ekstrem dan bencana iklim semakin sering dan intens terjadi (Masson-Delmotte, V., P. Zhai 2019). Organisme fotosintetik dipandang sebagai solusi berkelanjutan yang potensial untuk memerangi perubahan iklim didukung oleh peranannya yang meningkat dalam mitigasi emisi CO_2 . Hutan hujan Amazon adalah contoh ekologis yang disediakan oleh organisme yang menyaring dan memproses ulang emisi CO_2 berbahaya (Park et al., 2024). Di antara organisme fotosintetik, rumput laut mendapat pengakuan yang meningkat sebagai penyerap CO_2 yang potensial. Hal ini didasarkan pada perannya sebagai karbon biru (*Blue Carbon* atau BC) yang merujuk pada karbon yang tersimpan dalam ekosistem pesisir dan laut (Duarte et al., 2017).

Perkembangbiakan spesies *Ulva* telah menjadi fenomena pesisir yang semakin umum dan meluas di seluruh dunia, disebabkan oleh kondisi laut yang telah berubah akibat aktivitas manusia, sehingga turut berkontribusi terhadap perubahan iklim global (Ren et al., 2024). Tahun 1992 hingga 2022, ledakan *Ulva* global mengakumulasi total biomassa berat kering sebesar 3.757.962 ton. Dengan mempertimbangkan rata-rata kandungan karbon spesies *Ulva* (29,5%), ledakan alga ini diperkirakan menyimpan 1.108.602 ton karbon selama periode tersebut, yang setara dengan 4.068.573 ton CO_2e . Jenis alga ini memiliki toleransi terhadap berbagai kondisi lingkungan termasuk cahaya, salinitas dan suhu (Guterres, 2018).

Pertumbuhan alga yang berlebihan dapat mengganggu keseimbangan ekosistem laut, menimbulkan bau tidak sedap akibat pembusukan, serta merusak estetika lanskap pesisir. Penanganan alga yang melimpah umumnya dilakukan melalui pembuangan ke tempat pembuangan akhir atau pemanfaatan sebagai pupuk dan biomassa, namun pendekatan ini masih menghadapi tantangan dari segi efisiensi dan keberlanjutan (Tanaka et al., 2022). Alga hijau dari genus *ulva* merupakan salah satu sumber daya hayati yang memiliki potensi besar dalam pengembangan bioproduk berbasis laut. Salah satu komponen utama yang terkandung dalam alga ini adalah ulvan, yaitu polisakarida antar-sel yang larut dalam air dan menyumbang sekitar 9–36% dari berat kering alga (Kidgell et al., 2019). Ulvan memiliki struktur disakarida berulang yang terdiri atas rhamnosa tersulfatasi, asam

glukuronat, asam iduronat, dan xilosa adalah ikatan 3-sulfated rhamnose (Li et al., 2020).

Fenomena *green tide* menghasilkan biomassa *ulva* yang berlimpah di ekosistem. Jika dibiarkan membusuk lingkungan akan mengalami hipoksia dan pelepasan senyawa beracun yang dapat merusak ekosistem pesisir (Carlson et al., 2021). Ulvan yang merupakan komponen utama dinding sel *ulva* juga berfungsi sebagai sumber karbon yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme laut, khususnya bakteri yang memiliki enzim ulvan lyase. Untuk mengambil kembali sumber karbon tersebut dari lautan dan memasukkannya ke rantai makanan dibutuhkan bakteri pendegradasian enzim ulvan lyase. Beberapa bakteri yang telah dilaporkan memiliki aktivitas degradasi ulvan antara lain *Nonlabens ulvanivorans*, *Pseudoalteromonas* sp., *Alteromonas* sp., *Formosa agariphila*, dan *Glaciecola* sp (Tanaka et al., 2022).

Enzim ulvan lyase yang dimiliki bakteri pendegradasi mampu memecah ulvan secara selektif menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti oligosakarida dan monosakarida, yang dapat digunakan sebagai substrat pertumbuhan (He et al., 2017). Berdasarkan keterbatasan studi mengenai bakteri pendegradasi ulvan dan isolasi enzim ulvan lyase, penelitian ini bertujuan untuk melakukan penyaringan (screening) bakteri yang mampu memanfaatkan ulvan dari alga hijau sebagai sumber karbon guna mendapatkan solusi dari pencemaran lingkungan berupa bioproduk. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengkarakterisasi bakteri-bakteri berdasarkan aspek morfologi, fisiologi, dan molekuler.

Informasi mengenai bakteri pendegradasian ulvan sangat krusial karena mendukung pengelolaan sumber daya alam yang tidak lagi terbatas pada ekosistem daratan tetapi juga telah mencakup Kawasan pesisir, mangrove dan laut sebagai bagian dari lanskap yang saling terhubung (Kepel et al., 2016). Hal ini mendukung pendekatan yang dikenal sebagai *land-sea integration*, di mana konservasi dan pemanfaatan berkelanjutan terhadap sumber daya pesisir termasuk alga, yang menjadi bagian dari strategi kehutanan tropis yang adaptif (Carlson et al., 2021).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan hal yang melatarbelakangi penelitian ini, dibuat rumusan masalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana karakteristik taksonomi bakteri yang mampu memanfaatkan ulvan dari Teluk Uranouchi, Kochi?
- b. Bagaimana aktivitas enzim pendegradasian ulvan?
- c. Bagaimana produk hasil degradasi bakteri ulvan dapat dikategorikan dan diukur untuk mengidentifikasi ulvan sebagai sumber karbon?

1.3 Tujuan dan Manfaat

Berdasarkan rumusan masalah yang dikemukakan, maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

- a. Mengetahui dan mengidentifikasi bakteri-bakteri penghasil enzim ulvan lyase yang bersimbiosis dengan rumput laut hijau *Ulva ohnoi*.
- b. Mengukur aktivitas enzim ulvan lyase dari bakteri pendegradasi yang terdapat di *Ulva ohnoi* sebagai sumber karbon.

- c. Menganalisis bakteri berpotensi pendegradasi ulvan sebagai sumber karbon dan mengetahui bioproduct dari bakteri tersebut.

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai bakteri pendegradasi ulvan dan enzim *ulvan lyase* yang saat ini informasinya masih terbatas. Keberhasilan isolasi dan karakterisasi bakteri unggul yang mampu memanfaatkan ulvan sebagai sumber karbon dalam penelitian ini memberikan solusi penanganan *green tide* yang ramah lingkungan sekaligus menghasilkan bioproduct bernilai ekonomi tinggi. Selain itu, pemanfaatan alga hijau ini mendukung konsep *Blue Carbon* (BC) melalui mekanisme daur ulang karbon yang tersimpan dalam alga oleh mikroorganisme. Hal ini mendukung pendekatan *land-sea integration*, di mana konservasi dan pemanfaatan sumber daya pesisir diintegrasikan sebagai strategi adaptif dalam menghadapi perubahan iklim global.

1.4 Kerangka Pikir

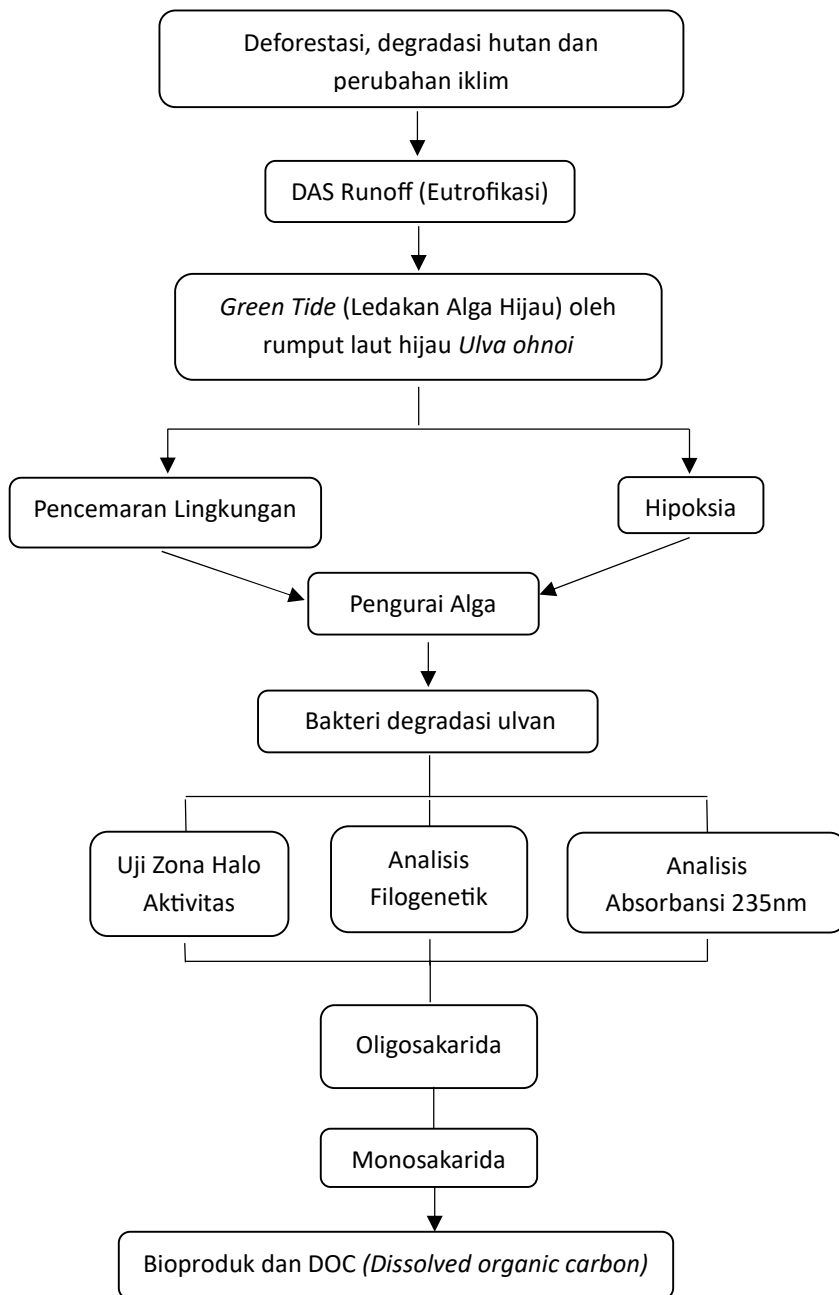
Kerangka berpikir ini menjelaskan alur berpikir peneliti yang menghubungkan fenomena lingkungan global dengan pemanfaatan mikroorganisme. Masalah iklim global memicu deforestasi dan kerusakan Daerah Aliran Sungai (DAS). Menurut (Ren et al., 2024) dan (Nakamura et al., 2019) Fenomena *Green Tide* (Ledakan alga hijau) yang semakin sering terjadi akibat eutrofikasi dan perubahan iklim. Makroalga seperti ulva bertanggung jawab atas setengah dari produksi fotosintesis karbohidrat di bumi (Bäumgen et al., 2021). Dapat disimpulkan bahwa ledakan alga merupakan penyerap CO_2 yang sangat kuat, namun yang menjadi masalah lingkungan jika tidak dikelola karena akan membusuk dan melepaskan emisi kembali.

Menurut (Barakat et al., 2022) Komponen utama ulvan adalah polisakarida sulfat yang kompleks. Ulvan merupakan bentuk “karbon padat” yang mengunci karbon dalam struktur molekul yang rumit. Untuk memastikan karbon ini tidak terlepas kembali sebagai gas buangan, diperlukan mekanisme transformasi biokimia yang tepat (Zhao et al., 2025). Bakteri laut berperan sebagai pengolah karbon. Hal ini sejalan dengan pernyataan hasil penelitian (Ulaganathan et al., 2018) dan (Tang et al., 2021) yang menyatakan bahwa bakteri seperti *Alteromonas*, *Nonlabes*, *Vibrio* menggunakan sistem enzimatik spesifik untuk memproses ulvan. Bakteri memproduksi enzim *Ulvan lyase* yang memutuskan ikatan glikosidik melalui mekanisme β -eliminasi. Ikatan kompleks menjadi molekul sederhana seperti oligosakarida dan monosakarida. Pemanfaatan oligosakarida telah banyak digunakan sebagai prebiotik serta dalam bidang farmasi sedangkan monosakarida pemanfaatannya kearah ekologi berkelanjutan. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan solusi dari hasil pemanfaatan monosakarida ulvan alga hijau berupa bioremediasi dan bioetanol sebagai energi terbarukan.

Melalui jalur degradasi bakteri juga, bakteri mengubah karbon yang mudah terurai menjadi bentuk karbon yang sangat stabil dan tahan lama (*refactory*). Bakteri memastikan karbon tersebut tidak bocor kembali ke atmosfer. Penyimpanan permanen karbon yang telah diproses oleh bakteri masuk ke dalam ekosistem pesisir. Di wilayah pesisir mangrove, bakteri membantu mengendapkan materi

organik hasil uraian alga ke dalam sedimen mangrove yang anaerobik (tanpa oksigen). Karbon tersebut kemudian terkunci di bawah sistem perakaran mangrove yang rapat dan kompleks. Akar mangrove berfungsi sebagai jaring alami yang menahan sedimen agar tidak terbawa arus balik ke laut lepas. Di bawah akar inilah, cadangan karbon permanen tersimpan selama ratusan hingga ribuan tahun. Melalui mekanisme ini, keberlanjutan karbon global terealisasi. Dengan memanfaatkan bakteri sebagai pendegradasian, ancaman lingkungan seperti ledakan alga diubah menjadi sebuah instrumen *Blue Carbon*. Berdasarkan (Zhao et al., 2025) transformasi biokimia yang melibatkan bakteri adalah kunci untuk memastikan karbon dari alga tidak berakhir sebagai gas buang, melainkan menjadi kontribusi nyata bagi sekuestrasi karbon global. Oleh karena itu, penelitian ini adalah upaya konkret untuk menjaga suhu bumi tetap stabil melalui optimalisasi hubungan antara alga hijau, bakteri dan area pesisir.

Adapun kerangka pemikiran dari penelitian ini dapat dilihat pada gambar 1.

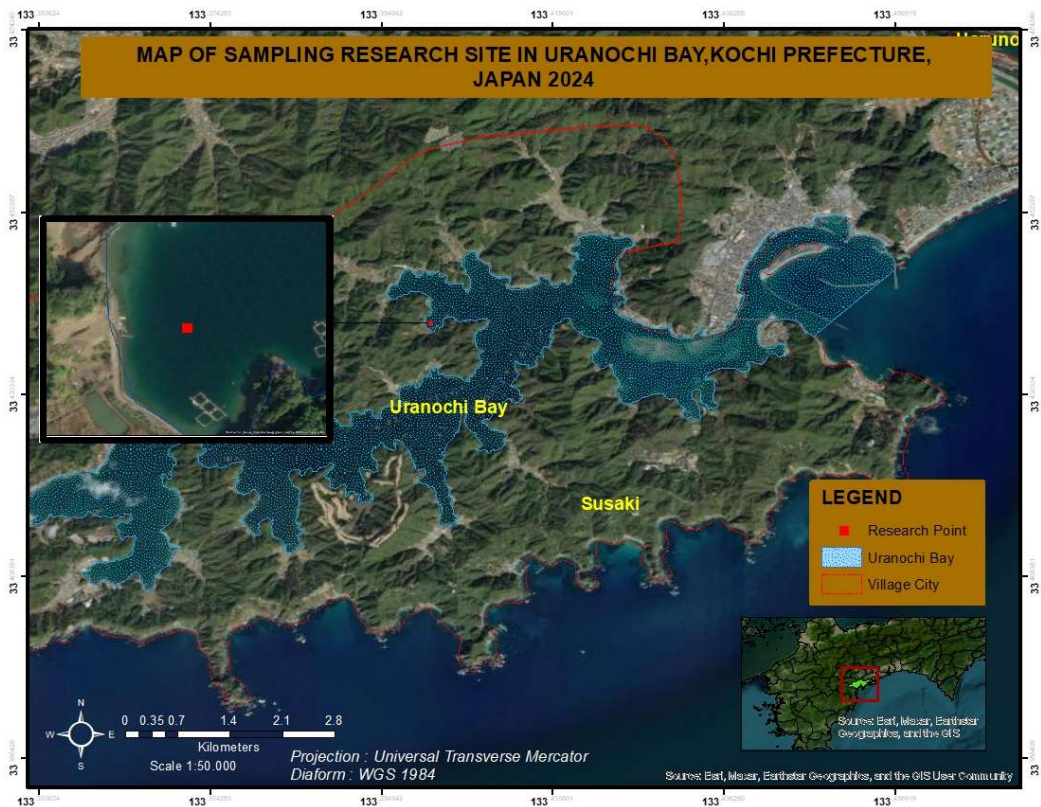


Gambar 1. Kerangka Berpikir

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama enam bulan yaitu bulan Juni 2024 sampai dengan Desember 2024. Lokasi pengambilan sampel berada di Institut Biologi Kelautan AS, Universitas Kochi yang terletak di Teluk Uranouchi, Kochi, Jepang dan analisis sampel beserta data sampel dilaksanakan pada Laboratorium Institut Riset Genetika Molekuler, Universitas Kochi, Jepang. Lokasi Pengambilan sampel penelitian dapat dilihat pada Gambar. 2.



Gambar 2. Lokasi Pengambilan Sampel Penelitian

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan merupakan instrumen dalam pengumpulan data yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Pipet Mikro	Mengukur sampel volume kecil 1-1000 μL
2.	Cawan Petri	Menumbuhkan bakteri
3.	Inkubator	Memerami bakteri
4.	PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	Sequensing DNA (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
5.	Nanodrop	Memvalidasi hasil ekstraksi RNA (<i>Ribonucleic Acid</i>)/DNA (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>), Menghitung konsentrasi DNA (ng/ μL) dan kemurniannya
6.	<i>Centrifuge Tube</i>	Pemisah sampel
7.	Labu ukur	Inokulasi sampel
8.	Botol Media	Menyimpan media kultur padat dan inokulasi bakteri
9.	Vivaspin 500	Menukar Buffer
10.	Jaring Nilon	Kain untuk menyaring sampel
11.	Centrifuge	Memisahkan supernatant dan pellet dan mengendapkan sel atau partikel.
12.	Autoklaf	Mensterilkan alat sebelum digunakan, menonaktifkan limbah sebelum dibuang, dan sterilisasi ulvan sebelum digunakan dalam kultur bakteri.
13.	Elektroforesis	Memvalidasi Keberadaan bakteri ulvan
14.	Laptop	Perangkat keras dalam menganalisis data
15.	<i>Software</i> MEGA11	Analisis sekuens RNA seperti 16S rRNA
16.	<i>Software</i> Arcgis	Menunjukkan Keberadaan Lokasi penelitian
17.	Kamera	Dokumentasi kegiatan penelitian
18.	<i>Software</i> Microsoft Office	Analisis data Tabular

Bahan yang digunakan merupakan variabel penelitian yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan Penelitian

Tahapan Penelitian	Bahan
Screening dan isolasi bakteri yang memanfaatkan ulvan	<i>Ulva ohnoi</i> , ASW (<i>Artificial Sea Water</i>), setengah konsentrasi dari formula <i>Marine Broth</i> (MB) 2216 (1/2 MB, 18,7 g <i>Difco Marine Broth</i> 2216, 9,8 g NaCl dalam 100ml DW), Media agar ulvan, 1/2MB agar dan CPC 5% (<i>Cetylpyridinium Chloride</i> 5%) .
Mengidentifikasi Bakteri yang memanfaatkan ulvan	PCR (DNA 2 µL, 5xSequence 1,5 µL, DW 4,5 µL, Bigdye3.1 1 µL, Primers pr0R2 1 µL, 534R 1 µL).
Ekstraksi enzim pengurai ulvan yang disekresikan	½ MB 0,02% ulvan, ammonium sulfat (NH ₄) ₂ SO ₄ , Tris-Hidroklorida (Tris-HCl) 20 mM (pH 8.0)
Mengidentifikasi dan menguji aktivitas ulvan lyase	0,02 % (w/v) ulvan, 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 500 mM NaCl, bahan reaksi DNS (1% dinitrosalicylic acid, 30 % potassium sodium tartrate, 0,4 Sodium Hydroxide (NaOH)).

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Teknik Pengumpulan Data

Pengambilan dan persiapan sampel bakteri pemanfaatan ulvan

Pada tanggal 3 Juli 2024, Bakteri Pemanfaatan *Ulva ohnoi* dikumpulkan dari Teluk Uranouchi dengan cara memasukkan rumput laut *Ulva ohnoi* ke dalam jaring nilon dan ditenggelamkan selama seminggu pada ke dalaman 200cm di Institut Biologi Kelautan AS, Universitas Kochi yang terletak di Teluk Uranouchi, Kochi, Jepang. Lalu, rumput laut diambil kembali untuk diinokulasi ke dalam media (1/2 MB, 18,7 g *Difco Marine Broth* 2216 dan 9,8 g NaCl dalam 1000 ml DW) media *Half Strength Marine Broth* yang mengandung 0,02 % ulvan murni. Campuran ini diinkubasi dengan agitasi pada suhu 25 °C selama tiga hari. Suspensi sel diencerkan lalu disebarkan ke dalam media agar ulvan (0,02 % Ulvan, 1/3 ASW, 1,5 % Agar) dan inkubasi pada suhu 26 °C sambil mengamati sampai koloni tumbuh. Beberapa Koloni dapat menduplikat diri dalam ½ MB agar dan media agar ulvan (Lampiran.1). Setelah sel tumbuh, supernatant protein diteteskan ke media agar ulvan 0,02 %. Setelah inkubasi semalaman pada suhu 37°C media direndam dalam larutan CPC 5 %. Aktivitas pengurai ulvan dinilai berdasarkan ukuran zona bening (halo) menggunakan metode CPC 5 % (He et al., 2017).

Amplifikasi Gen 16S rRNA Menggunakan PCR

16S rRNA adalah fragmen gen yang dapat beramplifikasi menggunakan PCR secara langsung dari koloni bakteri pemanfaatan ulvan dengan primers

universal, pr0R2 (5'-AGAGTTTGATCNTGGCTCAG-3' dan 534R (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'). PCR membawa reaksi dari penggunaan *Tag* DNA polymerase (New England Biolabs, USA) sebagai pembawa sifat; pre-inkubasi pada suhu 85 °C selama 5 menit dengan 30 siklus, denaturasi pada suhu 98 °C selama 10 detik, penempelan primer pada suhu 55 °C selama 15 detik dan ekstensi pada suhu 68 °C selama 1 menit. Penentuan urutan nucleotide dari fragmen hasil amplifikasi dilakukan menggunakan BigDye Terminator v3.1 sequencing kit (Applied Biosystem) dari ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystem).

Ekstraksi enzim pengurai ulvan yang disekresikan

Keseluruhan bakteri pemanfaatan ulvan yang teridentifikasi dipilih beberapa jenis bakteri yang berbeda untuk diisolasi ke dalam 1 ml yang mengandung ½ MB, 0,02 % ulvan pada suhu 25 °C selama 3 hari. Setelah itu diinkubasi dengan agitasi ke dalam gelas ukur 40 ml yang mengandung ½ MB, 0,02 % ulvan pada suhu 25 °C selama 3 hari. Lalu, ambil 1ml tube untuk dijadikan sel stok pada suhu -80°C dan sisanya dicentrifuge 10000xg selama 30 menit dan tambahkan ammonium sulfat (NH₄)₂SO₄ ditambahkan hingga mencapai kejenuhan 60 % untuk mengekstraksi protein yang disekresikan. Endapan disuspensikan dalam volume kecil supernatan larutan Tris-HCl 20 mM (pH 8.0) dan dianalisis dalam larutan yang sama. Konsentrasi ultrafiltrasi (Vivaspin 500, Sartorius) digunakan untuk memproses volume kecil supernatant kultur.

Mengidentifikasi dan menguji aktivitas ulvan lyase

Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan metode DNS (3,5-dinitrosalisilat) untuk mendeteksi pembentukan ujung pereduksi sebagai hasil dari degradasi substrat. Reaksi enzim dilakukan dalam 500 µL dari larutan (0,02 % (w/v) ulvan, 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 500 mM NaCl dan pemurnian enzim untuk 1 jam pada suhu 25 °C. Setelah penambahan 500 µL dalam bahan reaksi DNS (1% dinitrosalicylic acid, 30 % potassium sodium tartrate, 0,4 NaOH) aduk sambil dipanaskan hingga mendidih dalam waktu 10 menit lalu dinginkan. Setelah didinginkan absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm, yang mencerminkan jumlah ujung pereduksi yang terbentuk. L-Rhamnose digunakan untuk membuat kurva standar. Untuk pengujian ulvan lyase, 0,1% (w/v) larutan ulvan yang diinkubasi dengan 0,2 µg enzim murni dalam buffer (20 mM Tris-HCl (pH 8.0) dan 500 mM Natrium Klorida (NaCl). Formasi ikatan rangkap di monitor menggunakan peningkatan absorbansi gelombang 235 Nanometer (nm) (Kopel et al., 2016). Aktivitas enzim maksimum dicapai setelah 3 menit dan dinyatakan dalam satuan (AU), yang merupakan peningkatan satuan absorbansi per menit (Costa et al., 2022). Nilai absorbansi pada gelombang 235 nm menunjukkan puncak serapan dari ikatan rangkap pada asam uronat tak jenuh yang terbentuk Ketika ulvan lyase diuraikan oleh enzim ulvan lyase (Salinas & French, 2017).

2.3.2 Analisis Data

Analisis Kuantitatif Zona Bening (Halo)

Aktivitas degradasi ulvan tidak dapat dibuktikan pada pelat uji tanpa keberadaan bakteri. Sebaliknya, aktivitas degradasi ulvan ditunjukkan melalui pembentukan zona bening di sekitar koloni yang mampu mendegradasi ulvan (Tanaka et al., 2022). Diameter zona bening memiliki nilai penting dalam seleksi galur mikroba yang mampu mendegradasi polisakarida kompleks secara efisien, seperti selulosa, xilan, dan amilosa. Ulvan digunakan sebagai substrat karbon (Florencio et al., 2012). Sehingga pembentukan zona bening menunjukkan keberadaan sel bakteri yang mampu mendegradasi ulvan menjadi oligosakarida (He et al., 2017). Selain itu, ukuran zona bening yang lebih besar berkorelasi dengan Tingkat degradasi yang lebih tinggi (Hartmans, 2001). Langkah-langkah analisis sebagai berikut;

- a. Perendaman bakteri hasil isolate dengan CPC 5% 1 ml
- b. Mengukur halo (zona bening) yang terbentuk menggunakan penggaris.

Mengidentifikasi bakteri pemanfaatan ulvan

Reaksi PCR menggunakan primer pr0R2 (5'-AGAGTTTGATCNTGGCTCAG-3' dan 534R (5'ATTACCGCGGCTGCTGG-3') untuk mengenali bagian gen 16S rRNA. Amplifikasi PCR diverifikasi secara visual di bawah sinar ultraviolet menggunakan gel agarose 0,8% yang diwarnai dengan etidium bromida (Alrefaei et al., 2022).

Langkah-langkah analisis sebagai berikut;

- a. Menyiapkan sampel
- b. Menyusun campuran reaksi PCR (2x GTFlex Buffer 20 µl, TKS GTflex 0.4 µl, ProR2 2 µl, 534R 2 µl, DW 40 µl).
- c. Verifikasi hasil amplifikasi PCR menggunakan metode elektroforesis (Solution PCR 4 µl, 6 µl)
- d. Identifikasi menggunakan cycle sequencing (Sampel DNA 2 µl, Bigdye 1 µl, 5x sequence 1,5 µl, ProR2 1µl, DW 4,5µl dan Sampel DNA 2µl, Bigdye 1µl, 534R 1 µl, DW 4,5 µl)
- e. DNA dikirim ke fasilitas sekuensing ABI PRISM 3100- Avant Analisis Genetik (Lampiran.3).
- f. Data sekuens dianalisis menggunakan BLAST untuk mengidentifikasi taksonomi dan MEGA11 untuk analisis filogenik.

Penentuan Aktivitas Degradasi melalui Pengukuran Absorbansi

Enzim hasil cloning awalnya disaring untuk aktivitas ulvanolitik menggunakan polisakarida ulvan atau oligomer ulvan sebagai substrat dengan cara mengukur pembentukan aktivitas UL atau pemutusan (β -glukuronil hydrolase) ikatan rangkap pada Panjang gelombang 235 nm (Maruyama et al., 2009) (Bäumgen et al., 2021). Peningkatan absorbansi pada 235 nm dalam campuran reaksi yang mengandung masing-masing protein menunjukkan bahwa protein tersebut memiliki aktivitas enzimatik (Maruyama et al., 2009).

Langkah-langkah analisis sebagai berikut;

- a. 1 ml campuran reaksi enzim tanpa enzim di dalam gelas ukur (0,08 % (v/v) ulvan 100 µl, 1M Tris-HCl pH 8.0 sebanyak 20 µl, 5 M NaCl 100 µl, DW 680 µl)
- b. 100 µl reaksi enzim, lalu campurkan dengan membalik kuvet beberapa kali secara perlahan (upside down) menggunakan parafilm.
- c. 100µl ulvan ditambahkan setelah kalibrasi
- d. Uji Regresi untuk mengetahui nilai slope dan R Square.

Identifikasi Bakteri yang Mampu Mengurai Ulvan Sebagai Sumber Karbon

Mikroba yang memiliki enzim-enzim tersebut di lingkungan laut memiliki peran penting dalam menyediakan sumber karbon bagi organisme lain dengan cara menguraikan polisakarida yang tersedia (Rodrigues et al., 2024).

Kriteria yang wajib terpenuhi bakteri pengurai ulvan agar dikatakan sebagai sumber karbon Adalah

- a. Bakteri mampu tumbuh pada media yang hanya mengandung ulvan
- b. Adanya aktivitas degradasi ulvan (zona bening)
- c. Adanya aktivitas enzimatis dari terdeteksinya protein pada absorbansi 235 nm
- d. Adanya aktivitas enzim spesifik (Pengujian ulvan lyase).