

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI
YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENDEGRADASI SELULOSA
PADA SEDIMEN EKOSISTEM MANGROVE DESA
KALIWLINGI, BREBES**

SKRIPSI

Oleh:
ERNITA DWI RAHMAWATI
26010118140040



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI
YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENDEGRADASI SELULOSA
PADA SEDIMEN EKOSISTEM MANGROVE DESA
KALIWLINGI, BREBES**

**Oleh:
ERNITA DWI RAHMAWATI
26010118140040**

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Derajat Sarjana S1 pada Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan
Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri yang Berpotensi
Sebagai Pendegradasi Selulosa pada Ekosistem Mangrove
Desa Kaliwlingi, Brebes

Nama : Ernita Dwi Rahmawati
NIM : 26010118140040
Departemen : Sumberdaya Akuatik
Program Studi : Manajemen Sumberdaya Perairan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Mengesahkan,

Dosen Pembimbing 1



Dra. Niniek Widyorini M.S.
NIP. 195710141983032002

Dosen Pembimbing II,



Dr. Dian Ayuningrum S. Pd., M.Si.
NIP. 199405212019032017



Prof. Ir. Tri Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196508211990012001

Ketua,
Departemen Sumberdaya Akuatik



Dr. Ir. Suryanti, M.Pi.
NIP. 19657062002122001

Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri yang Berpotensi
Sebagai Pendegradasi Selulosa pada Ekosistem Mangrove
Desa Kaliwlingi, Brebes
Nama : Ermita Dwi Rahmawati
NIM : 26010118140040
Departemen : Sumberdaya Akuatik
Program Studi : Manajemen Sumberdaya Perairan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Skripsi ini telah disidangkan dihadapkan Tim Penguji pada hari Jumat tanggal 25
Maret 2022

Mengesahkan,

Ketua Penguji



Dra. Niniek Widyorini M.S.
NIP. 195710141983032002

Sekretaris Penguji



Dr. Diah Ayuningrum S. Pd., M.Si.
NIP. 199405212019032017

Anggota Penguji



08 April 2022

Prof. Norma Afiati, M.Sc., Ph.D.
NIP. 195511101982032001

Anggota Penguji



Oktavianto Eko Jati, S.Pi., M.Si.
NIP. H.7.199010202018071001

Ketua Program Studi



Dr. Ir. Suryanti, M.Pi.
NIP. 19657062002122001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya, Ernita Dwi Rahmawati, menyatakan bahwa karya ilmiah/skripsi ini adalah asli karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah/skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi dari karya ilmiah/skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, Februari 2022

Penulis,



Ernita Dwi Rahmawati
NIM. 26010118140040

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat dan rahmat-Nya sehingga skripsi dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri yang Berpotensi Sebagai Pendegradasi Selulosa pada Ekosistem Mangrove Desa Kaliwlingi, Brebes” ini mampu terselesaikan dengan lancar. Pelaksanaan, penyelesaian dan penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini kami mengucapkan terimakasih kepada:

1. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Diponegoro (LPPM Undip) atas pendanaan dan pendampingan selama penelitian;
2. Dra. Niniek Widyorini, M.S. , dan Dr. Diah Ayuningrum S. Pd., M.Si. selaku pembimbing utama dan pendamping pembimbing yang telah membantu memberikan banyak arahan, bimbingan, serta kemudahan dalam penyusunan skripsi ini;
3. Sigit Febrianto, S. Kel. M.Si. dan Nurul Latifah, S. Kel., M. Si selaku dosen pendamping lapangan;
4. Prof. Norma Afiati, M.Sc., Ph.D. dan Bapak Oktavianto Eko Jati, S.Pi., M. Si. selaku penguji yang telah membantu memberikan kritik, saran dan masukan sehingga dapat menyempurnakan penulisan skripsi ini.

Semarang, Februari 2022

Penulis

ABSTRAK

Ernita Dwi Rahmawati. 26010118140040. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri yang Berpotensi Sebagai Pendegradasi Selulosa pada Ekosistem Mangrove Desa Kaliwlingi, Brebes. (Ninie Widyorini dan Diah Ayuningrum)

Ekosistem mangrove di Desa Kaliwlingi, Brebes merupakan kawasan konservasi sekaligus tempat wisata yang menjadi sumber mata pencaharian warga. Ekosistem mangrove merupakan ekosistem yang memiliki produktivitas sangat tinggi melalui sumbangan serasah. Kesuburan ekosistem mangrove sangat berkaitan dengan keberadaan bakteri pendegradasi selulosa yang berperan sebagai pengurai serasah-serasah mangrove. Eksplorasi keberadaan bakteri penghasil selulase dinilai sangat penting sebagai bahan monitoring kesuburan ekosistem mangrove yang membutuhkan perhatian khusus sebagai kawasan konservasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah isolat bakteri yang didapatkan dari sedimen mangrove Desa Kaliwlingi, mengetahui potensi produksi enzim selulase dari masing-masing isolat bakteri, serta mengetahui spesies bakteri yang paling berpotensi mendegradasi selulosa. Penelitian dilakukan pada bulan September – Desember 2021. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif dan metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling* dengan mengambil sampel sedimen. Metode isolasi dan purifikasi bakteri menggunakan pengenceran bertingkat, skrining enzim selulase menggunakan media *Carboxyl Methyl Cellulose* (CMC) dan indikator *congo red*, serta identifikasi molekuler bakteri dengan gen 16s rRNA yang dilaksanakan di Laboratorium *Tropical Marine Biotechnology* Gedung J FPIK UNDIP. Hasil penelitian telah berhasil mengisolasi sebanyak 34 isolat bakteri asal sedimen mangrove, 18 isolat atau 53% di antaranya menunjukkan aktivitas enzim selulase dengan nilai indeks selulolitik terkecil 0,23 sampai terbesar 3,9. Hasil identifikasi molekuler isolat bakteri dengan indeks selulolitik tertinggi berkerabat dekat dengan spesies *Bacillus cereus* dan memiliki similarity indeks sebesar 93,39%. Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian adalah bahwa sedimen mangrove Desa Kaliwlingi merupakan sumber potensial untuk menghasilkan bakteri selulolitik.

Kata kunci: bakteri, enzim selulase, identifikasi molekuler, sedimen mangrove.

ABSTRACT

Ernita Dwi Rahmawati. 26010118140040. *Bacteria Isolation and Molecular Identification which Potentially Degrading Cellulose in Sediments of Kaliwlingi Mangrove Ecosystems, Brebes. (Niniekk Widyorini and Diah Ayuningrum)*

*The mangrove ecosystem of Kaliwlingi Village, Brebes is a conservation area and a tourism attraction which is a source of livelihood for residents. The mangrove ecosystem is an ecosystem that has very high productivity through litter donations. The fertility of the mangrove ecosystem is closely related to the presence of cellulose-degrading bacteria that act as decomposers of mangrove litter. Exploration of the presence of cellulose-producing bacteria is considered very important as a material for monitoring the fertility of mangrove ecosystems that requires special attention as a conservation area. The purpose of this study was to determine the number of bacterial isolates obtained from the mangrove sediments of Kaliwlingi Village, to determine the production potential of cellulase enzymes from each bacterial isolate, and to determine the bacterial species most likely to degrade cellulose. The research was conducted in September – December 2021. The method used is a descriptive method and the sampling method used is a purposive sampling by taking sediment samples. Bacterial isolation and purification methods using multilevel dilution, cellulase enzyme screening using Carboxyl Methyl Cellulose (CMC) media and congo red indicator, and molecular identification with the 16s rRNA gene carried out at the Tropical Marine Biotechnology Laboratory, Building J, FPIK UNDIP. The results of the research have been successfully isolated 34 isolates from mangrove sediments, 18 isolates or 53% out of them showed cellulase enzyme activity with the smallest cellulolytic index value of 0.23 to the largest of 3.9. The results of molecular identification of bacterial isolates with the highest cellulolytic index were closely related to *Bacillus cereus* species and had a similarity index of 93.39%. The conclusion that can be drawn from the results of the study is that the mangrove sediments of Kaliwlingi Village are a potential source to produce the cellulolytic bacteria.*

Keywords: *bacteria, cellulose activity, molecular identification, mangrove sediment.*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENJELASAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan	5
1.4. Manfaat	6
1.5. Waktu dan Tempat.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Ekosistem Mangrove	7
2.2. Bakteri.....	8
2.3. Selulosa.....	9
2.4. Enzim Selulase.....	10
2.5. Bakteri Selulolitik	11
2.6. Identifikasi Molekuler.....	13
III. MATERI METODE	14
3.1. Materi Penelitian.....	14
3.2. Metode Penelitian	15
3.2.1. Pengambilan Sampel	15
3.2.2. Pembuatan Media	18
3.2.3. Isolasi Bakteri.....	18
3.2.4. Pemurnian Bakteri.....	19

3.2.5. Skrining Enzim Selulase	19
3.2.6. Identifikasi Molekuler	20
3.2.7. Analisis Data	21
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1. Hasil	22
4.1.1. Gambaran Umum Lokasi Penelitian	22
Isolasi Bakteri Sedimen Ekosistem Mangrove Desa Kaliwlingi.....	22
Skrining Enzim Selulase Bakteri Sedimen Ekosistem Mangrove Desa Kaliwlingi	25
Studi Molekuler Bakteri dengan Gen 16s rRNA	26
4.2. Pembahasan	29
4.2.1. Gambaran Umum Lokasi Penelitian	29
Skrining Enzim Selulase Bakteri Sedimen Ekosistem Mangrove Desa Kaliwlingi	30
Jenis Bakteri yang Menghasilkan Enzim Selulase	31
V. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1. Hasil	35
5.1. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Identifikasi Morfologi Isolat Bakteri	24
2. Uji Selulase Isolat Bakteri.....	25
3. Hasil Uji Nanodrop	27

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema Kerangka Penelitian.....	5
2. Bentuk-bentuk bakteri	8
3. Struktur kimia rantai selulosa	10
4. Siklus biogeokimia.....	12
5. Peta lokasi penelitian	16
6. Koloni bakteri yang tumbuh di media NA.....	23
7. Hasil purifikasi isolat bakteri	23
8. Zona bening yang terbentuk dari hasil uji enzim selulase	
.....	25
9. Amplifikasi DNA sampel B1/3	27
10. Urutan basa nukleotida bakteri B1/3.....	28
11. Hasil BLAST bakteri B1/3.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Dokumentasi Alat Kegiatan Praktikum	44
2. Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....	45
3. Dokumentasi Hasil Isolasi yang Didapatkan	46
4. Dokumentasi Hasil Purifikasi yang Didapatkan	49
5. Dokumentasi Hasil Skrining Enzim Selulase yang Didapatkan	51