

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI  
RHIZOSFER DARI EKOSISTEM MANGROVE DI TAPAK,  
KECAMATAN TUGU, KOTA SEMARANG**

**SKRIPSI**

Oleh:

**SITI DINDA CHRISNAWATI**

**26010118120008**



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

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI  
RHIZOSFER DARI EKOSISTEM MANGROVE DI TAPAK,  
KECAMATAN TUGU, KOTA SEMARANG**

**Oleh:**

**SITI DINDA CHRISNAWATI**

**26010118120008**

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Derajat Sarjana S1 pada Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan  
Departemen Sumber Daya 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 Rhizosfer dari Ekosistem Mangrove di Tapak, Kecamatan Tugu, Kota Semarang  
Nama Mahasiswa : Siti Dinda Chrisnawati  
Nomor Induk Mahasiswa : 26010118120008  
Departemen/Program Studi : Sumber Daya Akuatik/ Manajemen Sumber Daya Perairan  
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Mengesahkan,

Pembimbing Utama



Dr. Aninditia Sabdaningsih, S.Si., M.Si.  
NIP. 19900809 201803 2 001

Pembimbing Anggota



Oktavianto Eko Jati, S.Pi., M.Si.  
NIP. H.7.199010 20201807 1 001

Dekan,  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Diponegoro



Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D.  
NIP. 19650821 199001 2 001

Ketua,  
Departemen Sumber Daya Akuatik



Dr. Ir. Suryanti, M.Pi.  
NIP. 19650706 200212 2 001

Judul Skripsi : Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Rhizosfer dari Ekosistem Mangrove di Tapak, Kecamatan Tugu, Kota Semarang  
Nama Mahasiswa : Siti Dinda Chrisnawati  
Nomor Induk Mahasiswa : 26010118120008  
Departemen/Program Studi : Sumber Daya Akuatik/ Manajemen Sumber Daya Perairan  
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Skripsi ini telah disidangkan dihadapan Tim Penguji

Pada tanggal 09 Agustus 2022

Mengesahkan,

Ketua Penguji



Dr. Aninditia Sabdaningsih, S.Si., M.Si.  
NIP. 19900809 201803 2 001

Sekretaris Penguji



Oktavianto Eko Jati, S.Pi., M.Si.  
NIP. H.7.199010 20201807 1 001

Anggota Penguji



Prof. Dr. Ir. Agus Hartoko, M.Sc.  
NIP. 19570816 198403 1 002

Anggota Penguji



Dr. Ir. Max Rudolf Muskananfolo, M.Sc.  
NIP. 19591117 198503 1 020

Ketua,  
Program Studi Manajemen Sumber Daya Perairan



Dr. Ir. Suryanti, M.Pi.  
NIP. 19650706 200212 2 001

## **PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH**

Dengan ini saya, Siti Dinda Chrisnawati, 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 dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi karya ilmiah/skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, 15 Juli 2022

Penulis,



Siti Dinda Chrisnawati

NIM. 26010118120008

## ABSTRAK

**Siti Dinda Chrisnawati. 26010118120008.** Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Rhizosfer dari Ekosistem Mangrove di Tapak, Kecamatan Tugu, Kota Semarang (Aninditia Sabdaningsih dan Oktavianto Eko Jati)

Ekosistem mangrove di Tapak merupakan ekosistem terletak di sepanjang Sungai Tapak, Semarang dan dikelilingi oleh tambak tradisional ikan bandeng dan udang vaname. Sungai Tapak merupakan tempat pembuangan limbah industri sabun. Letak dan kondisi tersebut menjadikannya kaya akan unsur hara yang terkandung dalam sedimen khususnya rhizosfer atau area sedimen yang berada di sekitar perakaran. Hal tersebut mendukung berbagai kehidupan mikroba di dalamnya yang berperan dalam proses siklus nutrisi. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengisolasi bakteri, mengetahui kelimpahan bakteri serta mengidentifikasi jenis bakteri rhizosfer yang kemudian diujikan kemampuannya sebagai pelarut fosfat. Penelitian ini menggunakan pendekatan eksploratif. Waktu pengambilan sampel dilaksanakan pada bulan November 2021 dan analisis sampel dilakukan pada bulan November 2021 – Juni 2022. Sampel sedimen diambil pada 4 stasiun menggunakan *sediment core*. Sampel sedimen kemudian diisolasi pada media GSP (*Glutamate Starch Agar*) dan *nutrient agar* untuk mendapatkan isolat murni. Sebanyak 22 isolat diperoleh dengan 11 isolat Gram positif dan 11 isolat Gram negatif, seluruh bentuk sel yang didapatkan adalah basil. Kelimpahan bakteri tertinggi didapatkan pada stasiun A sebesar  $1,44 \times 10^4$  CFU/mL dan kelimpahan terendah pada stasiun C sebesar  $9,2 \times 10^2$  CFU/mL. Dua isolat yaitu MTB.1a dan MTD.1c dilakukan identifikasi molekuler menggunakan primer universal 27F dan 1492R dengan metode PCR. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat MTB.1a merupakan *Priestia megaterium* dan isolat MTD.1c merupakan *Bacillus mycoides*. Hasil uji kemampuan bakteri sebagai pelarut fosfat pada isolat yang teridentifikasi dengan pengulangan sebanyak 4 kali tidak ditemukan zona bening sehingga isolat yang ditemukan bukan termasuk golongan bakteri pelarut fosfat.

**Kata Kunci:** Bakteri, Mangrove, Rhizosfer, Sedimen

## ABSTRACT

**Siti Dinda Chrisnawati. 26010118120008. Isolation and Molecular Identification of Rhizobacteria from Mangrove Ecosystem in Tapak, Tugu, Semarang (Aninditia Sabdaningsih dan Oktavianto Eko Jati)**

*The mangrove ecosystem in Tapak is an ecosystem located along the Tapak River in Semarang and surrounded by traditional ponds of milkfish and shrimp. The Tapak River is a place that is suspected to be a dumping ground for industrial waste. This location and conditions make it rich in nutrients contained in sediments, especially in the rhizosphere, or sedimentary areas around the root. This supports various microbial life in it, which plays a role in the process of biogeochemical cycles and life support in mangrove ecosystems. The purpose of this study is to isolate bacteria, determine the abundance of bacteria, and identify the type of rhizosphere bacteria, which are then tested for their ability as phosphate solvents. This research uses an exploratory approach. The sampling was carried out in November 2021 and the sample analysis was carried out from November 2021 to June 2022. Sediment samples were taken at 4 stations using sediment cores. Sediment samples are then isolated on GSP media and nutrients in order to obtain pure isolates. A total of 22 isolates were obtained, with 11 Gram-positive isolates and 11 Gram-negative isolates. The entire cell form obtained was bacillus. The highest bacterial abundance was obtained at station A at  $1.44 \times 10^4$  and the lowest abundance at station C at  $9.2 \times 10^2$ . Two isolates, namely MTB.1a and MTD.1c, were identified with molecular identification using universal primers 27F and 1492R using the PCR method. The identification results showed that the MTB.1a isolate was *Priestia megaterium* and the MTD.1c isolate was *Bacillus mycoides*. The test results of the ability of bacteria as phosphate solvents in isolates identified with repeated 4 times did not find clear zones, so that the isolates found were not included in the group of phosphate solvent bacteria.*

**Key word:** *Bacteria, Mangroves, Rhizosphere, Sediments*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga laporan penelitian ini mampu terselesaikan dengan lancar.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. Aninditia Sabdaningsih, S.Si., M.Si. dan Oktavianto Eko Jati, S.Pi., M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dan membantu dalam penyusunan skripsi ini;
2. Prof. Dr. Ir. Agus Hartoko, M.Sc. dan Dr. Ir. Max Rudolf Muskananfolo, M.Sc. selaku dosen penguji yang telah membimbing dan membantu dalam penyusunan skripsi ini;
3. Dr. Ir. Frida Purwanti, M.Sc. selaku dosen wali yang telah memberikan arahan pada penulis selama melaksanakan perkuliahan;
4. Tim penelitian utama yang terdiri dari Dr. Aninditia Sabdaningsih, S.Si., M.Si., Dr. Diah Ayuningrum, S.Pd., M.Si. dan Oktavianto Eko Jati, S.Pi., M.Si. atas kesempatan yang diberikan untuk ikut serta dalam penelitian ini dan bimbingan yang telah diberikan. Terima kasih kepada dana hibah Riset Publikasi Internasional (RPI) Universitas Diponegoro dengan Nomor SK: 185-71/UN7.6.1/PP/2021 yang telah mendanai penelitian ini; dan
5. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Segala saran dan kritik akan dijadikan evaluasi yang sangat berharga bagi penulis

Semarang, Juli 2022

Penulis



## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.5. Waktu dan Tempat .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Ekosistem Mangrove .....	6
2.1.1. Karakteristik dan Jenis Mangrove .....	7
2.1.2. Sedimen Mangrove.....	10
2.2. Bakteri .....	12
2.2.1. Karakteristik Bakteri .....	12
2.2.2. Bakteri Rhizosfer.....	15
2.2.3. Isolasi Bakteri.....	16
2.3. Identifikasi Molekuler Bakteri .....	17
2.3.1. Gen 16S rRNA .....	17
2.3.2. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	18
2.3.3. Filogenetik.....	19
<b>III. MATERI DAN METODE .....</b>	<b>21</b>
3.1. Materi Penelitian .....	21
3.1.1. Alat .....	21
3.1.2. Bahan.....	22

3.2. Metode Penelitian .....	22
3.2.1. Pengambilan Sampel .....	22
3.2.2. Pengenceran Bertingkat.....	26
3.2.3. Isolasi Bakteri.....	27
3.2.4. Pemurnian Bakteri .....	27
3.2.5. Pewarnaan Gram .....	28
3.2.6. Identifikasi Molekuler .....	29
3.2.7. Analisis Data .....	31
3.2.8. Uji Kemampuan Bakteri Sebagai Pelarut Fosfat.....	32
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
4.1. Hasil.....	33
4.1.1. Keadaan Umum Lokasi Penelitian .....	33
4.1.2. Isolasi Bakteri.....	34
4.1.3. Pewarnaan Gram .....	37
4.1.4. <i>Total Plate Count</i> (TPC) .....	36
4.1.5. Identifikasi Molekuler .....	39
4.1.6. Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat .....	41
4.2. Pembahasan .....	44
4.2.1. Isolasi Bakteri.....	44
4.2.2. Kelimpahan Bakteri.....	46
4.2.3. Identifikasi Molekuler Bakteri .....	48
4.2.4. Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat .....	52
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>54</b>
5.1. Kesimpulan.....	54
5.2. Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>65</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi <i>Master Mix</i> untuk PCR.....	30
2. <i>Setting Program</i> Amplifikasi.....	30
3. Hasil Pengukuran Parameter Lingkungan.....	33
4. Isolasi Bakteri dari 12 Sampel Sedimen Mangrove yang diambil pada 4 Stasiun di Tapak.....	34
5. Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri pada Media <i>Nutrient Agar</i> .....	35
6. Hasil Pewarnaan Gram dari 12 Sampel Sedimen Mangrove yang diambil pada 4 Stasiun di Tapak .....	36
7. Hasil Perhitungan TPC dari 12 Sampel Sedimen Mangrove yang diambil pada 4 Stasiun di Tapak.....	38
8. Penelusuran BLAST Sampel MTB.1a dan MTD.1c.....	40
9. Hasil Uji Kemampuan Bakteri sebagai Pelarut Fosfat.....	42

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema Pendekatan Permasalahan Penelitian.....	4
2. Zonasi Ekosistem Mangrove .....	10
3. Struktural Rhizosfer.....	11
4. Morfologi Koloni Bakteri.....	13
5. Struktur Pohon Filogenetik.....	20
6. Peta Lokasi Penelitian.....	24
7. <i>Alat Sediment Core</i> Modifikasi.....	25
8. Pengenceran Bertingkat.....	26
9. Bentuk Sel Bakteri.....	37
10. Hasil <i>Gel Photo</i> Sampel MTB.1a dan MTD.1c.....	39
11. Pohon Filogenetik Sampel MTB.1a dan MTD.1c Menggunakan Metode <i>Neighbor-joining</i> .....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Dokumentasi Alat yang digunakan.....	66
2. Dokumentasi Bahan yang digunakan.....	68
3. Dokumentasi Pengambilan Sampel.....	70
4. Dokumentasi Prosedur Kegiatan.....	71
5. Foto Isolat Bakteri.....	72
6. Foto Hasil Pewarnaan Gram.....	74
7. Perhitungan <i>Total Plate Count</i> .....	76
8. Hasil Sekuensing Isolat MTB.1a dan MTD.1a dengan Menggunakan <i>Primer Forward 27F</i> dan <i>Primer Reverse 1492R</i> .....	77