

**POTENSI BAKTERI SELULOLITIK *Indigenous* MANGROVE TERHADAP
DEKOMPOSISI LIMBAH TAMBAK UDANG**

**SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

Oleh :
**DEVY DHINA MARGANINGTYAS
NIM. 0410850019**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2009**

**POTENSI BAKTERI SELULOLITIK *Indigenous* MANGROVE TERHADAP
DEKOMPOSISI LIMBAH TAMBAK UDANG**

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh :
DEVY DHINA MARGANINGTYAS
NIM. 0410850019

DOSEN PENGUJI I

(Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS)

Tanggal:

DOSEN PENGUJI II

(Ir. SOELISTYOWATI)

Tanggal:

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

(Prof. Ir. MARSOEDI, PhD.)

Tanggal:

DOSEN PEMBIMBING II

(Dra. UMI MARWATI, M.Si)

Tanggal:

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN**

(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS)

Tanggal:

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas berkat rahmat, tauhid serta hidayahNya akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi Bakteri Selulolitik *Indigenous* Mangrove terhadap Dekomposisi Limbah Tambak Udang”. Penyusunan skripsi merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Atas terselesainya penulisan Skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

- Bapak Prof. Ir. Marsoedi, PhD. selaku dosen pembimbing I
- Ibu Dra.Umi Marwati, M.Si selaku dosen pembimbing II
- Ibu Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen penguji I
- Ibu Ir. Soelistyowati selaku dosen penguji II
- Kedua orang tuaku dan kakak-kakakku atas dukungan moral, spiritual dan financial yang telah memberikan bantuan baik materi maupun motivasi.
- Teman-teman atas semangat, bantuan dan informasi yang diberikan serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi pihak yang berminat dan memerlukannya.

Malang, Januari 2009

Penulis

RINGKASAN

DEVY DHINA MARGANINGTYAS. POTENSI BAKTERI SELULOLITIK *Indigenous* MANGROVE TERHADAP KOMPOSISI LIMBAH TAMBAK UDANG (Dibawah bimbingan Prof. Ir. MARSOEDI, PhD dan Dra. UMI MARWATI, MSi)

Bakteri selulolitik memiliki kemampuan dalam menghidrolisis bahan-bahan dari alam yang mengandung selulosa menjadi produk yang lebih sederhana. Sumber isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kawasan mangrove yang diperoleh dari Kelurahan Ketapang, Kecamatan Kademangan, Kota Probolinggo. Substrat limbah yang digunakan untuk menguji kemampuan isolat terpilih adalah tambak udang pasca produksi yang terletak di Kecamatan Tongas, Kabupaten Probolinggo.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri selulolitik *indigenous* mangrove dan potensi isolat terpilih dalam mendekomposisi substrat limbah tambak. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bioagent dalam penanganan limbah tambak udang.

Tahapan dalam penelitian ini antara lain: pengambilan sampel, isolasi, pemurnian dan seleksi bakteri selulolitik. Seleksi bakteri selulolitik dilakukan dengan pengukuran indeks zona bening. Isolat yang mempunyai zona bening terbesar diduga mempunyai kemampuan selulolitik lebih tinggi dibandingkan dengan isolat-isolat yang lain. Isolat tersebut kemudian dipilih untuk uji potensi bakteri selulolitik. Uji potensi bakteri selulolitik meliputi: karakterisasi isolat terpilih bakteri selulolitik, kurva standart isolat terpilih bakteri selulolitik, kurva pertumbuhan dan pola aktifitas enzim selulase pada substrat CMC 1% dan substrat limbah tambak udang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dengan pengamatan secara langsung, meliputi: pengamatan morfologi koloni, uji biokimia, kurva pertumbuhan dan aktivitas enzim selulase.

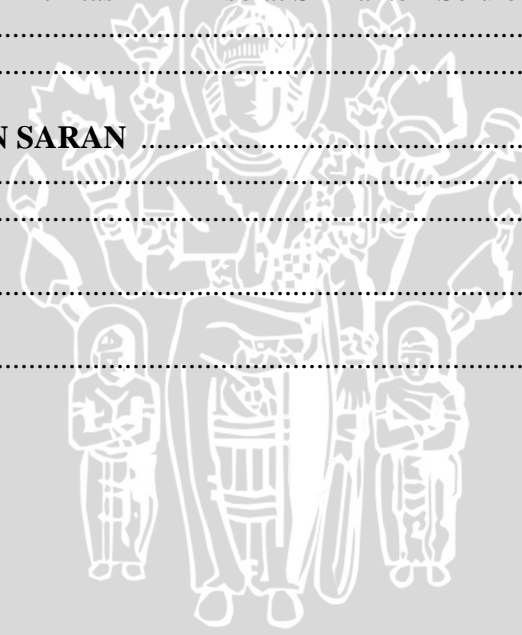
Hasil isolasi bakteri selulolitik *indigenous* mangrove didapatkan sebanyak 17 isolat. Sebagian besar isolat memiliki karakter morfologi antara lain: bentuk circular, elevasi low convex, tepi entire, struktur dalam opaque dan berwarna putih. Isolat S1 merupakan isolat yang mempunyai kemampuan selulolitik tertinggi dengan nilai indeks zona bening sebesar 5,541. Isolat S1 termasuk bakteri gram positif yang berbentuk batang, *Methyl Red* (MR) negatif, *Voges Proskauer* (VP) positif, katalase positif, motilitas positif, endospora negatif dan sitrat simmon negatif. Isolat ini mempunyai fase logaritmik tertinggi pada substrat CMC 1% pada masa inkubasi ke-24 jam dengan jumlah sel $12,857 \times 10^7$ sel/ml sedangkan pada substrat ekstrak limbah fase tertinggi pada masa inkubasi ke-48 jam dengan jumlah sel $3,581 \times 10^7$ sel/ml. Aktifitas enzim selulase tertinggi isolat S1 pada substrat CMC 1% sebesar 0,035 U/ml pada masa inkubasi ke-48 jam sedangkan pada substrat ekstrak limbah aktifitas tertinggi didapatkan pada masa inkubasi ke-48 jam sebesar 0,031 U/ml.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan sebaiknya dilakukan pengidentifikasian isolat S1 dan perlu untuk dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaplikasian isolat S1 pada skala lapang sehingga dapat diketahui pemberian optimal isolat dalam mendekomposisi substrat limbah tambak udang.

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR ISTILAH	viii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penulisan	3
1.4 Manfaat Penulisan	3
1.5 Hipotesis	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Limbah Tambak Udang	4
2.2 Kawasan Mangrove	6
2.3 Bakteri Selulolitik	9
2.4 Selulosa	10
2.5 Enzim Selulase	11
2.6 Mekanisme Dekomposisi Selulosa	12
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Tempat dan Waktu	15
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	15
3.2.1 Bahan	15
3.2.2 Alat	15
3.3 Prosedur Penelitian	16
3.3.1 Pengambilan Sampel	16
a. Sampel Kawasan Mangrove	16
b. Sampel Limbah Tambak Udang	16
3.3.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Selulolitik	16
3.3.3 Seleksi Bakteri Selulolitik	17
3.3.4 Karakterisasi Isolat S1 Bakteri Selulolitik	18

3.3.5 Kurva Standar Isolat S1 Bakteri Selulolitik	21
a. Pembuatan Starter	21
b. Pembuatan Stok Inokulum	21
c. Pembuatan Kurva Standar Isolat S1 Bakteri Selulolitik	21
3.3.6 Kurva Pertumbuhan Isolat S1 Bakteri Selulolitik	22
3.3.7 Pola Aktivitas Enzim Selulase Isolat S1	22
a. Kurva Standar Glukosa	22
b. Pola Aktivitas Enzim Selulase Isolat S1	23
3.4 Metode Penelitian dan Analisa Data	24
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Isolasi, Seleksi dan Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Selulolitik <i>Indigenous Mangrove</i>	25
4.2 Seleksi Bakteri Selulolitik	27
4.3 Karakteristik Morfologi dan Biokimia Isolat S1 Bakteri Selulolitik ...	29
4.4 Kurva Pertumbuhan Isolat S1 Bakteri Selulolitik	33
4.5 Aktifitas Enzim Selulase Isolat S1 Bakteri Selulolitik	36
4.6 Pertumbuhan dan Aktifitas Enzim Isolat S1 Bakteri Selulolitik	38
a. Selulosa	38
b. Limbah	39
5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
4.1 Kesimpulan	40
4.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR ISTILAH

Istilah	Keterangan
Abrasi	Pengikisan pantai oleh tenaga gelombang laut dan arus laut yang bersifat merusak
Akumulasi	Penumpukan.
Bakteri	Makhluk hidup seluler terkecil, prokariot yang paling banyak terdapat di alam, tidak terdapat selaput inti.
Bioagent	Agen biologis/makhluk hidup yang punya sifat tertentu di lingkungan. Misal: penghasil enzim, antibakteria/bioakumulator
Bioremediator	Penggunaan mikroba untuk memonitor limbah agar berjalan efisien.
Degradasi	Terurai, hancur, perubahan suatu senyawa dari yang kompleks menjadi sederhana.
Circular	Bentuk bulat.
Curled	Bentuk keriting, berkerut.
Convex	Elevasi cembung.
Coarsely granular	Struktur dalam berbentuk benang lurus rapat.
Dekomposisi	Penguraian.
DNS	(<i>Dinitrosalysilic acid</i>).
Entire	Tepian rata.
Fibriate	Tepian berambut seperti benang tak beraturan.
Filamentous	Bentuk seperti benang.
Hemiselulosa	Bersama dengan selulosa terdapat pada dinding sel tumbuhan yang membina matriks dinding sel.
Hidrolisis	Pemecahan.
Indigenous	Asli.
Inkubasi	Periode waktu.

Inokulasi	Menanam mikroba.
Intrusi	Sebuah batu beku yang telah menjadi kristal dari sebuah magma yang meleleh di bawah permukaan bumi.
Isolasi	Pengambilan suatu partikel dari tempat asalnya untuk diteliti lebih lanjut.
Isolat	Bakteri
Koagulan	Membeku.
Light-Yellow	Krem.
Lignin	Membina jaringan pembuluh, 20-35% berat kayu tumbuhan. Berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa yang membina dinding sel, membuat sel kuat, kedap air dan tahan terhadap bahan kimia dan enzim yang dihasilkan jamur.
Low Convex	Elevasi sedikit cembung.
Metabolisme	Suatu system perubahan kimiawi yang menjaga kegiatan nutrisi dan fungsional organisme.
Mikroba	Jasad renik (bakteri, jamur uniseluler dan virus).
Myceloid	Bentuk seperti myselia (seperti jamur).
Opaque	Struktur dalam tidak tembus cahaya.
Pentosan	Gula berkarbon lima (ribosa dan deoksiribosa yang membina RNA dan DNA).
Pertumbuhan	Perubahan yang terjadi pada makhluk hidup yang meliputi: penambahan ukuran tubuh.
Plasma Nuftah	Sumber genetik.
Pour Plate	Cawan tuang.
Reaktan	Yang mereaksi.
Reserve Osmosis	cadangan osmosa
Rhizoid	Bentuk pertumbuhan dengan cabang-cabang/akar
Seleksi	Cabang genetik untuk menentukan bibit unggul yang dipilih untuk memunculkan sifat unggul.

Smoath

Struktur dalam lembut.

Toksik

Beracun.

Translucent

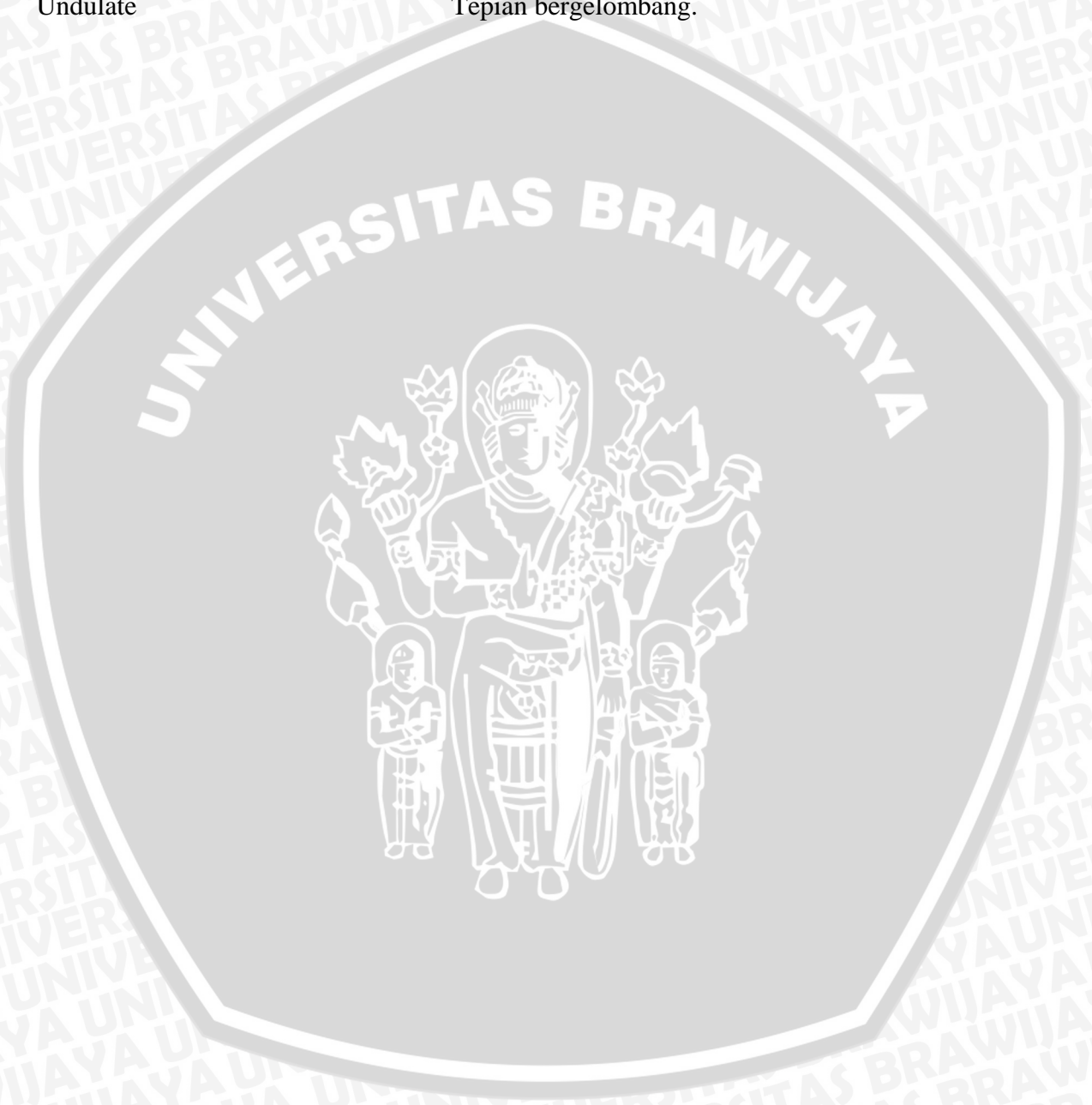
Struktur dalam sedikit tembus cahaya.

Transparant

Struktur dalam tembus cahaya.

Undulate

Tepian bergelombang.



DAFTAR PUSTAKA

- Abrusci, C., A. Martin Gonzalez., A. Del Amo., F. Catalina., J. Collado and G. Platas. 2005. **Isolation and Identification of Bacteria and Fungi from Cinematographic Films**. Journal International Biodeterioration & Biodegradation. 56(3):58-68.
- Akhtar, N., Muhammad A. Ghauri., Amira Iqbal., Munir A. Anwar and Kalsoom Akhtar. 2008. **Biodiversity and Phylogenetic Analysis of Culturable Bacteria Indigenous to Khewra Salt Mine of Pakistan and Their Industrial Importance**. Brazilian Journal of Microbiology. 39(1):143-150.
- Amin. 2001. **Akumulasi dan Distribusi Logam Berat Pb dan Cu pada Mangrove (*Avicennia marina*) di Perairan Pantai Dumai**. Riau. Jurnal Ilmu Kelautan. 30(1): 85-94.
- Amnan, M. 1999. **Evaluasi Kandungan Logam Berat Hg dan Pb pada Kerang *Polymesoda sp* pada Ekosistem Sungai di Kawasan Industri**. Jurnal Oseana. Jakarta. 30(3): 21-26.
- Apun, K., Bor C. Jong and Mohd Azib Salleh. 2000. **Screening and Isolation of A Cellulolytic and Amylolytic *Bacillus* from Sago Pith Waste**. Journal Genetic Applied Microbiol. 46(2): 263-267.
- Ariantiningih, F. 2008. **Suaka Margasatwa Rawa Singkil Mutiara di Pantai Barat Aceh**. <http://www.cbni.nlm.nih.gov/sites/entrez.doc>. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Aryulina. 2008. **Pengolahan Limbah Tapioka menjadi Biogas melalui Penerapan Teknologi Bioproses**. <http://www.unsoed.ac.id/cmsfak/UserFiles/File/Proposal%20pengolahan%20limbah%20lemlit.doc>. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Azim, M. E., Muhammed A. Wahab., Mochmed C. J. Verdegem., Ahmed A. V. Dam., John M. V. Rooij and Malcolm Beveridge. 2002. **The Effect of Artificial Substrates on Freshwater Pond Productivity and Water Quality and The Implications for Peryphyton-Based Aquaculture**. Journal Aquaculture Living Resources. 15(02): 231-241.
- Bahar, Y.H.1998. **Teknologi Penanganan dan Pemanfaatan Sampah**. PT. Waca Utama Pramesti. Jakarta. 57 hal.

- Ballen. 1998. **Ecological Importance of Mangrove Habitat.** <http://www.mangrove@mangrove.org>. Tanggal Akses 17 Desember 2008 Pukul 05.00 WIB.
- Benson, H. 2002. **Microbiological Applications Manual in General Microbiology Eight Edition.** MC Graw Hill. Boston. 478 hal.
- Bioagen. 2007. **Enzim Selulase.** <http://www.indobioagen.or.id/alfabeta.pdf>. Tanggal Akses 17 Desember 2008 Pukul 05.00 WIB.
- Brock, J. A and F. Main. 1994. **A Guide to The Common Problems and Diseases of Cultured Penaeus Vannamei.** Mokouu Point, Honolulu. Hawai. 241p.
- Brooks, G. F., Janet, S dan Stephen. 2005. **Mikrobiologi Kedokteran.** Salemba Medika. Jakarta. 528 hal.
- Burrell, P.C., C.O. Sullivan, H. Song., W. P. Clarke And Blackall. 2003. **Identification, Detection and Spatial Resolution of Clostridium Populations Responsible for Cellulose Degradation in A Methanogenic Landfill Leachate Bioreactor.** Journal Applied and Environmental Microbiology. 70(4): 2414-2419.
- Chakraborty, N., G.M. Sarkar and Lahiri. 2004. **Cellulose Degrading Capabilities of Cellulolytic Bacteria Isolated from The Intestinal Fluids of The Silver Cricket.** The Environmentalist Journal. 20(1): 9-10.
- Chaplin, M. 2004. **Glucose from Cellulose.** <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/cellulose.html>. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Cholik, F., A.G. Jagatraya., R.P. Poernomo dan Ahmad Jauzi. 2005. **Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa. Masyarakat Perikanan Nusantara (MPN).** PT.Victoria Kreasi Mandiri. Jakarta. 360 hal.
- Chung, K. T and Christine Case. 2001. **Soil of Microbiology.** <http://www.smccd.net/accounts/case/envmic/winogradsky.html>. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Delalibera, I. J.R., Jo Handsman and Kenneth Raffa. 2003. **Contrasts in Cellulolytic Activities of Gut Microorganisms Between The Wood Borer, Saperda vestita (Coleoptera: Cerambycidae), and The Bark Beetles, Ips pini and Dendroctonus Frontalis (Coleoptera: Curculionidae).** Journal Environmental Entomol. 34(3): 541-547.

- Enari, T. M., 1998. **Microbial Cellulosa**. <http://www.aem.asm.org/cgi/reprint/54/2/302.pdf>. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Fardiaz. 1998. **Mikrobiologi Pangan**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 268 hal.
- Feliatra. 2001. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Heterotrof yang terdapat pada Daun Mangrove (*Avicenna Sp* dan *Sonneratia Sp*) dari Kawasan Stasiun Kelautan Dumai**. Jurnal Natur Indonesia. Jakarta. 3(2): 104-112.
- Gunarto. 2008. **Konservasi Mangrove sebagai Pendukung Sumber Hayati Perikanan Pantai**. Jurnal Litbang Pertanian. Makasar. 23(1): 2-7.
- Heinz. 1998. **Cellulose**. Institute of Organic and Macromoleculer Chemistry, Fredrich Schiller University of Jena. Germany.
- Hendricks, C.W., Jack D. Doyle And Bonnie Hugley. 1998. **A New Solid Medium for Enumerating Cellulose-Utilizing Bacteria in Soil**. Journal Applied And Environmental Microbiology. 61(5): 2016-2019.
- Hermanto. 2007. **Pengelolaan Budidaya Tambak Berwawasan Lingkungan**. Medan. Jurnal Deptan. 30(12):1-6.
- Highley, T.L. 1998. **Cellulose Degradation by Cellulose-Clearing and Non-Cellulose-Clearing Brown-Rot Fungi**. Journal Environmental Microbiology. 40(6): 1145-1147.
- Irianto. 2007. **Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme**. Penerbit Yrama Widya. Bandung. 256 hal.
- Iskandar. 2006. **Pengelolaan Plankton pada Ekosistem Tambak yang Ramah Lingkungan**. Makalah Teknologi Bioremediasi dan Probiotik Universitas Padjadjaran. Bandung.
- Kader, A. J., Othman Omar dan Shu Feng. 1999. **Isolation of Cellulolytic Fungi from The Bario Highlands, Sarawak**. <http://www.arbec.com.my/pdf/art>. Tanggal Akses 17 Desember 2008 Pukul 05.00 WIB.
- Kordi M. dan Andi Tancung. 2007. **Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan**. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 210 hal.
- Lay dan S. Haswoto. 1992. **Mikrobiologi**. Rajawali Press. Jakarta. 624 hal.

- Leatherwood, J.M., R. D. Mochrie, E. J. Stone and Thomas. 1999. **Cellulose Degradation by Enzymes Added to Ensiled Forages**. Department of Animal Science North Carolina Agricultural Experiment Station, Raleigh. *Journal Biochem.* 30(8): 124-127.
- Lösekan, T., Katrin Knittel., Thierry N., Benharg F., Helge N., A. Boetius and Rudolf Amann. 2007. **Diversity and Abundance of Aerobic and Anaerobic Methane Oxidizers at The Haakon Mosby Mud Volcano, Barents Sea**. *Applied Journal Environment Microbiology.* 73(10): 3348-3362.
- Louime, C. M., Abazinge dan Johnson. 2006. **Protease from Bacteria in Soybean Whey**. *Proc. Food Science and Technology in Industrial Development.* *Applied Journal Environment Microbiology.* 21(2): 751-754.
- Maier, R. M., I. Pepper dan Gerba. 2002. **Environmental Microbiology**. Academic Press. New York. 604p.
- Marganof. 2006. **Potensi Limbah Udang sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan**. http://rudyc.topcities.com/pps702_71034/marganof.html. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Marwati, U. 2007. **Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Umum**. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Malang. 58 hal.
- Mulyadi. 1999. **Pertumbuhan dan Daya Serap Nutrien dari Mikroalga *Dunaliella tertiolecta* yang dipelihara pada Limbah Domestik**. Riau. *Jurnal Natur Indonesia* 2(1): 65-68.
- Musa, M. 2006. **Diktat Kuliah Limnologi**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 127 hal.
- Nobles, D.R., Dwight K. Romanovicz and Malcolm Brown. 2001. **Cellulose in Cyanobacteria. Origin of Vascular Plant Cellulose Synthase**. *Plant Physiol.* 127(2): 529-542.
- Nwodo-Chinedu, S., V.I. Okochi., H. A. Smith., U. A. Okafor, B. M. Onyegeme-Oerenta, dan Omidiji. 2007. **Effect of Carbon Sources on Cellulase (EC 3.2.1.4) Production by *Penicillium Chrysogenum* PCL501**. *African Journal of Biochemistry* 1(1): 006-010.
- Oyeleke, S., B and Okusanmi, T. A. 2008. **Isolation and Characterization of Cellulose Hydrolyzing Microorganism from The Rumen Of Ruminants**. *African Journal of Biotechnology.* 7 (10): 1503-1504.

- Pelczar, M dan Chan. 1998. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Rismijana, J., Iin N. Indriani dan Tutus Pitriyani. 2003. **Penggunaan Enzim Selulase Hemiselulase pada Proses Deinking Kertas Koran Bekas**. Jurnal Matematika dan Sains. 8(2): 67-71.
- Roudier, F., G. Anita., B. Fernandez, M. Fujita., R Himmelspach., G.H.H. Borner., G. Schindelman., S.Song., Tobias., Baskin., Geoffrey., Wasteneys and Philip Benfey. 2005. **An Arabidopsis Extracellular Glycosyl-Phosphatidyl Inositol-Anchored Protein, Specifically Controls Highly Anisotropic Expansion through It's Involvement in Cellulose Microfibril Orientation**. Jurnal Plant Cell. 17(6): 1749-1763.
- Salmin. 2005. **Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) sebagai salah satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Perairan**. Jakarta. Oseana LIPI. 31(3): 23-29.
- Schwarz, W.H. 2001. **The Cellulosome and Cellulose Degradation by Anaerob Bacteria**. Applied Journal of Microbiology. 56(2): 634-649.
- Serkiz, S.M. 1998. **Phase I Nuclide Partition Laboratory Study Influence of Cellulose Degradation Products on The Transport of Nuclides From SRS Shallow Land Burial**. Westinghouse Savannah River Company Savannah River Site Aiken, USA. Applied Journal of Microbiology. 6(1):13-40.
- Setyohadi, D., Dewa G.R.Wiadnya dan Soemarno. 2001. **Pengaruh Aerasi dan Resirkulasi Biofilter terhadap Pertumbuhan dan Produksi Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Malang. BIOSAIN 1(1):247-260.
- Silaban, R. 2008. **Enzim Selulolitik pada Bakteri *Pseudomonas alcaligenes* PaAf**. <http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbpp-gdl-ramlansila28142&q=Natural>. Tanggal Akses 25 Juli 2008 Pukul 06.00 WIB.
- Subarijanti, H. 2000. **Ekologi Perairan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 113 hal.
- Sumarsih, S. 2003. **Diktat Kuliah Mikrobiologi Dasar**. Jurusan Tanah Fakultas Pertanian UPN "Veteran". Yogyakarta.
- Surakhmat. 1998. **Pengantar Penelitian Ilmiah**. Penerbit Tarsito Bandung. 286 hal.
- Sutedjo, M.M., A.G. Kartasapoetra dan Sastroadmojo. 1991. **Mikrobiologi Tanah**. PT. Rineka Cipta. Jakarta.

- Stokes, A.S. 2007. **Analysis and Simulation of Progressive Adolescent Scoliosis by Biomechanical Growth Modulation**. Department of Orthopaedics and Rehabilitation, University of Vermont, USA. *Journal Biological Bacteria*. 16(10): 1621-1628.
- Tjahjadi, P. 2007. **Fisiologi Mikroba**. Bumi Aksara. Jakarta. 285 hal.
- UNSOED. 2007. **Pengolahan Limbah Tepung Tapioka Menjadi Biogas (Energi Alternatif) melalui Penerapan Teknologi Bioproses**. <http://www.akademik.unsoed.ac.id/cmsfak/UserFiles/File/Proposal%20pengolahan%20limbah%20lemlit.doc>. Tanggal Akses 17 Desember 2008 Pukul 05.00 WIB.
- Varnaitė, R., Algimantas. D. Paskevicius and Vita Raudoniene. 2008. **Cellulose Degradation In Rye Straw by Micromycetes and Their Complexes**. *Journal Ekologija*. 54(1):29-31.
- Warringer, J., Dragi. A., C. Beidong Liu dan Anders Blomberg. 2008. **Chemogenetic Fingerprinting by Analysis of Cellular Growth Dynamics**. *Journal Biological Bacteria*. 8(3): 1186-1193.
- Winarno, F.G. 2002. **Kimia Pangan dan Gizi**. PT. Gramedia. Jakarta. 34 hal.
- Wood, T.M dan Campayo. 1998. **Enzymes and Mechanism Involved In Microbial Cellulolysis Biochemistry of Microbial Degradation**. Kluwer Academic Publisher. Netherland. *Journal Biological Bacteria*. 13(5): 197-231.
- Zhang, Y. H. P and Lee Lynd. 2005. **Cellulose Utilization by *Clostridium Thermocellum*: Bioenergetics and Hydrolysis Product Assimilation**. *Proc Natl Academic Science USA*. *Journal Biological Bacteria*. 102(20): 7321-7325.
- Zulnaidi, S. 2007. **Metode Penelitian**. Fakultas Ekonomi Universitas Sumatera Utara. 205 hal.

1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Budidaya udang merupakan komoditas andalan Indonesia pada sektor perikanan. Hal ini terbukti dengan semakin meningkatnya produksi budidaya udang di Indonesia. Cholik *et al.* (2005) menuturkan bahwa pada tahun 2003 produksi udang mencapai 178.000 ton dengan rincian 90.000 ton udang windu, 43.000 ton udang vannamei dan sisanya 45.000 ton terdiri dari berbagai jenis udang. Produksi udang pada tahun 2004 mencapai 230.000 ton dengan rincian 125.000 ton udang windu, 49.000 ton udang vannamei dan sisanya 56.000 ton terdiri dari berbagai jenis udang. Negara-negara yang menjadi pengimpor utama produksi udang dari Indonesia adalah Jepang, Amerika Serikat dan Negara-negara Eropa.

Sejalan dengan perkembangannya, muncul berbagai masalah dan hambatan yang dapat menyebabkan kegagalan panen dan menurunnya produksi udang budidaya. Kegagalan ini diduga karena faktor internal dan faktor eksternal (Brock *et al.*, 1994). Faktor internal disebabkan karena limbah yang berasal dari pakan dan kotoran udang. Limbah ini akan terakumulasi menjadi bahan organik. Bahan organik dalam tambak yang semakin meningkat dapat menghasilkan karbondioksida (CO₂) bebas sehingga kandungan oksigen (O₂) terlarut semakin rendah. Oksigen terlarut diperlukan untuk proses metabolisme dan pernafasan pada udang. Rendahnya kadar oksigen (O₂) terlarut dapat menyebabkan penurunan kualitas air tambak. Faktor eksternal berasal dari pencemaran lingkungan sekitar tambak. Pencemaran tersebut dapat berupa buangan limbah baik dari kawasan industri, pertanian maupun rumah tangga. Akibatnya kondisi

udang stress, nafsu makan menurun bahkan kematian massal pada udang sehingga produksinya menurun.

Usaha untuk mengurangi kandungan limbah dalam tambak dilakukan dengan berbagai macam pendekatan meliputi: pendekatan kimia, fisika dan biologi (Amnan, 1999; Mulyadi, 1999). Pendekatan kimia adalah pendekatan yang dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia. Salah satu bahan yang digunakan adalah kaporit. Pendekatan fisika adalah pendekatan dengan menggunakan input teknologi aerasi dan resirkulasi. Sedangkan pendekatan biologis adalah pendekatan yang dilakukan dengan memanfaatkan tanaman atau mikroorganisme sebagai bioremediator. Mikroorganisme yang digunakan antara lain: bakteri, khamir dan kapang. Menurut Chung (2001), kelebihan penggunaan mikroba adalah pertumbuhannya yang cepat, sel-selnya mempunyai kandungan protein yang tinggi, menghasilkan produk yang tidak toksik dan tidak memerlukan reaktan dari luar karena reaksi biokimia dikontrol oleh organisme itu sendiri. Oleh karena itu penggunaan mikroba lebih disarankan dalam mengurangi kandungan limbah tambak.

Mikroba selulolitik memiliki kemampuan dalam menghidrolisis bahan-bahan dari alam yang mengandung selulosa menjadi produk yang lebih bermanfaat seperti: gula. Bakteri-bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis selulosa, antara lain: *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Cyptophaga* dan *Vibrio*. Aktifitas selulosa juga ditunjukkan oleh berbagai jenis bakteri pemfiksasi nitrogen, misalnya: *Bacillus*, *Paenibacillus* dan *Azopirillum* (Zhang dan Lee, 2004).

Sumber mikroba selulolitik yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kawasan mangrove. Sumber tersebut dipilih karena kawasan mangrove memiliki diversitas tinggi

dengan sistem alam terbuka dan lingkungan yang mendukung. Diharapkan dari penelitian ini dapat dijadikan alternatif dalam pengolahan limbah tambak udang.

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang dibahas pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah karakteristik bakteri selulolitik *indigenous* mangrove?
2. Bagaimanakah isolat terpilih (S1) dalam mendekomposisi limbah tambak udang?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui karakteristik bakteri selulolitik *indigenous* mangrove.
2. Mengetahui potensi isolat terpilih (S1) dalam mendekomposisi substrat limbah tambak.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian yang berupa isolat S1 bakteri selulolitik diharapkan dapat digunakan sebagai bioagent untuk penanganan limbah tambak udang.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga isolat bakteri selulolitik *indigenous* mangrove tidak mampu mendekomposisi substrat limbah tambak.

H_1 : Diduga isolat bakteri selulolitik *indigenous* mangrove mampu mendekomposisi substrat limbah tambak.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Tambak Udang

Budidaya udang secara intensif adalah suatu sistem budidaya yang menerapkan padat penebaran tinggi dengan dosis pakan yang tinggi pula sehingga menghasilkan limbah yang cukup besar jumlahnya, baik limbah cair maupun limbah padat. Limbah ini berasal dari sisa pakan, kotoran budidaya, organisme dan plankton yang telah mati. Apabila dibiarkan limbah organik ini akan berdampak buruk terhadap kualitas air, pertumbuhan, kesehatan dan kelangsungan hidup udang (Kordi dan Andi, 2007).

Limbah mengandung senyawa-senyawa organik dan substansi-substansi beracun seperti: ammonia (NH_3), nitrit dan asam belerang (H_2S). Kadar ammonia yang tinggi dapat merusak jaringan insang udang sehingga fungsinya sebagai alat pernafasan akan terganggu. Akibatnya udang tidak bisa hidup normal atau bahkan mengalami kematian. Nitrit berpengaruh terhadap transport oksigen dalam darah dan kerusakan jaringan. Asam belerang (H_2S) mengakibatkan udang kehilangan keseimbangan dan mengalami kematian (Musa, 2006).

Limbah dalam tambak yang semakin meningkat dapat menimbulkan dampak negatif bagi kelangsungan hidup udang. Menurut Marganof (2006), sifat-sifat limbah antara lain: sulit didegradasi sehingga mudah terakumulasi dalam lingkungan perairan, dapat terakumulasi pada udang sehingga menyebabkan kematian dan mudah terakumulasi di sedimen sehingga konsentrasinya lebih tinggi dari konsentrasi logam dalam air.

Untuk mengurangi kandungan limbah dalam tambak sebaiknya sebelum air digunakan untuk budidaya air diolah terlebih dahulu. Pengolahan air tersebut dilakukan

dengan berbagai macam pendekatan. Pendekatan tersebut meliputi: pendekatan kimia, fisika dan biologi (Amnan, 1999; Mulyadi, 1999).

Pendekatan kimia adalah pendekatan dilakukan untuk mengurangi tingkat pencemaran limbah dengan menggunakan bahan-bahan kimia. Salah satu bahan yang digunakan untuk menyerap kandungan logam berat dari limbah tersebut adalah dengan menggunakan kaporit. Kaporit merupakan senyawa kimia yang dapat membunuh bakteri patogen sehingga dapat berfungsi untuk menghilangkan zat padat dari dalam air sehingga dapat merubah air yang tercemar menjadi bersih dan aman. Selain itu, kaporit dapat mengurangi kandungan pestisida, bahan kimia dan kandungan logam berat di air dalam jumlah yang cukup besar. Akan tetapi, penggunaan obat-obatan dan bahan kimia hanya perlu dilakukan pada saat-saat mendesak. Hal ini sesuai dengan prinsip resirkulasi yaitu meningkatkan mutu lingkungan dan meningkatkan daya tahan tubuh udang terhadap serangan penyakit sehingga otomatis ketergantungan petambak terhadap obat-obatan dan bahan kimia dapat diminimalisir (Hermanto, 2007).

Pendekatan fisika adalah pendekatan yang dilakukan untuk mengurangi tingkat pencemaran limbah dengan menggunakan input teknologi aerasi dan resirkulasi. Aerasi dilakukan dengan menambahkan udara ke dasar kolam, sehingga material reduktif terangkat ke permukaan air. Menurut Setyohadi *et al.* (2001), resirkulasi selain menambah oksigen juga melakukan pergantian air agar kualitas air menjadi lebih baik. Selain aerasi, penggunaan *reverse osmosis* dapat menghilangkan kandungan senyawa organik dan anorganik dari air limbah. Konsentrasinya dapat terus di *up-grade* sampai kadar tertentu sehingga zat-zat yang terlarut dapat dipulihkan secara ekonomis. Air yang telah diolah kemudian dapat digunakan untuk kebutuhan produksi dan terbebas dari pengaruh limbah. Menurut Salmin (2005), penyaringan secara fisika dapat juga

dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan sederhana, seperti: batu, koral, pasir, krikil, ijuk, zeolit dan norit. Mekanisme penyaringan air secara fisika adalah dengan mengalirkan air ke dalam kolam pengendapan dan difilter sehingga air yang keluar sudah bersih dari kotoran dan limbah.

Pendekatan biologis (biofilter) dilakukan dengan menggunakan organisme hidup yang mampu memanfaatkan senyawa-senyawa mineral yang terkandung dalam limbah menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Keuntungan pendekatan secara biologis disamping rendah dampak lanjut, organisme yang digunakan sebagai media bantu pada pengolahan limbah dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan. Contoh organisme yang digunakan sebagai biofilter dalam pendekatan biologis adalah fitoplankton jenis *Skeletonema costatum* dan *Chaetoceros calcitrans*. Jenis plankton ini mampu menyerap limbah metabolisme udang dan mampu menurunkan populasi dari *Vibrio harveyi* (Azim *et al.*, 2002; Iskandar, 2006).

Pendekatan biologis juga dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam mikroorganisme seperti bakteri, khamir dan kapang. Penggunaan mikroorganisme dalam mengurangi tingkat pencemaran limbah merupakan metode penanggulangan yang cepat, tepat, akurat dan berwawasan lingkungan ataupun hewan. Selain itu, mikroorganisme lebih mudah ditumbuhkan atau diperbanyak, kecepatan pertumbuhan lebih cepat dan kondisi selama produksi tidak bergantung pada pergantian musim (Enari, 1998).

2.2 Kawasan Mangrove

Kawasan mangrove atau banyak orang menyebut sebagai hutan bakau biasanya berada di daerah muara sungai atau estuarin. Daerah ini merupakan daerah tujuan akhir dari partikel-partikel organik ataupun endapan lumpur yang terbawa dari daerah hulu

akibat adanya erosi. Dengan demikian, daerah mangrove merupakan daerah yang subur, baik daratannya maupun perairannya, karena selalu terjadi transportasi nutrien akibat adanya pasang surut (Kordi dan Andi, 2007).

Hutan mangrove mempunyai berbagai fungsi. Fungsi fisiknya yaitu untuk menjaga kondisi pantai agar tetap stabil, melindungi tebing pantai dan tebing sungai, mencegah terjadinya abrasi dan intrusi air laut, serta sebagai perangkap zat pencemar. Perangkap zat pencemar disini maksudnya, hutan mangrove dapat berfungsi untuk menyerap bahan-bahan organik dan non-organik melalui akarnya sehingga dapat dijadikan bioindikator logam berat (Amin, 2001). Fungsi ekonomis mangrove yaitu sebagai sumber bahan bakar (kayu dan arang), bahan bangunan (balok dan papan), bahan tekstil, makanan dan obat-obatan. Sedangkan fungsi biologis mangrove adalah sebagai habitat benih ikan, udang dan kepiting untuk hidup dan mencari makan, sebagai sumber keanekaragaman biota akuatik dan nonakuatik seperti: burung, ular, kera, kelelawar, tanaman anggrek serta sumber plasma nutfah (Gunarto, 2008).

Keberadaan hutan mangrove juga memiliki arti yang sangat penting sebagai penyumbang produktivitas primer karena merupakan sumber detritus organik. Unsur hara dan bahan organik di hutan mangrove sebagian besar berasal dari luruhan daun mangrove serta organisme yang telah mati. Luruhan daun itu kemudian mengalami proses penghancuran dan penguraian (dekomposisi) oleh mikroorganisme salah satunya adalah bakteri. Luruhan tersebut merupakan komponen penyusun selulosa (Feliatra, 2001).

Vegetasi hutan bakau sangat bervariasi dari satu tempat ke tempat lainnya. Hal ini dikarenakan ekosistem hutan mangrove yang dipengaruhi oleh sifat tanah, salinitas, pasang surut, angin, gelombang dan laut. Untuk mendukung pertumbuhannya, tanah di

hutan mangrove harus mengandung unsur-unsur makro (seperti: C, N, P, K, Ca dan Mg) dan unsur hara mikro (Fe, Mn, Zn, B, Mo, Cl dan Co). Salinitas di wilayah hutan bakau bervariasi, dari salinitas rendah (tawar), payau dan salinitas tinggi (laut). Hal ini disebabkan karena hutan bakau tumbuh di daerah pesisir yang merupakan ekosistem peralihan antara darat dan laut. Adanya perbedaan tersebut menyebabkan organisme yang hidup di hutan mangrove juga beraneka ragam (Subarijanti, 2000).

Banyaknya jenis hewan tersebut disebabkan karena mangrove merupakan habitat bagi berbagai jenis satwa liar, seperti: primata, reptilia dan burung. Jenis-jenis reptilia yang umum ditemukan di daerah mangrove di Indonesia diantaranya biawak (*Varanus salvator*), ular air (*Enhydris enhydris*), ular mangrove (*Boiga dendrophila*) dan ular tambak (*Cerberus rhynchops*). Sedangkan jenis-jenis burung yang hidup di daerah mangrove seperti: kuntul (*Egretta spp*), bangau (*Ciconiidae*) atau pecuk (*Phalacrocoracidae*). Daerah mangrove menyediakan ruang yang memadai untuk membuat sarang. Mereka menggunakan mangrove sebagai habitat untuk mencari makan, berbiak atau sekedar beristirahat. Hal ini disebabkan karena minimnya gangguan yang ditimbulkan oleh predator. Bagi jenis-jenis pemakan ikan, seperti kelompok burung raja udang (*Alcedinidae*), mangrove menyediakan tenggeran dan sumber makanan yang berlimpah (Ariantingsih, 2008). Balen (1998), menambahkan sebanyak 167 jenis burung terestrial di hutan mangrove Pulau Jawa yang merupakan 34% dari seluruh jenis burung yang telah tercatat di Pulau Jawa. Pangkalan Data Lahan Basah (*Wetland Data Base*) mencatat setidaknya 200 jenis burung hidup bergantung pada habitat mangrove. Jumlah ini mewakili 13% dari seluruh jenis burung yang ada di Indonesia.

2.3 Bakteri Selulolitik

Bakteri selulolitik banyak diperoleh pada limbah selulolitik seperti pada sampah organik. Limbah selulolitik merupakan sisa dari pengolahan hasil pertanian seperti: jerami, biji-bijian, ampas tebu, sisa pengolahan sayur-sayuran, buah-buahan dan daun-daunan hijau. Sampah organik mengandung selulosa, hemiselulosa yang merupakan sumber karbohidrat, juga nutrient lainnya seperti: protein, lemak, vitamin dan mineral (Bahar, 1998). Menurut Chaplin (2004), dalam sampah organik terutama sampah selulolitik mengandung selulosa hampir 50%, bersama dengan lignin dan pentosan. Kedua pernyataan tersebut menunjukkan bahwa sampah organik merupakan sumber selulosa yang memiliki potensi untuk diolah kembali.

Banyak bakteri yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis bahan-bahan di alam yang mengandung selulosa menjadi produk yang lebih bermanfaat seperti gula fermentasi dan bahan bakar. Bakteri yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis selulosa antara lain: *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Cytophaga* dan *Vibrio*. Aktifitas selulase juga ditunjukkan oleh berbagai jenis bakteri pemfiksasi nitrogen, misalnya: *Bacillus*, *Paenibacillus* dan *Azospirillum* (Zhang dan Lee, 2004).

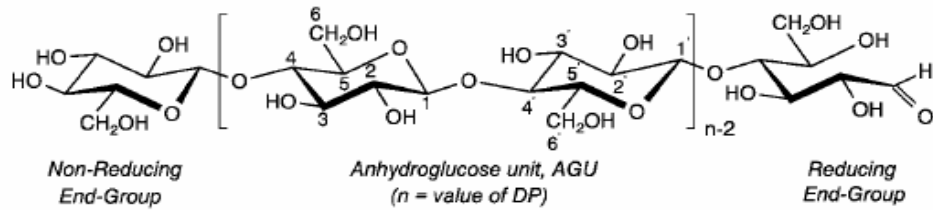
Mikroba selulolitik memiliki kompleks enzim yang terdiri dari berbagai jenis selulase yang berbeda antar spesies yang berbeda. Fungi cenderung menghasilkan lebih banyak selulase dibandingkan dengan bakteri, akan tetapi selulase dari bakteri merupakan pengkatalis yang lebih efektif dibandingkan dengan fungi. Selain itu pertumbuhan bakteri lebih cepat dan mudah dibandingkan dengan fungi. Beberapa jenis bakteri penghasil selulase dapat hidup pada temperatur yang tinggi (Oyeleke dan Okusanmi, 2008).

2.4 Selulosa

Selulosa adalah suatu polisakarida yang mempunyai formula umum seperti pati. Selulosa terdapat pada sebagian besar dinding sel dan bagian-bagian berkayu dari tumbuh-tumbuhan. Kapas hampir merupakan selulosa murni. Selulosa tidak dapat dicerna dan tidak dapat digunakan sebagai bahan makanan kecuali pada hewan ruminansia (sapi, domba dan kambing) yang mempunyai bakteri selulolitik di dalam rumennya. Bakteri tersebut dapat mencerna selulosa dan memungkinkan hasil akhir dari pencernaan bermanfaat bagi hewan tersebut (Bioagen, 2007).

Seperti juga amilosa, selulosa adalah polimer berantai lurus α -(1,4)-D-glukosa. Perbedaannya dengan amilosa adalah pada jenis ikatan glukosidanya. Selulosa bila dihidrolisis oleh enzim selobiose, yang memiliki cara kerja menyerupai β -amilase, akan memotong dua molekul glukosa dari ujung rantai sehingga menghasilkan selobiose (Winarno, 2002).

Selulosa merupakan komponen organik yang paling banyak terdapat di biosfer dengan penyusun utama bahan-bahan berserat dan berkayu seperti: pada jerami, rumput liar, daun, batang dan ranting tanaman (Roudier *et al.*, 2005; Nwodo *et al.*, 2007). Serat kasar adalah bagian dari makanan yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan. Serat kasar berisi selulosa, hemiselulosa dan polisakarida lain. Selulosa merupakan nama umum atau trivial bagi enzim, sedang nama sistematiknya adalah β -1,4 glukon-4-glukanohidrolase (EC 3.2.1.4). Menurut Heinz (1998), struktur molekul selulosa (Gambar 1) adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Struktur Molekul Selulosa

Selulosa dapat dihidrolisis oleh bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik berperan dalam memecah selulosa menjadi gula. Produk akhir hidrolisis selulosa akan berbeda tergantung pada jenis enzim yang dihasilkan. Pada proses aerob, hidrolisis limbah tersebut akan menghasilkan produk akhir karbondioksida (CO₂), air dan panas. Sedangkan pada proses anaerob, produk akhirnya berupa karbondioksida (CO₂), etanol dan panas (UNSOED, 2007; Silaban, 2008; Aryulina, 2008).

2.5 Enzim Selulase

Enzim adalah suatu protein biokatalis yang diproduksi oleh sel hidup termasuk mikroorganisme, untuk mengkatalis reaksi-reaksi biokimia yang diperlukan untuk metabolisme sel. Enzim memegang peranan penting dalam pemecahan komponen-komponen makanan, baik dalam kebusukan makanan maupun dalam proses fermentasi. Peranan enzim dalam industri makanan misalnya dalam lingkungan likuifikasi dan sakarifikasi pati menjadi gula, mengubah menjadi produk-produk lain, penjernihan sari buah, pengempukan daging dan sebagainya (Fardiaz, 1998).

Enzim selulase merupakan kelompok enzim hidrolitik yang memiliki kemampuan menghidrolisis selulosa menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana. Enzim dibedakan menjadi dua macam, yaitu endoenzim dan eksoenzim (eksoglukanase). Enzim eksoglukanase merupakan enzim selulosa yang menyerang ujung rantai selulosa non

pereduksi. Deteksi aktifitas enzim eksoglukanase dapat digunakan untuk mengetahui seberapa besar aktifitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik (Silaban, 2008).

Selulosa merupakan multienzim yang penting karena dapat mendegradasi substrat selulosa yang merupakan komponen utama limbah. Pemecahan selulosa secara enzimatik dikatalis oleh enzim selulase. Enzim ini dihasilkan oleh organisme tertentu seperti bakteri dan fungi. Beberapa mikroba selulolitik mempunyai selulase yang terikat pada permukaan luar sel dan sel ini terikat secara kuat pada selulosa. Enzim selulase akan disekresikan ke medium sekitarnya dan proses ini berlangsung sangat lambat karena enzim ini tidak dapat dilepas secara cepat dari dinding sel. Enzim selulolitik adalah enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan (3-1,4 glikosidik molekul selulosa dan turunannya. Keberhasilan pemecahan selulosa didasarkan faktor lingkungan, seperti: kelembaban, aerasi, temperatur dan tersedianya nitrogen yang mencukupi unsur-unsur nutrisi (Silaban, 2008; Kader *et al.*, 1999).

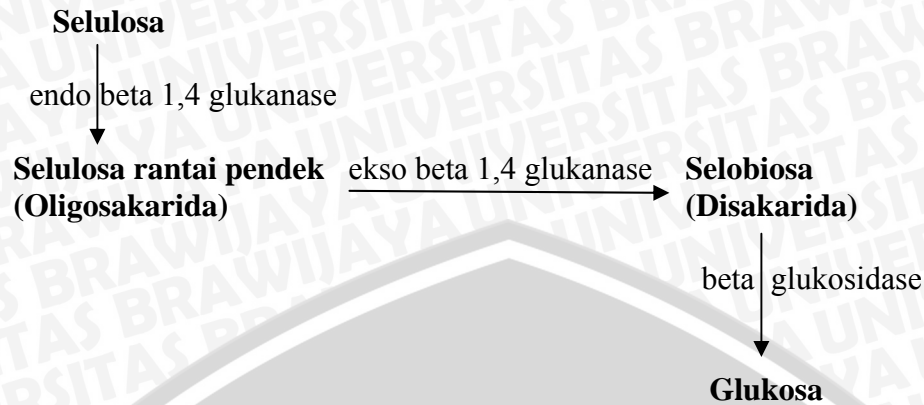
2.6 Mekanisme Dekomposisi Selulosa

Dekomposisi selulosa dapat berlangsung sangat lama tanpa bantuan apapun (Schwarz, 2001). Akan tetapi dengan bantuan reaksi enzimatik mikroba tanah, proses tersebut dapat dipercepat. Menurut Heinz (1998), selulosa dapat didegradasi dengan mudah dan cepat hanya oleh organisme spesifik diantaranya: bakteri, fungi, *actinomycetes* dan hewan tingkat rendah. Para pakar menggolongkan berbagai organisme pengurai selulosa adalah: bakteri aerobik, mikrobakteria, bakteri anaerobik, golongan termofilik, *actinomycetes*, fungsi berfilamen, mushroom, protozoa dan serangga.

Proses dekomposisi selulosa oleh mikrobia dilakukan dengan bantuan enzim ekstraseluler, yaitu β -1,4-endoglukanase dan β -1,4-eksoglukanase. Endoglukanase menghidrolisis polimer selulosa secara acak, dan menghasilkan molekul glukosa yang makin kecil. Sedangkan eksoglukanase menghidrolisis 2 sub unit glukosa pada bagian ekor sehingga menghasilkan selulosa disakarida. Terdapat enzim lain yang dikenal dengan β -glukosidase atau selobiose, yang mampu menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Selobiose dapat dimasukkan sebagai enzim intraselular atau ekstraselular baik selobiosa ataupun glukosa dapat ditambat oleh banyak sel bakteri atau fungi (Heinz, 1998; Maier *et al.*, 2002).

Mekanisme dekomposisi selulosa oleh berbagai bakteri tergantung pada sifat organisme dan kondisi dekomposisi. Bakteri aerobik dan fungi mampu menghasilkan CO₂ serta sejumlah zat atau substansi sel mikrobial. Mekanisme oleh *soft rot* dan *white rot* fungi aerob dan beberapa bakteri aerob melibatkan interaksi beberapa enzim seperti eksoglukanase, endoglukanase dan β -glukanase (Wood dan Campayo, 1998).

Pernyataan tersebut diperkuat oleh Tjahjadi (2007) yang menyatakan bahwa selulosa merupakan polimer glukosa dengan ikatan β -1,4. Degradasi selulosa menjadi glukosa memerlukan 3 enzim, yaitu endo β -1,4-glukanase yang memecah selulosa menjadi lebih pendek (oligosakarida), ekso β -1,4-glukanase memotong oligakarida menjadi selobiosa menjadi glukosa (Gambar 2). Selanjutnya glukosa diglikolisis.



Gambar 2. Mekanisme Hidrolisis Selulosa

Dekomposisi selulosa oleh mikrobia dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan, antara lain: kelembaban, aerasi dan temperatur. Kelembaban yang tinggi antara 50-75% sangat disukai oleh bakteri aerob. Kelembaban 80-90% sangat disukai oleh bakteri anaerob, sedangkan kelembaban yang sangat rendah 10% atau kurang dapat menghentikan sama sekali kegiatan dekomposisi selulosa (Sutedjo *et al.*, 1991).

Hidrolisis selulosa menurut Nobles *et al.* (2001), secara enzimatik dipengaruhi oleh: suhu, pH, waktu dan faktor kimiawi seperti adanya monosakarida, sistem H_2O_2 -Fe yang berperan dalam penguraian kristalin selulosa. Adanya produk hidrolisis selulosa terutama glukosa akan menghambat kerja enzim selulase, karena enzim ini mempunyai aktifitas yang lebih tinggi pada pH yang lebih asam dibandingkan dengan pH netral. Adanya glukosa juga dapat menghambat aktifitas ekso β -1,4 selobiohidrolase. Selama hidrolisis berlangsung, dihasilkan enzim lain seperti: enzim protease yang dapat menghambat aktifitas enzim endo 1,4- β -glukanase dan β -glukosidase.

3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Brawijaya, pada bulan Mei-Januari 2009.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: sampel (air) mangrove, limbah tambak, air, kapas, kertas tisu, kertas saring, kertas label, kertas whatman, akuades, plastik tahan panas, plastik pembungkus, alkohol 70%, spiritus, aluminium foil, sabun, alkohol 96%, glukosa, larutan garam fisiologis (0,85% NaCl), media NB (*Nutrient Broth*), media NA (*Nutrient Agar*), minyak emersi, TSB (*Tryptone Soya Broth*), reagen kovac, fosfat buffer (pH 7) dan media sitrat simmons.

Bahan-bahan untuk media yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: media selektif selulosa (isolasi), media selulosa (zona bening), media produksi selulosa (*cellulose broth*), kongo red 0,1%, media LA (*Luria Bertani Agar*), larutan DNS 1%, larutan Na-K-Tartarate 40%, media MR/VP (*Methyl Red/Voges Prokauer*), reagen uji MR, reagen barrit A, reagen barrit B, larutan pewarnaan gram (cat gram A, cat gram B, cat gram C dan cat gram D), pewarna malakit hijau 5%, pewarna safranin, larutan formalin 4%, larutan H₂O₂ 3% dan ekstrak limbah.

3.2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: botol aqua, botol-botol kecil, beaker glass, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, jarum ose, bunsen, korek api,

penggaris, spidol, kain lap, shaker, sentrifuge, oven, jarum enten, objek glass, cover glass, pipet, mikropipet, mikroskop, laminar air flow, spidol, saringan, autoklaf, inkubator, karet, lemari pendingin, kompor, rak, botol semprot, haemocytometer, vortex dan spektrofotometer.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

a. Sampel Kawasan Mangrove

Sumber isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kawasan mangrove Kelurahan Ketapang, Kecamatan Kademangan, Kota Probolinggo. Pengambilan sampel air mangrove dilakukan pada bulan Juni tahun 2008. Sampel tersebut merupakan pencampuran dari lima titik yang diambil secara acak kemudian dihomogenkan menjadi satu sampel.

b. Sampel Limbah Tambak Udang

Limbah tambak udang (substrat) digunakan untuk pengujian kemampuan isolat S1 dalam mendekomposisi limbah tambak udang. Pengambilan substrat berasal dari tambak udang pasca produksi yang terletak di Kecamatan Tongas, Kabupaten Probolinggo. Substrat tersebut diambil pada kedalaman 1-5 cm dan diuji komposisi limbah tambak (pada Lampiran 1) untuk mengetahui besarnya unsur yang terbentuk.

3.3.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Selulolitik

Sampel air mangrove sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam 45 ml larutan pengencer (0,85% NaCl) sebagai pengenceran 10^{-1} . Suspensi kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan garfis sebagai pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai pada pengenceran 10^{-8} . Sebanyak 1 ml suspensi dari tiap-tiap seri

pengenceran diinokulasikan ke dalam media selektif selulosa untuk isolasi (komposisi pada Lampiran 2). Metode yang digunakan adalah metode cawan tuang (*pour plate*) secara duplo. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 2-7 hari atau sampai koloni terbentuk.

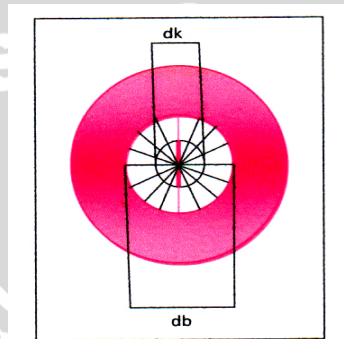
Koloni-koloni yang didapatkan untuk selanjutnya diamati morfologinya. Pengamatan morfologi koloni meliputi: bentuk, elevasi, tepi, struktur dalam dan warna koloni. Koloni bakteri tersebut kemudian diinokulasikan pada media selulosa dengan metode *single streak* dan diinkubasi selama 2-7 hari atau sampai koloni terbentuk. Koloni yang telah terbentuk kemudian diuji kemampuan selulolitiknya dengan menggunakan kongo red 0,1% (komposisi pada Lampiran 2). Pengujian dengan menggunakan kongo red dilakukan selama 15 menit dan dibilas dengan 1M NaCl (komposisi pada Lampiran 2) sampai zona bening terlihat.

Koloni bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik kemudian dimurnikan secara *continous streak* pada media LA (*Luria Bertani Agar*) (komposisi pada Lampiran 2) dan diinkubasi selama 2-7 hari pada suhu ruang. *Single* koloni yang telah dimurnikan tersebut kemudian dipindahkan pada media miring NA (*Nutrient Agar*) (komposisi pada Lampiran 2) sebagai stok kultur murni.

3.3.3 Seleksi Bakteri Selulolitik

Seleksi bakteri selulolitik dilakukan dengan pengukuran indeks zona bening. Pengujian zona bening bakteri dilakukan dengan menggunakan metode totol pada media selulosa (komposisi Lampiran 2). Isolat-isolat bakteri tersebut diinokulasikan pada cawan yang berisi media selulosa dengan menggunakan tusuk sate steril dan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang atau sampai zona bening terbentuk. Pengujian aktifitas zona bening ini dilakukan dengan menggunakan larutan kongo red (1 mg/ml) (komposisi pada

Lampiran 2) selama 15 menit dan dicuci dengan 1M NaCl sampai zona bening terlihat. Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar koloni kemudian diukur diameternya dengan menggunakan penggaris. Isolat yang mempunyai indeks zona bening terbesar diduga mempunyai kemampuan selulolitik tergolong tinggi dibandingkan dengan isolat-isolat yang lain dan dipilih untuk pengujian selanjutnya. Perhitungan indeks zona bening tersaji pada Gambar 3 (Marwati, 2007).



Gambar 3. Perhitungan Zona Bening

Keterangan gambar:

db : diameter besar (jumlah keseluruhan diameter total dibagi jumlah diameter besar yang dihitung)

dk : diameter koloni (jumlah keseluruhan diameter kecil dibagi jumlah diameter kecil yang dihitung)

Perhitungan:

$$\text{Luas total (Lt)} = \pi r_t^2$$

$$\text{Luas koloni (Lk)} = \pi r_k^2$$

$$\text{Luas zona (Lz)} = \text{Lt} - \text{Lk}$$

$$\text{Index : } Lz / Lk$$

3.3.4 Karakteristik Isolat S1 Bakteri Selulolitik

Isolat S1 merupakan isolat yang mempunyai indeks zona bening terbesar. Isolat ini kemudian dikarakterisasi meliputi: pewarnaan gram, uji MR/VP (*Methyl Red Voges-Proskauer*), uji produksi katalase, uji sitrat simmons, uji motilitas dan uji endospora.

Pewarnaan gram dilakukan dengan cara membuat preparat apusan bakteri. Sebanyak 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam dengan jarum ose dan diratakan diatas gelas objek yang telah ditetesi dengan akuades steril. Fiksasi preparat diatas api bunsen hingga kering. Preparat yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan cat gram A (kristal violet) (komposisi pada Lampiran 2) selama 1-3 menit. Sisa cat gram A dibuang, kemudian preparat dicuci dengan air mengalir. Preparat kemudian digenangi dengan cat gram B (*iodine*) (komposisi pada Lampiran 2) selama 0,5-1 menit, selanjutnya sisa gram B dibuang dan preparat dicuci dengan air mengalir. Preparat ditetesi dengan cat gram C (komposisi pada Lampiran 2) sampai warna cat tepat terlunturkan (± 30 detik). Sisa cat gram C dibuang, kemudian digenangi dengan cat gram D (komposisi pada Lampiran 2) selama 1-2 menit. Sisa cat gram D dibuang kemudian preparat dikeringanginkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop untuk mengetahui jenis cat gram dan karakteristik morfologi sel bakteri.

Langkah pertama yang dilakukan untuk pengujian MR/VP (*Metyl Red-Voges Prokauer*) ialah menginokulasikan 1 ose isolat bakteri yang berumur 24 jam ke dalam media MR/VP (komposisi pada Lampiran 2). Selanjutnya inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Setengah kultur biakan dituang ke dalam tabung reaksi yang steril dan diberi tanda. Tabung pertama untuk uji MR (*Methyl Red*) dan tabung kedua untuk uji VP (*Voges Prokauer*). Tabung pertama (uji MR) ditetesi dengan 3-4 tetes indikator MR. Uji dikatakan positif bila kultur berubah warna menjadi merah dan uji dikatakan negatif bila kultur berubah warna menjadi kuning. Tabung kedua (VP) ditetesi dengan 10 tetes reagen barrit A dan reagen barrit B (komposisi pada Lampiran 2) kemudian larutan dikocok selama 20-30 menit. Uji dikatakan positif bila kultur berubah warna menjadi merah muda dan negatif bila kultur tidak terjadi perubahan warna.

Uji katalase dilakukan dengan membersihkan gelas objek dengan etanol 70% kemudian dikeringkan. Dua tetes *hidrogen peroksida* (H_2O_2) (komposisi pada Lampiran 2) diteteskan pada objek gelas. Kemudian tambahkan satu ose biakan bakteri berumur 24 jam dari media NA (*Nutrient Agar*) diatas larutan H_2O_2 dan dicampur dengan ose. Reaksi dikatakan positif apabila terbentuk gelembung oksigen (seperti busa). Hal tersebut menunjukkan isolat tersebut menghasilkan enzim katalase yang mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen.

Uji sitrat simmons dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke dalam media miring agar sitrat simmons (komposisi pada Lampiran 2) dengan jarum ose. Biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Amati perubahan warnanya, uji ini dikatakan positif bila media sitrat simmons yang semula berwarna ungu berubah warna menjadi biru.

Uji motilitas dilakukan dengan cara menginokulasikan biakan secara tegak lurus ke dalam media *Motility Indole Ornithine* (MIO) (komposisi pada Lampiran 2) menggunakan jarum enten. Biakan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Uji ini dikatakan positif bila warna media menjadi kuning dan pertumbuhan bakteri tersebar di sepanjang garis tusukan. Perubahan warna ini menunjukkan adanya produksi asam. Sebaliknya, uji ini dikatakan negatif bila pertumbuhan bakteri hanya pada garis tusukan dan tidak terjadi perubahan warna pada media.

Uji endospora dilakukan dengan membuat preparat apusan bakteri. Biakan bakteri berumur 24 jam diambil secukupnya dengan jarum ose dan diratakan diatas gelas objek yang telah ditetesi dengan akuades steril. Fiksasi preparat diatas api bunsen hingga kering. Selanjutnya genangi preparat tersebut dengan pewarna malakit hijau (komposisi pada Lampiran 2) dan panaskan ke dalam ram kawat diatas pemanas air yang telah

mendidih sampai uap air timbul. Perlakuan ini dimaksudkan agar pewarna ini dapat masuk secara optimal ke dalam endospora. Selama pemanasan ini berlangsung teteskan larutan pewarna malakit hijau agar preparat ini tidak kering selama 10 menit. Setelah itu, cuci kelebihan pewarna dengan air mengalir dan keringanginkan. Tiriskan kaca objek dan serap sisa air dari preparat dengan kertas hisap. Preparat yang telah terwarnai tersebut kemudian amati struktur spora dalam selnya menggunakan mikroskop perbesaran 1000x dengan minyak emersi. Uji ini dikatakan positif bila endospora berwarna hijau.

3.3.5 Kurva Standar Isolat S1 Bakteri Selulolitik

a. Pembuatan Starter

Sebanyak 1 ose isolat S1 yang telah diremajakan pada media miring NA (*Nutrient agar*) diinokulasikan ke dalam 50 ml media NB (*Nutrient Broth*) dan dihomogenkan. Biakan starter kemudian dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm. Biakan tersebut digunakan sebagai stok kultur.

b. Pembuatan Stok Inokulum

Stok kultur yang diperoleh diinokulasikan sebanyak 10% dari volume media produksi ke dalam dua jenis substrat. Sebanyak 20 ml stok kultur diinokulasikan ke dalam 180 ml media produksi substrat CMC 1% (komposisi pada Lampiran 2) dan substrat ekstrak limbah (komposisi pada Lampiran 2) sebagai stok inokulum. Kultur tersebut dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm.

c. Pembuatan Kurva Standar Isolat S1 Bakteri Selulolitik

Stok inokulum yang diperoleh dibuat perbandingan konsentrasi dari stok inokulum dengan larutan pengencer. Perbandingan konsentrasi tersebut adalah 1:0, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 dan 1:7. Setiap perbandingan dimasukkan ke dalam botol film kemudian

ditambahkan 1-2 tetes formalin. Masing-masing perbandingan konsentrasi inokulum diukur absorbansi pada panjang gelombang 400 nm dengan spektrofotometer. Jumlah sel tiap perbandingan konsentrasi inokulum dihitung menggunakan haemocytometer. Data yang diperoleh kemudian dibuat grafik hubungan jumlah sel sebagai sumbu x dan absorbansi sebagai sumbu y. Kurva standart bakteri selulolitik dan kurva standart limbah dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.3.6 Kurva Pertumbuhan Isolat S1 Bakteri Selulolitik

Stok inokulum diinokulasikan ke dalam 10% media produksi. Sebanyak 10 ml stok inokulum diinokulasikan ke dalam 90 ml media produksi substrat CMC 1% dan substrat ekstrak limbah sebagai fermentor. Fermentor dishaker selama pengamatan kurva pertumbuhan (1-3 hari) dengan kecepatan 120 rpm. Pertumbuhan sel diamati dengan mengukur kekeruhan (OD) pada panjang gelombang 400 nm menggunakan spektrofotometer. Data yang diperoleh dibuat grafik hubungan antara waktu pengamatan (1-3 hari) sebagai sumbu x dan jumlah bakteri sebagai sumbu y.

3.3.7 Pola Aktifitas Enzim Selulase Isolat S1

a. Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dibuat dengan perbandingan antara larutan glukosa (D-glucose) konsentrasi 1000 µg/ml dengan akuades steril. Selanjutnya dibuat larutan glukosa dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 dan 200 µg/ml dari larutan stok. Pengukuran absorbansi dari masing-masing larutan glukosa melalui langkah berikut. Sebanyak 1 ml dari masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1,5 ml larutan DNS (*Dinitrosalysilic acid*) (komposisi pada Lampiran 2). Larutan tersebut kemudian dipanaskan selama 5 menit dan ditambahkan dengan 0,5 ml larutan *Na-K-Tartarate* (komposisi pada Lampiran 2)

dan didinginkan. Ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 540 nm. Pembuatan kurva standar glukosa dilakukan dengan membuat kurva linier antara konsentrasi glukosa (sumbu x) dan nilai absorbansi (sumbu y). Adapun perhitungan kurva standar glukosa dapat dilihat pada Lampiran 4.

b. Pola Aktifitas Enzim Selulase Isolat S1

Sebanyak 1,5 ml fermentor di substrat CMC 1% dan substrat ekstrak limbah tambak pada masa inkubasi 0, 6, 12, 18, 24, 48 dan 72 jam diletakkan di ependof. Suspensi kultur disentrifuge dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C hingga diperoleh supernatan dan pellet. Supernatan yang didapatkan merupakan *crude enzyme*. *Crude enzyme* ini di uji aktifitas enzimnya dengan menggunakan metode DNS. Sebanyak 1 ml supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml substrat (CMC 1% atau substrat ekstrak limbah) yang dilarutkan dalam *phosphate buffer* (pH 7,0). Inkubasi pada suhu 50°C selama 10 menit selanjutnya tambahkan 1,5 ml larutan DNS dan dipanaskan selama 5 menit. Suspensi tersebut kemudian ditambahkan 0,5 ml *Na-K-Tartrate* (40%), dinginkan selama 15 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm. Perhitungan nilai aktivitas selulase dapat diketahui dengan mengkonversi nilai absorbansi terhadap kurva standar glukosa.

Satu unit aktivitas enzim adalah banyaknya enzim yang menghasilkan satu μmol glukosa dalam 1 menit. Menurut Marwati (2007), aktifitas enzim dapat diukur dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktifitas Enzim (unit)} = \frac{[\text{glukosa}]}{\text{BM glukosa}} \times \frac{v}{p \times q} \times \text{fp}$$

Keterangan:

v : volume total sampel (ml)

p : jumlah enzim

q : waktu inkubasi (menit)

fp : faktor pengenceran

3.4 Metode Penelitian dan Analisa Data

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Menurut Zulnaldi (2007), metode deskriptif adalah metode yang bermaksud untuk membuat pencandraan mengenai situasi-situasi atau kejadian-kejadian. Metode deskriptif adalah akumulasi data dasar dalam cara deskriptif semata-mata tidak perlu mencari atau menerangkan saling hubungan, membuat ramalan atau mendapatkan makna dan implikasi.

Metode deskriptif yang digunakan disini adalah metode deskriptif studi komparatif. Penyelidikan deskriptif yang berusaha mencari pemecahan melalui analisa tentang perhubungan-perhubungan sebab akibat, yakni yang meneliti faktor-faktor tertentu yang berhubungan dengan situasi atau fenomena yang diselidiki dan membandingkan satu faktor dengan yang lain, adalah penyelidikan yang bersifat komparatif (Surakhmad, 1998).

Analisa data dilakukan secara deskriptif meliputi: pengamatan morfologi koloni, uji biokimia, kurva pertumbuhan dan aktivitas enzim selulase isolat S1.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi, Seleksi dan Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Selulolitik *Indigenous* Mangrove

Bakteri selulolitik *indigenous* mangrove yang didapatkan dari hasil isolasi sebanyak 17 isolat. Karakterisasi morfologi isolat-isolat tersebut dilakukan untuk mengetahui perbedaan koloni baik dari segi bentuk, elevasi, tepi, struktur dalam dan warna koloni. Menurut Sumarsih (2003); Losekann *et al.* (2007); Varnaite *et al.* (2008), bentuk koloni bakteri yang berbeda-beda tersebut merupakan ciri khas bagi suatu spesies tertentu. Karakterisasi morfologi koloni bakteri selulolitik *indigenous* mangrove dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Koloni Isolat-isolat Bakteri Selulolitik *Indigenous* Mangrove

No	Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Koloni				
		Bentuk	Elevasi	Tepi	Struktur Dalam	Warna
1	S1	Circular	Convex	Entire	Filamentous	Light-Yellow
2	S4	Circular	Low Convex	Entire	Coarsely granular	White
3	S5	Circular	Low Convex	Entire	Transparant	Light-Yellow
4	S6	Circular	Convex	Entire	Opaque	White
5	S7	Circular	Low Convex	Entire	Translucent	White
6	S9	Rhizoid	Low Convex	Entire	Coarsely granular	Light-Yellow
7	S10	Rhizoid	Low Convex	Fimbriate	Coarsely granular	White
8	S11	Circular	Low Convex	Entire	Transparant	White
9	S12	Circular	Convex	Entire	Opaque	Light-Yellow
10	S15	Curl	Low Convex	Undulate	Transparant	Light-Yellow
11	S16	Circular	Convex	Undulate	Opaque	White
12	S17	Circular	Low Convex	Entire	Transparant	Red
13	S18	Circular	Low Convex	Entire	Smooth	Orange
14	S19	Myceloid	Convex	Entire	Opaque	White
15	S20	Circular	Convex	Fimbriate	Opaque	White
16	S21	Circular	Low Convex	Undulate	Translucent	Yellow
17	S22	Circular	Convex	Entire	Opaque	Orange

Penggolongan karakterisasi morfologi berdasarkan bentuk, elevasi, tepi, struktur dalam dan warna koloni sangat diperlukan dalam menentukan jenis suatu bakteri. Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat diperoleh nilai persentase jumlah karakteristik morfologi isolat bakteri selulolitik *indigenous* mangrove yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Persentase Jumlah Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Selulolitik *Indigenous* Mangrove

No.	Karakteristik Morfologi Koloni	Persentase (%)
1.	Bentuk	
	♣ Circulair	76,47
	♣ Rhizoid	11,76
	♣ Curled	5,88
	♣ Myceloid	5,88
2.	Elevasi	
	♣ Convex	41,17
	♣ Low Convex	58,88
3.	Tepi	
	♣ Entire	70,58
	♣ Fimbriate	11,76
	♣ Undulate	17,64
4.	Struktur Dalam	
	♣ Filamentous	5,88
	♣ Coarsely Granular	17,64
	♣ Transparant	23,53
	♣ Opaque	35,29
	♣ Translucent	11,76
	♣ Smooth	5,88
5.	Warna	
	♣ Light-Yellow	29,41
	♣ White	47,05
	♣ Red	5,88
	♣ Orange	11,76
	♣ Yellow	5,88

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui persentase tertinggi dari karakteristik morfologi koloni bakteri selulolitik *indigenous* mangrove adalah: bentuk circular (76,47%), elevasi low convex (58,82%), tepi entire (70,58%), struktur dalam opaque (35,29%) dan warna putih (47,05%). Bakteri yang mendominasi kawasan mangrove

adalah bakteri yang mempunyai bentuk circular, elevasi low convex, tepi entire, struktur dalam opaque dan berwarna putih. Akhtar *et al.* (2008) menyatakan bahwa keragaman mikroba sangat dipengaruhi oleh lingkungannya. Hal tersebut dikarenakan kawasan mangrove memiliki diversitas yang tinggi sehingga bakteri yang terdapat di dalamnya juga bermacam-macam. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa 17 isolat bakteri selulolitik mempunyai karakteristik morfologi yang berbeda.

Keberadaan bakteri di kawasan mangrove berperan serta dalam menguraikan luruhan daun-daun mangrove yang pada akhirnya akan dimakan oleh hewan-hewan invertebrata. Hal ini sesuai dengan pernyataan Feliatra (2001), bahwa bakteri berperan sebagai pendegradasi dan pendaur ulang unsur-unsur atau elemen esensial seperti karbon, nitrogen dan fosfor. Oleh karena itu, keberadaan bakteri di kawasan mangrove berperan penting.

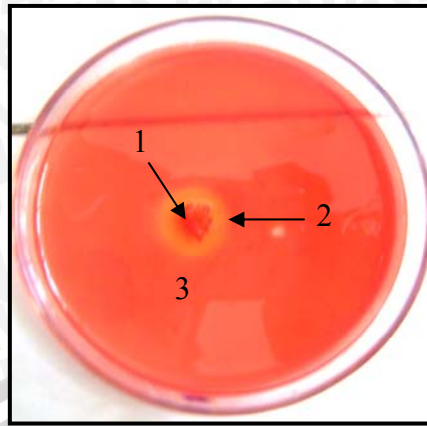
4.2 Seleksi Bakteri Selulolitik

Seleksi bakteri selulolitik dilakukan dengan mengukur indeks zona bening. Terbentuknya zona bening di sekeliling koloni merupakan indikasi terjadinya degradasi *Carboxymethylcellulose* (CMC) oleh isolat bakteri yang mempunyai kemampuan selulolitik (Delalibera *et al.*, 2005). Aktifitas enzim ditunjukkan oleh munculnya zona bening di sekeliling isolat yang diukur sebagai diameter koloni setelah divisualisasi menggunakan larutan kongo red 0,1%. Menurut Serkiz (1998), kongo red memperlihatkan interaksi yang kuat dengan polisakarida yang mengandung ikatan β 1-4 dari unit D-glukopiranososa. Data indeks zona bening isolat-isolat bakteri selulolitik dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Indeks Zona Bening Isolat-isolat Bakteri Selulolitik

No	Kode Isolat	Indeks Zona Bening
1.	S1	5,571
2.	S9	4,265
3.	S19	2,943
4.	S6	2,761
5.	S10	2,235
6.	S7	2,166
7.	S5	1,772
8.	S12	1,736
9.	S20	1,483
10.	S17	1,229
11.	S4	1,172
12.	S11	1,108
13.	S18	1,053
14.	S22	0,974
15.	S15	0,930
16.	S16	0,699
17.	S21	0,49

Pada Tabel 3 indeks zona bening yang didapatkan berkisar antara 0,49-5,541. Isolat yang memiliki indeks zona bening paling besar adalah isolat S1 dengan nilai indeks zona bening sebesar 5,571. Sedangkan isolat yang memiliki indeks zona bening terendah adalah isolat S21 dengan nilai indeks zona bening sebesar 0,49. Isolat S1 diduga mempunyai aktifitas enzim selulase yang lebih tinggi dibanding dengan isolat yang lain. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang dikemukakan oleh Hendricks *et al.* (2005), bahwa isolat yang mempunyai indeks zona bening tertinggi mempunyai aktifitas selulase yang tinggi pula. Gambar zona bening hasil hidrolisis selulosa pada isolat S1 dapat dilihat pada Gambar 4. Isolat ini kemudian akan digunakan untuk pengujian aktifitas dan pola pertumbuhan pada substrat selulosa dan substrat ekstrak limbah.



Gambar 4. Zona Bening Hasil Hidrolisis Selulosa Pada Isolat S1

Keterangan:

1. Isolat S1
2. Zona bening
3. Media zona bening CMC

4.3 Karakteristik Fisiologis dan Biokimia Isolat S1 Bakteri Selulolitik

Karakteristik fisiologis dan biokimia ini dilakukan untuk mendukung identifikasi isolat-isolat. Karakteristik fisiologi bakteri meliputi pewarnaan gram dan pengamatan bentuk sel. Sedangkan uji biokimia yang dilakukan adalah uji *Methyl red* (MR), uji *Voges Proskauer* (VP), uji katalase, uji sitrat simmon, uji motilitas, dan uji endospora.

Uji biokimia dan fisiologi isolat S1 dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Biokimia dan Fisiologi Isolat S1 Bakteri Selulolitik

No	Karakteristik	Hasil Uji	Sumber
1	Pewarnaan Gram	+	Lay (1994)
2	Bentuk Sel	Batang	Sumarsih (2003)
3	Reaksi <i>Methyl red</i>	-	Chakraborty <i>et al.</i> (2004)
4	Reaksi <i>Voges Proskauer</i>	+	(Benson, 2002)
5	Katalase	+	Rismijana <i>et al.</i> (2003)
6	Sitrat Simmon	-	Burrell <i>et al.</i> (2003)
7	Motilitas	+	Highley (1998)
8	Endospora	-	Irianto (2007)

Keterangan:

- (+) = Reaksi Positif
 (-) = Reaksi Negatif

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui hasil pewarnaan gram dari isolat S1 adalah bakteri gram positif berbentuk batang. Pewarnaan gram bertujuan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan jenis bakterinya (gram positif/gram negatif). Menurut Lay (1994); Leatherwood *et al.* (1999); Delalibera *et al.* (2005), Ciri-ciri bakteri gram positif adalah sebagian besar dinding sel bakterinya terdiri dari peptidoglikan dan merupakan bakteri yang berwarna ungu. Hal tersebut disebabkan karena kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Sumarsih (2003) menambahkan bahwa dinding sel bakteri gram positif terdiri 40 lapis rangka dasar murein, meliputi 30-70 % berat kering dinding sel bakteri. Senyawa lain penyusun dinding sel gram positif adalah polisakarida yang terikat secara kovalen dan asam teikoat yang sangat spesifik. Bentuk sel isolat S1 bakteri selulolitik dengan pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Bentuk Sel Isolat S1 Bakteri Selulolitik Dengan Pewarnaan Gram

Uji MR (*Methyl Red*) digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran. Menurut Chakraborty *et al.* (2004), bila indikator *methyl red* (komposisi pada Lampiran 2) ditambahkan pada media biakan dengan pH dibawah 5 maka indikator tersebut menjadi merah. Hal ini menandakan bahwa organisme tersebut adalah *peragi*

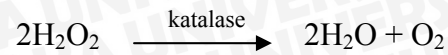
asam campuran (mixed acid fermenter). Akan tetapi, pada Isolat S1 menunjukkan hasil uji negatif pada uji MR. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak menghasilkan enzim *format hidrogenliase* yang memecahkan asam format menjadi CO₂ dan H₂O dalam jumlah sebanding, seperti yang ditunjukkan pada reaksi berikut ini:



Uji *Voges Proskauer (VP)* menunjukkan hasil yang positif, ditunjukkan dengan berubahnya warna kultur menjadi merah muda. Uji VP ini digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang melaksanakan fermentasi *2,3 butanadiol*. Bila bakteri memfermentasikan karbohidrat menjadi *2,3-butanadiol* sebagai produk utama, akan terjadi penumpukan bahan tersebut dalam media pertumbuhan. Penambahan reagen barrit a dan barrit b (komposisi pada Lampiran 2) dapat menentukan adanya *asetoin (asetilmetilkarbinol)* yaitu suatu senyawa pemuka dalam sintesis *2,3-butanadiol*. Pada penambahan KOH, adanya asetoin ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi merah muda. Perubahan warna ini diperjelas dengan penambahan larutan α -naphthol. Perubahan warna biakan lebih jelas pada bagian yang berhubungan dengan udara, karena sebagian *2,3-butanadiol* dioksidasikan kembali menjadi asetoin sehingga memperjelas hasil reaksi (Benson, 2002).

Hasil uji katalase menunjukkan hasil yang positif. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan adanya gelembung udara seperti busa pada sekitar koloni setelah ditetesi H₂O₂ 3% (*hidrogen peroksida*) (komposisi pada Lampiran 2). Hasil uji positif menunjukkan adanya dugaan bakteri memiliki karakter aerob atau anaerob fakultatif. Rismijana *et al.* (2003) menyatakan bahwa kebanyakan bakteri aerob atau anaerob fakultatif yang menggunakan oksigen menghasilkan *hidrogen peroksida* yang sesungguhnya bersifat racun bagi sistem-sistem enzimnya sendiri. Namun mereka dapat tetap hidup dengan

adanya antimetabolit tersebut karena dihasilkannya enzim katalase yang dapat mengubah *hidrogen peroksida* menjadi air dan oksigen.



Matinya bakteri-bakteri anaerobik obligat bila ada oksigen disebabkan karena tidak adanya pembentukan enzim katalase sehingga H_2O_2 meracuni bakteri itu sendiri. Ada tidaknya pembentukan enzim katalase dapat membantu pembedaan kelompok-kelompok bakteri tertentu.

Hasil uji sitrat simmon menunjukkan reaksi negatif, hal ini tersebut ditunjukkan oleh warna medium sitrat simmon yang tetap berwarna hijau dan koloni yang diinokulasikan tidak dapat tumbuh. Hal tersebut dikarenakan isolat tersebut tidak menghasilkan enzim sitrat, yang dapat mengubah warna media menjadi biru. Burrell *et al.* (2003), menjelaskan bahwa medium agar sitrat simmon adalah medium sintetik yang mengandung sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya, sedangkan sebagai sumber nitrogennya digunakan garam amonium dan bukan asam amino. Agar sitrat simmon juga mengandung indikator biru bromtimol yang dapat berubah warna dari hijau menjadi biru bila keadaan menjadi alkalin. Jadi bila organisme dapat tumbuh dengan menggunakan sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya, maka isolat akan terlihat tumbuh pada permukaan agar miring dan terjadi perubahan warna medium menjadi biru.

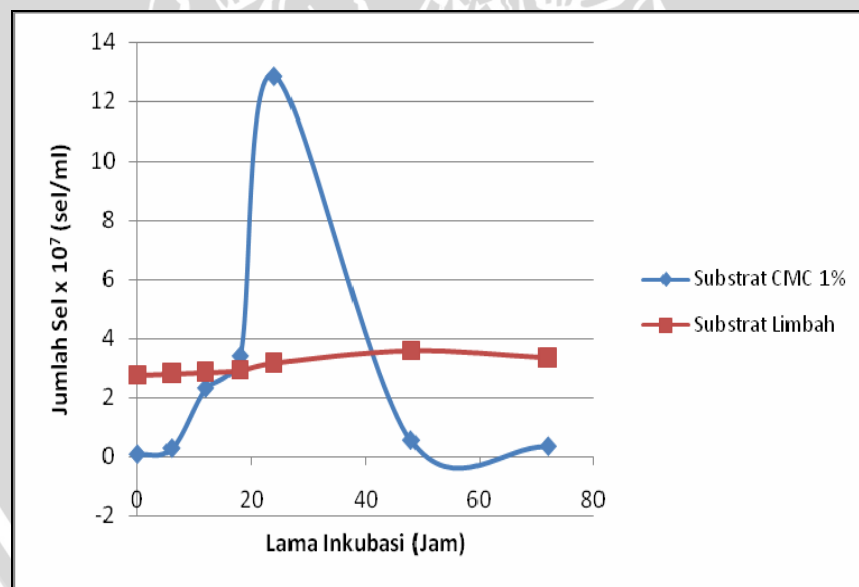
Uji Endospora (komposisi pada Lampiran 2) menunjukkan hasil negatif, hal ini terlihat pada pengamatan mikroskop yang menunjukkan spora yang berwarna merah di sekitar koloni. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat ini hanya mempunyai dinding sel yang tipis sehingga bakteri tersebut tidak tahan terhadap keadaan yang buruk. Menurut Irianto (2007), endospora merupakan suatu struktur di dalam sel yang mempunyai

dinding sangat tebal dan kuat sebagai mekanisme sel untuk melindungi isi sel dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Endospora juga memiliki tingkat metabolisme yang sangat rendah sehingga dapat bertahan hidup sampai bertahun-tahun lamanya tanpa memerlukan sumber makanan dari luar.

Hasil uji motilitas (komposisi pada Lampiran 2) pada isolat S1 menunjukkan hasil yang positif. Hal tersebut terlihat dari adanya pertumbuhan bakteri yang tersebar di sepanjang garis tusukan jarum enten. Menurut Highley (1998), uji motilitas bertujuan untuk mengetahui suatu bakteri memiliki flagella atau tidak.

4.4 Kurva Pertumbuhan Isolat S1 Bakteri Selulolitik

Kurva Pertumbuhan menyatakan pertambahan jumlah sel atau biomassa. Kurva pertumbuhan isolat S1 bakteri selulolitik disajikan pada Gambar 6 berikut.



Gambar 6. Kurva Pertumbuhan Isolat S1

Berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri pada substrat CMC 1% (Gambar 6) dapat diketahui bahwa pada masa inkubasi ke-6 jam isolat S1 berada pada fase lag dengan jumlah sel sebesar $0,068 \times 10^7$ sel/ml. Fase ini merupakan masa penyesuaian diri bagi

mikroba terhadap media biakan. Menurut Brooks *et al.* (2005), fase lag disebut juga dengan fase adaptasi. Pada saat fase ini berlangsung, tidak terdapat pertumbuhan populasi akan tetapi sel tersebut siap untuk membelah diri. Hal ini disebabkan karena sel mengalami perubahan komposisi kimiawi serta penambahan substansi intraseluler.

Setelah fase lag berakhir akan dimulai proses reproduksi sel yang ditandai dengan peningkatan jumlah biomassa, yang secara perlahan semakin meningkat. Fase ini disebut fase logaritma atau fase eksponensial. Fase ini berada pada masa inkubasi ke-6 jam dengan jumlah sel sebesar $0,272 \times 10^7$ sel/ml hingga mencapai puncaknya pada masa inkubasi ke-24 jam dengan jumlah sel $12,857 \times 10^7$ sel/ml. Pada fase ini, isolat S1 telah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan (substrat) sehingga jumlah sel dalam media akan semakin bertambah. Sumarsih (2003), menyatakan bahwa pada fase logaritma kecepatan pertumbuhan sel sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya bakteri seperti: pH, kandungan nutrient, kondisi lingkungan, suhu dan kelembapan udara.

Setelah melalui fase logaritma, pertumbuhan isolat S1 mulai memasuki fase kematian. Fase ini ditunjukkan dengan semakin menurunnya jumlah sel setelah masa inkubasi ke-48 sebesar $0,544 \times 10^7$ sel/ml hingga masa inkubasi ke-72 jam dengan jumlah sel sebesar $0,340 \times 10^7$ sel/ml. Menurut Warringer *et al.* (2008), fase kematian ditandai dengan laju kematian yang mengalami percepatan daripada terbentuknya sel-sel yang baru. Hal ini disebabkan semakin bertumpuknya racun dalam substrat dan jumlah nutrient dalam media yang sangat sedikit sehingga banyak sel yang mati karena kekurangan nutrisi.

Pertumbuhan bakteri pada substrat ekstrak limbah (Gambar 6) dapat diketahui bahwa pada isolat S1 mengalami fase lag pada masa inkubasi ke-6 jam dengan jumlah sel sebesar $2,815 \times 10^7$ sel/ml. Menurut Pelczar (1998), pada fase lag bakteri mulai

menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru, sehingga sel belum membelah diri. Fase ini merupakan masa penyesuaian diri mikroba terhadap media biakan akan tetapi pada fase ini terjadi sintesis enzim oleh sel yang diperlukan untuk proses metabolisme.

Setelah fase lag berakhir, akan dimulai fase selanjutnya yaitu fase logarima. Hal ini ditandai dengan pertambahan jumlah sel yang relatif konstan pada masa inkubasi ke-12 jam hingga mencapai puncaknya pada masa inkubasi ke-48 jam. Jumlah sel pada masa inkubasi ke-12 jam adalah $2,860 \times 10^7$ sel/ml sedangkan pada masa inkubasi ke-48 jam sebesar $3,581 \times 10^7$ sel/ml. Menurut Brooks (2005), ciri-ciri fase logaritma adalah kecepatan membelah diri paling cepat dengan waktu generasi yang pendek dan konstan, metabolisme sel paling aktif, sintesis bahan sel sangat cepat dengan jumlah konstan sampai jumlah nutrien habis.

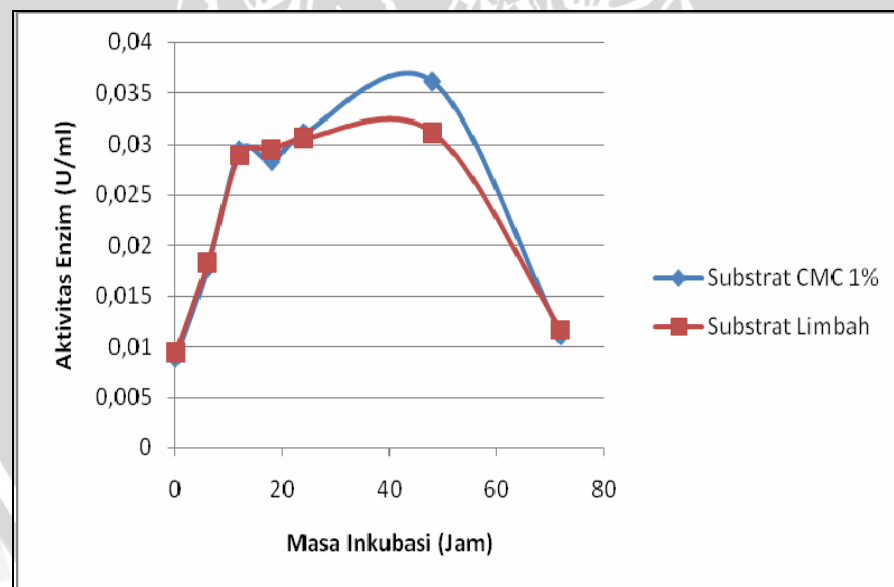
Fase kematian terjadi pada masa inkubasi ke-72 jam dengan jumlah sel sebesar $3,355 \times 10^7$ sel/ml. Fase kematian sel terus meningkat sedangkan kecepatan pembelahan sel mengalami penurunan sehingga jumlah sel hidup menurun. Menurut Stokes (2007), walaupun fase kematian sel sedang berlangsung penurunan jumlah sel tidak mencapai nol karena dalam jumlah minimum tertentu sel mikrobial akan tetap bertahan sangat lama dalam media tersebut.

Kurva pertumbuhan isolat S1 pada substrat CMC 1% dengan substrat ekstrak limbah berbeda sangat nyata. Hal ini dapat ditunjukkan dari grafik pertumbuhan pada substrat CMC 1% dan substrat ekstrak limbah. Jumlah sel tertinggi pada substrat CMC 1% didapatkan pada masa inkubasi ke-24 jam dengan jumlah sel sebesar $12,857 \times 10^7$ sel/ml sedangkan pada substrat ekstrak limbah jumlah sel tertinggi didapat pada masa inkubasi ke-48 jam dengan jumlah sel sebesar $3,581 \times 10^7$ sel/ml. Perbedaan tersebut mungkin disebabkan karena pada substrat CMC 1% lebih spesifik sehingga dapat

dimanfaatkan oleh bakteri selulolitik daripada substrat ekstrak limbah. Akibatnya jumlah sel pada substrat CMC 1% lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel pada substrat ekstrak limbah. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Abrusci *et al.* (2005), bahwa kecepatan pertumbuhan sel sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya bakteri seperti: pH, kandungan nutrient, kondisi lingkungan, suhu dan kelembapan udara.

4.5 Aktivitas Enzim Selulase Isolat S1 Bakteri Selulolitik

Aktivitas enzim selulase isolat S1 diukur menggunakan metode DNS (*Dinitrosalisyllic acid*) (komposisi media pada Lampiran 2). Tujuan pengukuran menggunakan metode ini adalah untuk mereduksi gula reduksi pada suasana alkali sehingga dapat diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer. Kurva aktivitas enzim isolat S1 bakteri selulolitik dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva Aktivitas Enzim Selulase Isolat S1

Aktivitas enzim selulase isolat S1 pada substrat CMC 1% mengalami peningkatan sebesar 0,029 U/ml dari awal inkubasi sampai pada masa inkubasi ke-12 jam. Akan tetapi, pada masa inkubasi ke-18 jam aktifitas selulase mengalami penurunan sebesar

0,028 U/ml. Hal ini mungkin disebabkan karena bakteri kurang beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang sesuai. Setelah kondisi lingkungan sesuai untuk pertumbuhan sel, terjadi peningkatan aktifitas enzim kembali pada masa inkubasi ke-24 jam dan terus mengalami peningkatan hingga mencapai puncaknya pada masa inkubasi ke-48 jam sebesar 0,036 U/ml. Selanjutnya aktifitas enzim mengalami penurunan sebesar 0,011 U/ml hingga akhir masa inkubasi ke-72 jam. Menurut Louime *et al.* (2006), aktifitas enzim selulase juga bisa terhambat karena mulai habisnya selulosa dan glukosa yang dihasilkan selama proses hidrolisis. Hal tersebut mengakibatkan jumlah glukosa dan selulosa yang terkandung di media akan mengalami penurunan.

Aktifitas enzim isolat S1 pada substrat ekstrak limbah terus mengalami peningkatan dari awal inkubasi hingga mencapai masa inkubasi ke-24 jam sebesar 0,030 U/ml. Aktifitas enzim selulase terus mengalami kenaikan hingga mencapai puncaknya pada masa inkubasi ke-48 jam sebesar 0,031 U/ml. Kemudian aktifitas enzim selulase mulai mengalami penurunan aktifitas sebesar 0,011 U/ml sampai dengan masa inkubasi ke-72 jam. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Apun *et al.* (2000), yang menyatakan bahwa aktifitas enzim tertinggi bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* dicapai pada masa inkubasi ke-48 jam dan memasuki aktifitas paling kecil pada masa inkubasi ke-72 jam.

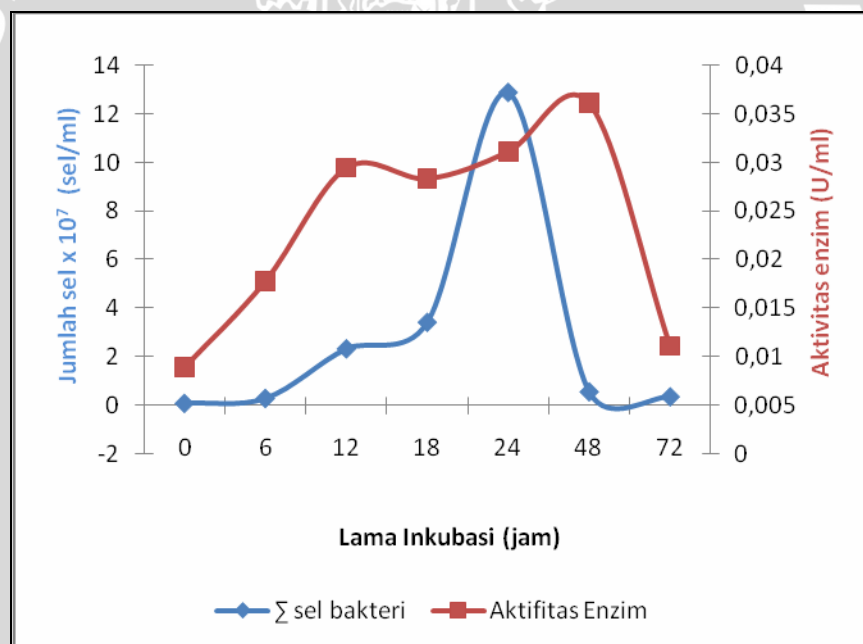
Aktifitas enzim isolat S1 pada substrat CMC 1% dengan substrat ekstrak limbah dapat dikatakan mempunyai kemiripan. Hal ini dapat ditunjukkan dari bentuk kurva aktifitas enzim pada substrat CMC 1% dan substrat ekstrak limbah yang sama. Jumlah sel tertinggi pada substrat CMC 1% didapatkan pada masa inkubasi ke-48 jam dengan aktifitas sebesar 0,036 U/ml sedangkan pada substrat ekstrak limbah aktifitas enzim tertinggi juga terjadi pada masa inkubasi ke-48 jam dengan aktifitas enzim sebesar 0,031

U/ml. Penurunan aktifitas enzim pada substrat CMC 1% didapatkan pada masa inkubasi ke-72 jam dengan aktifitas enzim sebesar 0,011 U/ml. Pada substrat ekstrak limbah penurunan aktifitas enzim didapatkan pada masa inkubasi ke-72 jam sebesar 0,011 U/ml. Penurunan aktifitas enzim tersebut disebabkan karena substrat yang akan dihidrolisis telah habis sehingga bakteri tidak melakukan aktifitas untuk menghidrolisis selulosa.

4.6 Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Selulase Isolat S1 Bakteri Selulolitik

4.6.1 Selulosa

Kurva pertumbuhan dan aktivitas enzim selulase isolat S1 pada substrat CMC 1% dapat dilihat pada Gambar 8 sebagai berikut.

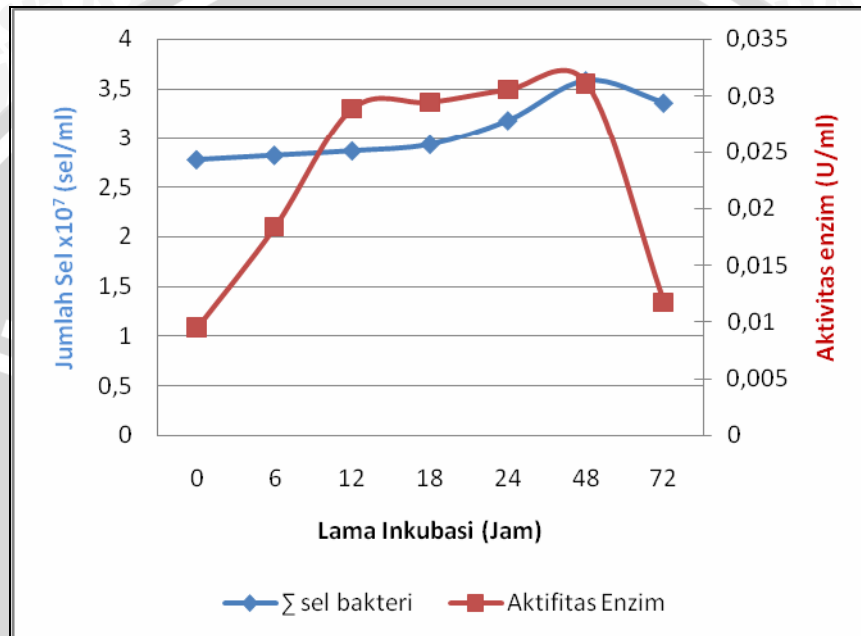


Gambar 8. Kurva Pertumbuhan dan Aktifitas Enzim Selulase Isolat S1 Pada Substrat Selulosa

Dari jumlah sel dan aktivitas enzim pada substrat selulosa (CMC 1%) ini dapat diketahui aktivitas terbaiknya dari semua masa inkubasi pada setiap selnya. Aktivitas enzim terbaik didapatkan pada masa inkubasi ke-0 jam sebesar 0,131 U/sel. Aktifitas enzim tersebut merupakan aktifitas enzim terbesar dikarenakan dengan jumlah sel

sebesar $0,272 \times 10^7$ sel/ml dapat dihasilkan enzim selulase sebesar 0,017 U/ml dibandingkan dengan masa inkubasi yang lain. Berdasarkan grafik tersebut diatas, dapat disimpulkan bahwa aktifitas enzim selulase terus mengalami peningkatan walaupun jumlah bakteri pada media selulosa menurun.

4.6.2 Limbah



Gambar 9. Kurva Pertumbuhan dan Aktifitas Enzim Selulase Isolat S1 Pada Substrat Limbah

Dari jumlah sel dan aktifitas enzim pada substrat limbah ini dapat diketahui aktifitas terbaiknya dari semua masa inkubasi pada setiap selnya. Aktifitas enzim terbaik didapatkan pada masa inkubasi ke-12 jam sebesar 0,010 U/sel. Aktifitas enzim tersebut merupakan aktifitas enzim terbesar dikarenakan dengan jumlah sel sebesar $2,860 \times 10^7$ sel/ml dapat dihasilkan enzim selulase tertinggi sebesar 0,028 U/ml dibandingkan dengan masa inkubasi yang lain. Berdasarkan grafik tersebut diatas, dapat disimpulkan bahwa aktifitas enzim selulase mengikuti jumlah bakteri pada substrat limbah.

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- ✓ Hasil isolasi bakteri selulolitik indigenous mangrove didapatkan sebanyak 17 isolat.
- ✓ Sebagian besar isolat memiliki karakter morfologi antara lain: bentuk circular, elevasi low convex, tepi entire, struktur dalam opaque dan berwarna putih.
- ✓ Isolat S1 merupakan isolat yang mempunyai kemampuan selulolitik tertinggi dengan nilai indeks zona bening sebesar 5,541.
- ✓ Isolat S1 termasuk bakteri gram positif yang berbentuk batang, *Methyl Red* (MR) negatif, *Voges Proskauer* (VP) positif, katalase positif, motilitas positif, endospora negatif dan sitrat simmon negatif.
- ✓ Isolat ini mempunyai fase logaritmik tertinggi pada substrat CMC 1% masa inkubasi ke-24 jam dengan jumlah sel $12,857 \times 10^7$ sel/ml sedangkan pada substrat ekstrak limbah fase tertinggi pada masa inkubasi ke-48 jam dengan jumlah sel $3,581 \times 10^7$ sel/ml.
- ✓ Aktifitas enzim selulase tertinggi isolat S1 pada substrat CMC 1% sebesar 0,035 U/ml masa inkubasi ke-48 jam sedangkan pada substrat ekstrak limbah aktifitas tertinggi didapatkan pada masa inkubasi ke-48 jam sebesar 0,031 U/ml.

5.2 Saran

Isolat S1 perlu dilakukan pengidentifikasian isolat S1 dan perlu untuk dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaplikasian isolat S1 pada skala lapang sehingga dapat diketahui pemberian optimal isolat dalam mendekomposisi substrat limbah tambak udang.

Lampiran 1. Uji Komposisi Limbah Tambak



LABORATORIUM PENGUJIAN MUTU DAN KEAMANAN PANGAN
(TESTING LABORATORY OF FOOD QUALITY AND FOOD SAFETY)
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN - UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 Jl. Veteran, Malang 65145, Telp./Fax. (0341) 569214
 E-mail : lpmkp-thpbrawijaya@yahoo.com

KEPADA : Devy Dhina
TO FPi - UB
Malang

LAPORAN HASIL UJI
REPORT OF ANALYSIS

Nomor / Number : 1662/THP/LAB/2008
 Nomor Analisis / Analysis Number : 1662
 Tanggal penerbitan / Date of issue : 08 September 2008


Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
The undersigned ratifies that examination

Dari contoh / of the sample (s) of : Limbah Tambak
 Untuk analisis / For analysis : Kimia
 Keterangan contoh / Description of sample :
 Diambil dari / Taken from : -
 Oleh / By : -
 Tanggal penerimaan contoh / Received : 22 Agustus 2008
 Tanggal pelaksanaan analisis / Date of analysis : 25 Agustus 2008

Hasil adalah sebagai berikut / Resulted as follows :

Parameter	Hasil
Serat kasar (%)	5,49
Pati (%)	0,30
Protein (%)	0,52

HASIL PENGUJIAN INI HANYA BERLAKU UNTUK
 CONTOH-CONTOH TERSEBUT DI ATAS. PENGAMBIL
 CONTOH BERTANGGUNG JAWAB ATAS KEBENARAN
 TANDING BARANG

Kewa

 Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.Sc.
 NIP. 131 794 244

Lampiran 2. Komposisi Media

A. Media Selektif Selulosa (Isolasi) (Tiap 1 Liter)

1. Cellulose, powered (CMC) : 1gram
2. K_2HPO_4 : 1 gram
3. $(NH_4)_2.SO_4$: 1 gram
4. $MgSO_4.7H_2O$: 0,2 gram
5. $CaCl_2.2H_2O$: 0,1 gram
6. $FeCl_3$: 0,02 gram
7. Yeast Extract : 0,1 gram
8. Bacto Agar : 1,5 gram

B. Media Selulosa (Zona Bening) (Tiap 1 Liter)

1. Yeast Extract : 0,2 gram
2. KH_2PO_4 : 0,1 gram
3. $MgSO_4.7H_2O$: 0,5 gram
4. Cellulose, powered (CMC) : 0,5 gram
5. Bacto Agar : 1,5 gram

C. Media Produksi Selulosa (Cellulose Broth) (Tiap 1 Liter)

1. Cellulose, powered (CMC) : 10 gram
2. KH_2PO_4 : 1 gram
3. $(NH_4)_2.SO_4$: 1 gram
4. $MgSO_4.7H_2O$: 0,2 gram
5. $CaCl_2.2H_2O$: 0,1 gram
6. $FeCl_3$: 0,02 gram
7. Yeast Extract : 0,1 gram

Lampiran 2. (Lanjutan).**D. Stok Kongo Red 1%**

1. Kongo Red : 0,05 gram
2. Alkohol 96% : 50 ml

E. Larutan NaCl 1 M

(BM=58,44)

$$1 \text{ M} = \frac{\text{Gram}}{58,44} \times \frac{1000}{50}$$

$$20 \text{ Gram} = 58,44$$

$$\text{Gram} = 2,922 \text{ dalam } 50 \text{ ml akuades}$$

F. Media LA (Luria Bertani Agar)

1. NaCl : 10 gram/liter
2. Yeast extract : 3 gram/liter
3. Tryptone : 10 gram/liter
4. Bacto Agar : 15 gram/liter

G. Larutan DNS 1% (per 1 liter)

1. DNS acid : 10 gram
2. Phenol : 2 gram
3. Na₂SO₃ : 0,5 gram
4. NaOH : 10 gram

H. Larutan Na-K-Tartarate 40%

1. Na-K-Tartarate : 40 gram
2. Akuades : 100 ml

Lampiran 2. (Lanjutan).**I. Media MR/VP per 1 liter**

1. Glukosa : 5 gram
 2. Pepton : 5 gram
 3. Phosphate buffer : 5 gram
- pH $7,5 \pm 0,2$

J. Reagen Uji MR

1. Methyl Red : 0,2 gram
2. Akuades : 500 ml

K. Reagen Barrit A

1. α - naphthol : 6 gram
2. Etanol 95% : 100 ml

L. Reagen Barrit B

1. KOH : 16 gram
2. Akuades : 100 ml

M. Cat Gram A

1. Kristal violet : 2 gram
2. Etil alkohol 95% : 20 ml
3. Ammonium oksalat : 0,8 gram
4. Akuades : 80 ml

N. Cat Gram B

1. Yodium : 1 gram
2. Kalium yodida : 2 gram
3. Akuades : 300 ml

Lampiran 2. (Lanjutan).**O. Cat Gram C**

1. Aseton : 50 ml
2. Etil alkohol 95% : 50 ml

P. Cat Gram D

1. Safranin : 0,25 gram
2. Etil alkohol : 10 ml
3. Akuades : 90 ml

Q. Pewarna Malakit Hijau 5%

1. Malakit Hijau : 5 gram
2. Akuades : 100 ml

R. Pewarna Safranin

1. Safranin : 0,25 gram
2. Etil Alkohol : 10 ml
3. Akuades : 90 ml

S. Larutan Formalin 4%

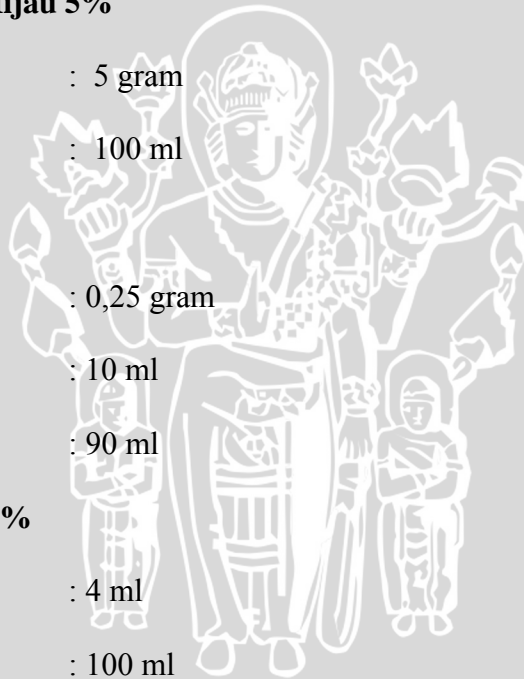
1. Formalin : 4 ml
2. Akuades : 100 ml

T. Larutan H₂O₂ 3%

1. H₂O₂ : 3 gram
2. Akuades : 100 ml

U. Ekstrak Limbah

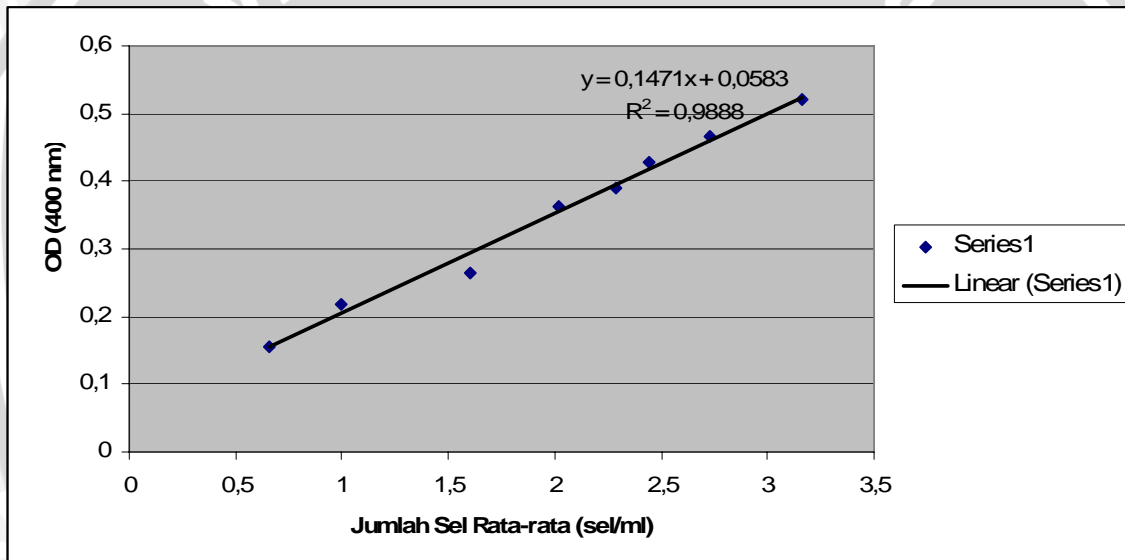
1. Limbah : 100 gram
2. Aquades : 200 ml



Lampiran 3. Kurva Standar Bakteri Selulolitik Pada Substrat CMC 1% dan Limbah

• Pada Substrat CMC 1%

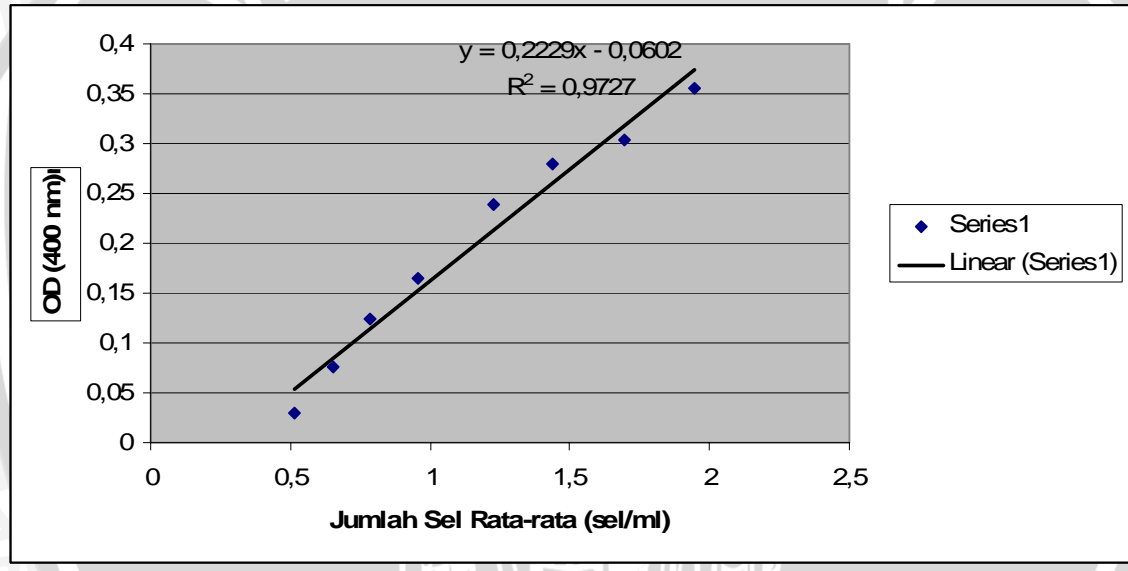
Perbandingan	∑ sel Rata-rata (x)	OD Rata-rata (y)
1:7	0,655	0,156
2:6	0,995	0,218
3:5	1,6	0,264
4:4	2,022	0,363
5:3	2,285	0,391
6:2	2,442	0,427
7:1	2,727	0,465
8:0	3,162	0,52



Lampiran 3. (Lanjutan).

• Pada Substrat Limbah

Perbandingan	\sum sel Rata-rata (x)	OD Rata-rata (y)
1:7	0,515	0,029
2:6	0,652	0,076
3:5	0,785	0,125
4:4	0,957	0,165
5:3	1,225	0,239
6:2	1,437	0,279
7:1	1,692	0,303
8:0	1,945	0,355



Lampiran 4. Kurva Standar Glukosa

x (Konsentrasi Glukosa (ug/ml))	y (OD (540 nm))
0	0
80	0.221
100	0.25
140	0.345
160	0.429
180	0.506
200	0.573

