

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Penapisan Bakteri Symbion Akar Mangrove *Avicennia marina* asal Desa Panipahan Sebagai Agen Biodegradasi *Rhodamine B*

#### 4.1.1. Pengukuran Parameter Lingkungan

Pengambilan sampel akar mangrove *Avicennia marina* dilakukan di kawasan mangrove Desa Panipahan. Sampel akar mangrove *Avicennia marina* diperoleh dari 2 titik dan memiliki interval jarak 500 meter. Sampel diambil pada sore hari saat air laut surut. *Titik sampling* dapat dilihat pada gambar 4.1 dengan titik koordinat yang disajikan pada tabel 4.1. Pengukuran setiap parameter dilakukan pada masing-masing titik *sampling*. Hasil pengukuran parameter lingkungan dapat dilihat pada tabel 4.2.



**Gambar 4. 1.** *Titik sampling* Akar Mangrove *A.marina*  
(Sumber : Google Maps, 2022)

**Tabel 4.1.** *Titik sampling* Akar Mangrove *A.marina*

<b>Titik <i>Sampling</i></b>	<b>Koordinat</b>	<b>Keterangan</b>
1	2°27'55.8"N100°20'18.4"E	Dekat dengan bibir pantai
2	2°27'16.8"N100°20'26.7"E	Dekat dengan muara sungai

**Tabel 4.2. Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel**

Parameter	Titik 1	Titik 2	Referensi
Suhu	29,8°C	30,1°C	27-31°C (Hadiputra & Damayanti, 2013)
pH	6,8	7	6,8-8 (Sari <i>et al.</i> , 2017)
Salinitas	28 %	30 %	23-38% (Ulqodry <i>et al.</i> , 2010)

Hasil pengukuran parameter lingkungan pada Titik 1 dan Titik 2 memiliki kondisi suhu berkisar 29,8°C sampai dengan 30,1°C. Kondisi suhu tersebut merupakan suhu optimal yang memungkinkan berbagai makhluk di kawasan mangrove untuk bertahan hidup (Afriyani *et al.*, 2017) dan masih dalam batasan toleransi kehidupan mangrove yaitu tidak kurang dari 20°C (Ulqodry *et al.*, 2010). Bakteri yang hidup pada kawasan mangrove umumnya hidup pada kisaran suhu 27-31°C dan tergolong ke dalam bakteri mesofil. Remijawa *et al.*, (2020), mengklaim bahwa bakteri mesofil merupakan bakteri yang hidup dikisaran suhu 20°C-45°C. Sehingga disimpulkan, suhu sangat mempengaruhi kelimpahan bakteri di kawasan mangrove (Sa'adah & Novitasari, 2022).

Derajat keasaman (pH) diukur di sekitar perakaran mangrove, hasilnya yaitu sebesar 6,8-7. Kondisi pH ini tergolong ke kondisi ideal untuk bakteri. Hal tersebut sejalan dengan pendapat Sa'adah dan Novitasari (2022) bahwa pH mempengaruhi kelimpahan bakteri. Aktivitas mikroba rhizosfer akan menurun apabila pH di sekitar perakaran mangrove di bawah pH 6. Pada kedua *titik sampling* didapati nilai pH yang tidak jauh berbeda.

Salinitas air diperoleh berkisar antara 28% hingga 30% dan digolongkan sebagai air asin dan merupakan kondisi yang sesuai dengan kebutuhan bakteri untuk berkembang. Salinitas berkaitan dengan tekanan osmotik yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, karena dapat mempengaruhi kadar air dalam tubuh bakteri itu sendiri. Menurut penelitian Yulma *et al.*, (2017), peningkatan salinitas akan berdampak negatif terhadap keragaman dan kuantitas populasi bakteri di kawasan mangrove. Sehingga dapat dikatakan bahwa lingkungan mangrove tersebut mendukung kehidupan berbagai mikroorganisme.

#### 4.1.2. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Simbion Akar Mangrove *A marina*

Isolasi bakteri menggunakan tektik pengenceran bertingkat dengan 3× pengulangan, dan metode *spread plate* (Sa'adah & Novitasari, 2022). Hasil isolasi diperoleh 18 isolat bakteri simbion akar mangrove *Avicennia marina* (lampiran 9). Kemudian dari 18 isolat dikarakterisasi berdasarkan bentuk, tepian, elevasi, ukuran, dan warna untuk dimurnikan menjadi koloni-koloni tunggal dengan metode kuadran *streak plate* (Suryani & A'yun, 2022). Pemurnian bakteri merupakan proses yang bertujuan memperoleh biakan murni yang telah terpisah-pisah tanpa adanya kontaminasi dari mikroba lain (Ed-Har *et al.*, 2017).

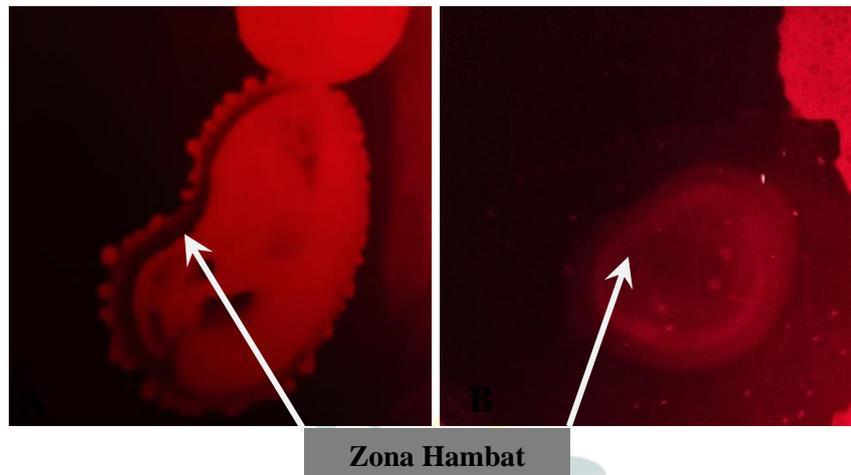
**Tabel 4.3.** Karakterisasi Makroskopis Bakteri Simbion Akar Mangrove *A. marina*

		<b>Morfologi Koloni</b>				
<b>TitikSampling</b>	<b>Kode</b>	<b>Bentuk</b>	<b>Tepian</b>	<b>Elevasi</b>	<b>Ukuran</b>	<b>Warna</b>
	<b>Isolat</b>					
<b>1</b>	RA1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Small</i>	<i>Cream</i>
	RA2	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Small</i>	<i>Cream</i>
	RA3	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Small</i>	<i>Cream</i>
	RA4	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Punctiform</i>	<i>Cream</i>
	RA5	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Punctiform</i>	<i>Cream</i>
	RA6	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Small</i>	<i>Cream</i>
	RA7	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>	<i>Large</i>	<i>Cream</i>
	RA8	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Small</i>	<i>Yellow</i>
	RA9	<i>Spindle</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>
	RA10	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Large</i>	<i>White</i>
<b>2</b>	RA11	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	<i>Punctiform</i>	<i>Cream</i>
	RA12	<i>Circular</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Flat</i>	<i>Large</i>	<i>Cream</i>
	RA13	<i>Irregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Moderate</i>	<i>Cream</i>
	RA14	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Flat</i>	<i>Large</i>	<i>Cream</i>
	RA15	<i>Irregular</i>	<i>Curled</i>	<i>Flat</i>	<i>Large</i>	<i>Cream</i>
	RA16	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	<i>Small</i>	<i>Cream</i>

Menurut Capucinno dan Sherman (1992) dalam Jumardin *et al.*, (2018) menyebutkan bahwa karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri. Berdasarkan tabel 4.3. diketahui bahwa bentuk koloni dari semua isolat didominasi oleh bentuk *circular* dan *irrelguler*, hanya 1 isolat yang memiliki bentuk *spindle* yaitu isolat RA9. Sebagian besar isolat memiliki bentuk *entire*, dan sebagian lainnya memiliki bentuk tepian *curled*, *undulate*, dan *filamentous*. Tipe elevasi yang dimiliki oleh kebanyakan isolat yaitu *flat*, sedangkan yang lainnya memiliki tipe *raised* dan *convex*. Terdapat berbagai ukuran pada isolat-isolat bakteri yang ditemukan, diantaranya 6 isolat bakteri yang berukuran *small*, 5 isolat bakteri yang berukuran *large*, 3 isolat bakteri yang berukuran *punctiform*, dan hanya 2 isolat yang berukuran *moderate*. Warna isolat bakteri didominasi oleh warna putih kekuningan, dan hanya terdapat 2 isolat warna kuning yaitu isolat RA5 dan RA8 serta hanya 1 isolat yang berwarna putih susu yaitu isolat RA10. Pada setiap isolat memiliki keberagaman yang berbeda, hal itu disebabkan adanya perbedaan habitat pada setiap sumber sampel (Jumardin *et al.*, 2018). Variasi ini dikenal sebagai karakteristik kultur, dan menjadi dasar untuk mengklasifikasikan mikroorganisme (Aninditia Sabdaningsih *et al.*, 2013). Pada penelitian ini, hasil purifikasi diperoleh 16 isolat bakteri simbion dengan morfologi berbeda (lampiran 10). Semuanya adalah isolat murni berupa koloni-koloni tunggal yang dapat diidentifikasi selanjutnya berupa karakterisasi morfologi, pewarnaan gram, uji biokimia dan uji ketahanan fisik, seperti yang ditunjukkan pada lampiran 7.

#### **4.1.3. Uji Biodegradasi Rhodamine B oleh Bakteri Simbion Akar Mangrove *Avicennia marina***

Hasil uji potensi biodegradasi bakteri simbion akar mangrove *Avicennia marina* terhadap *Rhodamine B* ialah terdapat 2 isolat bakteri yang terdapat zona bening yang artinya isolat bakteri tersebut dapat mendegradasi *Rhodamine B*, yaitu RA5 dan RA16 (gambar 4.2).



**Gambar 4.2.** Hasil Zona bening ; (A) RA5 menunjukkan terbentuknya zona beningan dan (B) RA16 menunjukkan adanya proses degradasi zat warna.

Terbentuknya zona bening pada uji biodegradasi *Rhodamine B* (gambar 4.2) menunjukkan bahwa bakteri simbiosis RA5 dan RA16 mampu mendegradasi *Rhodamine B* seperti yang dilaporkan oleh Agil & Sutariningsih (2016) bahwa semakin besar zona bening yang terbentuk pada isolat bakteri di media selektif yang diberi zat warna tekstil maka semakin besar potensi degradasinya. Uji Biodegradasi *Rhodamine B* oleh Isolat bakteri simbiosis akar mangrove *Avicennia marina* (lampiran 12) dilakukan dengan metode *overlay* yang bertujuan untuk melihat kemampuan bakteri simbiosis dalam mendegradasi *Rhodamine B* pada keadaan telah hidup dan membentuk koloni pada *layer* pertama lalu ditimpa dengan *layer* kedua yang telah dicampurkan *Rhodamine B* konsentrasi 5 ppm sehingga muncul reaksi untuk bertahan hidup dengan mendegradasi senyawa organik yang terkandung dalam *Rhodamine B* menjadi sumber nutrisi bagi bakteri simbiosis itu sendiri (lampiran 14). Aktivitas bakteri pendegradasi zat warna menyebabkan penurunan kadar *Rhodamine B* melalui proses biodegradasi.

Diketahui bahwa bakteri yang mampu mendegradasi dan mendekolorisasi pewarna tekstil memiliki matriks ekstraseluler (Ahmad *et al.*, 2021) dan memproduksi enzim yang bisa mengubah struktur kimia polutan tercemar pewarna sintetis menjadi tidak kompleks sehingga tingkat toksisitasnya berkurang dan menjadi metabolit yang tidak berbahaya (Purnamawati *et al.*, 2015). Enzim yang biasa diproduksi oleh bakteri pendegradasi pewarna sintetis diantaranya

adalah *azoreductase*, *laccase*, dan *peroxidase*. Enzim-enzim tersebut mampu merombak struktur kimia pewarna tekstil melalui mekanisme tertentu sehingga menghasilkan molekul-molekul yang lebih sederhana dan tidak berwarna (Januariawan *et al.*, 2019). Menurut Isari *et al.*, (2018) mekanisme biodegradasi *Rhodamine B* terdiri dari atas beberapa tahapan, yaitu destilasi, pemutusan struktur kromofor, pembukaan struktur cincin dan mineralisasi. Hal ini sejalan dengan opini Xiao *et al.*, (2019), yang menyatakan bahwa bakteri akan mendegradasi *Rhodamine B* melalui 2 cara yaitu destilasi dan pemutusan struktur kromofor. Gugus etil *Rhodamine B N-diethyl-N'-ethylrhodamine*. Senyawa intermediet yang dihasilkan selanjutnya akan terdegradasi secara berurutan melalui pemutusan berbagai ikatan dan akhirnya mengarah pada pembentukan produk akhir. Serangkaian proses tersebut terjadi secara berurutan dan menyebabkan molekul *Rhodamine B* menjadi senyawa tidak berwarna dan akhirnya menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O. Sehingga, mekanisme biodegradasi *Rhodamine B* yang disebabkan oleh bakteri adalah asimilasi senyawa pewarna itu sendiri menjadi sumber karbon dan energi bagi pertumbuhan bakteri. Rangkaian mekanisme biodegradasi mempunyai kelebihan daripada degradasi alami, dimana terjadi penguraian senyawa kompleks pewarna lebih cepat dengan produk akhir yang tidak toksik terhadap lingkungan (Mamulak, 2018).

Data yang disajikan pada diagram menunjukkan bahwa hanya 2 isolat bakteri saja yang mampu mendegradasi *Rhodamine B*, sedangkan sisanya tidak menunjukkan adanya aktivitas dekolorisasi zat warna *Rhodamine B*. Menurut Pearce *et al.*,(2003) hal ini berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mempertahankan diri dengan mengolah senyawa pada pewarna sintesis menjadi sumber karbon dan nutrisi melalui perubahan struktur kimia zat warna.



**Gambar 4.3.** Diagram Potensi Bakteri Simbion Mendegradasi *Rhodamine B*

Pada penelitian ini, dilakukan perbandingan jangka waktu inkubasi selama 10 hari untuk melihat adanya perkembangan potensi bakteri dalam mendegradasi *Rhodamine B* apabila dilakukan penambahan masa inkubasi. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong setiap dua hari sekali untuk melihat perbandingan zona bening yang dihasilkan pada setiap masa inkubasi, seperti terlihat pada Gambar 4.3, dimana terjadi peningkatan zona bening yang terbentuk selama masa inkubasi 10x24 jam pada suhu 37° C dengan 4 ulangan. Hasil yang diperoleh mengindikasikan bahwa bakteri simbion akar mangrove *Avicennia marina* yang berpotensi mendegradasi *Rhodamine B* memiliki kemampuan yang berbeda dalam proses biodegradasinya (lampiran 14).

Perbedaan kemampuan mendegradasi zat warna tersebut dipengaruhi oleh kemampuan bakteri untuk melakukan respons metabolik yang sesuai untuk mendegradasi kontaminan dalam konsentrasi zat warna yang telah ditentukan. Efisiensi biodegradasi oleh bakteri juga bergantung pada perbandingan antara koloni bakteri dan konsentrasi zat warna yang terlarut pada media pertumbuhan bakteri (Pinheiro *et al.*, 2022). Pada penelitian ini diperoleh 2 isolat bakteri simbion akar mangrove *Avicennia marina* yang menunjukkan adanya potensi

biodegradasi pada *Rhodamine B* (lampiran 15). Kedua isolat bakteri simbion tersebut diduga kuat merupakan bakteri *Bacillus circulans* dan *Bacillus infernus* berdasarkan aktivitas biokimia, uji ketahanan fisik serta pewarnaan gram.

Beberapa penelitian terdahulu mengklasifikasikan bakteri *Bacillus* sp. termasuk kedalam kategori bakteri lignolitik yang merupakan bakteri pendegradasi limbah pewarna tekstil (Prakoso *et al.*, 2022). Menurut Mamulak, (2018) bakteri lignolitik dapat merusak warna tekstil karena kemiripan beberapa struktur kimia lignin dengan zat warna sehingga cocok dengan sisi aktif enzim lignolitik yang dihasilkan oleh bakteri. Enzim lignolitik ekstraseluler mampu merombak zat warna melalui reaksi reduksi-oksidasi, yang akan mengoksidasi senyawa-senyawa karbon menjadi  $C_2O$  dan  $H_2O$ .

## 4.2. Jenis Bakteri Simbion Akar Mangrove *Avicennia marina* Potensial Pendegradasi *Rhodamine B* asal Desa Panipahan

### 4.2.1. Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri

Isolat bakteri menunjukkan adanya aktivitas biodegradasi *Rhodamine B* kemudian dilakukan karakterisasi morfologi sel melalui pewarnaan gram yang dilakukan dengan melihat bentuk dan warna bakteri di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000× (gambar 4.6) (Oksana *et al.*, 2020). Hasil dari pewarnaan gram dapat dilihat pada tabel 4.4.

**Tabel 4.4. Hasil Pewarnaan Gram**

Kode Isolat Bakteri	Pewarnaan Gram Bakteri		
	Bentuk Sel	Warna	Keterangan
RA5	<i>Basil</i>	Ungu	Positif
RA16	<i>Cocobasil</i>	Ungu	Positif

Untuk mengategorikan mikroorganisme gram positif dan gram negatif, digunakan uji pewarnaan gram. Teknik ini didasarkan atas kemampuan bakteri untuk mempertahankan atau kehilangan pewarna utama (*crystal violet*) dan menerima pewarna tandingan (safranin). Bakteri gram positif dan gram negatif menciptakan warna yang berbeda karena perubahan permeabilitas, komposisi, dan

struktur dinding sel masing-masing. Setelah pewarnaan, bakteri gram positif akan menghasilkan warna ungu, sedangkan bakteri gram negatif menghasilkan warna merah (Jannah *et al.*, 2017). Dinding sel bakteri gram positif tersusun dari peptidoglikan tebal dan bisa menyerap warna ungu pada *crystal violet* sedangkan dinding sel bakteri gram negatif tersusun dari peptidoglikan tipis dan lipid yang terletak di gel periplasmik antara membran plasma dan membran luar sehingga *crystal violet* tidak diserap tetapi selnya menahan zat warna merah oleh safranin (Campbell & Reece, 2017). Berdasarkan pewarnaan gram diketahui bahwa isolat RA5 dan RA16 menunjukkan warna ungu yang termasuk ke dalam bakteri gram positif dan berbentuk *basil* atau batang.

#### 4.2.2. Uji Aktivitas Biokimia

Seluruh isolat bakteri yang telah melalui pewarnaan gram, selanjutnya dilakukan uji aktivitas biokimia yang meliputi uji katalase, uji TSIA, uji sitrat, uji motilitas, dan uji Oksidatif/Fermentatif. Hasil uji aktivitas biokimia disajikan pada tabel 4.5. Uji ini berkaitan dengan kemampuan metabolisme sel untuk melakukan reaksi kimia yang menghasilkan energi ataupun penggunaan energi untuk mensintesis komponen sel dan untuk aktivitas seluler (Rahayu & Gumilar, 2017).

Uji katalase ditujukan untuk mengetahui bakteri yang bisa menghasilkan enzim katalase untuk mengubah  $H_2O_2$  yang toksik bagi bakteri menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . Hasil positif ditunjukkan dari terbentuknya gelembung gas berupa Oksigen (Hayati *et al.*, 2019). Pengujian katalase pada penelitian ini memberikan 2 hasil berbeda (tabel 4.5 dan gambar 4.6), isolat RA5 positif katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung gas sebagai reaksi penguraian dari respirasi aerob oleh isolat bakteri setelah ditetesi dengan  $H_2O_2$  3% yang menunjukkan adanya dugaan bahwa isolat bakteri tersebut termasuk ke dalam bakteri aerob atau anaerob fakultatif. Hal ini sejalan dengan pendapat Cappuccino & Chad, (2019), yang menyatakan bahwa  $H_2O_2$  yang terdapat di lingkungan aerob akan diuraikan oleh golongan bakteri aerob ketika melakukan metabolisme aerob. Sedangkan pada isolat RA16 negatif katalase, isolat ini tidak menghasilkan gelembung gas ketika

diberikan 2-3 tetes  $H_2O_2$  artinya isolat tersebut tidak mampu menghasilkan enzim katalase yang berfungsi mengurai  $H_2O_2$

Uji TSIA menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* yang mengandung 3 jenis gula yaitu sukrosa, laktosa, dan glukosa. Menurut Kosasi *et al.*, (2019) uji TSIA ditujukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasikan gula dengan menghasilkan asam atau gas. Media berwarna merah menunjukkan reaksi basa, sedangkan media berwarna kuning menunjukkan reaksi asam. Warna kuning pada permukaan media (*slant*) mengindikasikan terjadinya fermentasi glukosa, dan warna kuning pada bagian permukaan media (*slant*) dan dasar (*butt*) media mengindikasikan terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa. Pengujian  $H_2S$  dilakukan menggunakan media TSIA, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan hitam pada dasar media (*butt*). Berdasarkan hasil pengujian, isolat RA5 menunjukkan adanya reaksi asam pada *slant* dan basa pada *butt*, yang artinya isolat ini hanya memfermentasi glukosa. Sedangkan pada isolat RA16 menunjukkan terjadinya reaksi basa pada *slant* dan *butt*, sehingga warna media keseluruhan tetap berwarna merah (gambar 4.6). Reaksi basa terjadi pada bagian *slant* dan *butt* menunjukkan tidak terjadinya fermentasi ketiga jenis gula (tabel 4.5). Kedua isolat bakteri simbion tidak menghasilkan gas ditandai dengan tidak adanya media yang terangkat ke atas sehingga terbentuknya ruang pada dasar tabung. Selain itu, kedua isolat bakteri simbion juga tidak menghasilkan  $H_2S$  yang ditunjukkan dengan tidak adanya endapan hitam pada bagian dasar media uji..

Uji Sitrat ditujukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi (Liempepas *et al.*, 2019). Uji sitrat dilakukan dengan menginokulasi isolat pada media *Simmon's Citrate Agar*, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media dari hijau ke biru. Penggunaan sitrat oleh bakteri menyebabkan asam menghilang dari biakan sehingga terjadi peningkatan pH (Ulfa *et al.*, 2016). Sedangkan hasil negatif apabila tidak terjadi perubahan warna media (Liempepas *et al.*, 2019). Hasil uji sitrat pada kedua isolat tidak menampakkan perubahan warna media, yang menandakan bahwa uji sitrat negatif (tabel 4.5 dan gambar 4.6), dimana bakteri tidak mampu memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon dan energi.

Motilitas bakteri berkaitan dengan kemotaksis bakteri, yaitu kemampuan bakteri untuk mengorientasikan pergerakan sepanjang gradien kimia tertentu pada suatu media. Sehingga uji motilitas dilakukan untuk melihat apakah isolat bakteri bersifat motil maupun non motil (Damayanti *et al.*, 2020). Hasil uji motilitas dapat diamati dengan pertumbuhan yang menyebar disekitar tempat penusukan atau tumbuh lurus disekitar penusukan. Motilitas menunjukkan bakteri memiliki flagel ataupun karena faktor dari luar yaitu adanya gerak *brown* (Lubis *et al.*, 2020). Gerak *brown* ialah gerakan yang bisa menggetarkan partikel-partikel secara acak karena terus menerus terkena pukulan molekul-molekul kecil tak terlihat yang terdapat dalam media (Pattuju *et al.*, 2014). Berdasarkan tabel 4.5. diketahui bahwa isolat bakteri yang memiliki flagel sebagai alat gerak yaitu isolat RA5 dengan ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni yang menyebar serta media berubah menjadi keruh seperti kabut setelah diinokulasikan bakteri secara tegak lurus menggunakan ose pada media (gambar 4.6). Sedangkan pada isolat bakteri RA16 menunjukkan hasil negatif atau non motil yang ditandai dengan tidak adanya rambatan menyerupai akar di sekitar daerah bekas tusukan ose pada media serta tidak ada gumpalan putih di atas permukaan media (gambar 4.6).

Uji Oksidatif/Fermentatif ditujukan untuk mengetahui bakteri mampu memproduksi asam dari berbagai jenis karbohidrat secara oksidatif atau fermentatif (Alfajri *et al.*, 2018). Bakteri bersifat fermentatif jika media menjadi warna kuning, sedangkan bakteri bersifat oksidatif jika bagian permukaan media berwarna kuning dan bagian bawahnya tidak berubah warna. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak ada perubahan warna pada media (Anggraini *et al.*, 2016). Berdasarkan hasil pengujian Oksidatif/Fermentatif (tabel 4.5 dan gambar 4.6) diketahui bahwa isolat RA5 dan isolat RA16 bersifat fermentatif yang ditandai terjadinya perubahan kedua media warnanya menjadi kuning. Menurut Anggraini *et al.*, (2016), bakteri memiliki kebutuhan oksigen yang relatif berbeda. Hal ini sejalan dengan pendapat Sa`adah *et al.*, (2020) bahwa bakteri anaerob fakultatif ialah bakteri yang mampu hidup dengan atau tanpa oksigen.

Tabel 4.5. Hasil Uji Biokimia

Uji Biokimia	Kode Isolat Bakteri	
	RA5	RA16
Katalase	+	-
TSIA		
- <i>Slant/Butt</i>	A/K	K/K
- Gas	-	-
- H <sub>2</sub> S	-	-
Sitrat	-	-
Motilitas	+	-
Oksidatif/Fermentatif	Fermentatif	Fermentatif

\*Keterangan : (-) = Uji Bersifat Negatif

(+) = Uji Bersifat Positif

A/K = Asam/Basa (*Slant*-kuning/*Butt*-merah)

K/K = Basa/Basa (*Slant*-merah/*Butt*-merah)

#### 4.2.3. Uji Ketahanan Fisik Pertumbuhan Bakteri

Tabel 4.6. Hasil Uji Fisiologis Bakteri

Kode Isolat Bakteri	Uji Fisiologis							
	Salinitas				pH			
	NaCl 0%	NaCl 10%	NaCl 20%	NaCl 30%	5	6	7	8
RA5	-	-	+	+	-	-	+	++
RA16	+	+	-	-	+	+	+	+

\*Keterangan : (-) = Tidak Hidup

(+) = Hidup

(++) = Hidup dengan sangat baik

Berdasarkan hasil uji ketahanan pH (tabel 4.6) diketahui bahwa isolat RA5 hidup dengan baik pada kisaran pH 7–8 dan isolat RA16 mampu hidup pada kisaran pH 5–8 (lampiran 13). Menurut Damayanti *et al.*, (2020) bakteri hidup

baik dikisaran pH 5–8. Berdasarkan pH, bakteri digolongkan kedalam bakteri asidofilik, neutrofilik, dan alkalofilik. Bakteri asidofilik tumbuh di pH optimal 1–5,5, Bakteri neutrofilik tumbuh di pH optimal 5,5–8, dan bakteri alkalofilik tumbuh di pH maksimum 8,5–11,5. Secara keseluruhan isolat bakteri simbion tergolong dalam bakteri neutrofilik. Hal ini didukung oleh penelitian Behera *et al.*, (2016) yang melaporkan bahwa bakteri di kawasan mangrove tumbuh di pH 6–7 dan memperoleh bakteri dari anggota genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Azotobacters*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, dan *Micrococcus*.

Pada uji fisiologis ketahanan kadar salinitas yang disajikan pada tabel 4.6 diketahui isolat RA5 hidup dengan baik pada kisaran kadar salinitas 20% sampai dengan 30%, dan tidak tumbuh sama sekali pada salinitas 0% sampai dengan 10% sehingga tergolong ke dalam bakteri halofilik ekstrim sedangkan isolat RA16 diketahui dapat tumbuh normal di kisaran kadar salinitas 0% sampai dengan 10%, dan terhambat pertumbuhannya pada kadar salinitas 20% sampai dengan 30% , sehingga digolongkan ke dalam bakteri halofilik moderate (lampiran 13), bakteri golongan halofilik moderate umumnya berupa bakteri gram positif, dan non-motil (Sabdaningsih & Lunggani, 2020)..

#### **4.2.4. Identifikasi Bakteri Simbion Akar Mangrove *Avicennia marina***

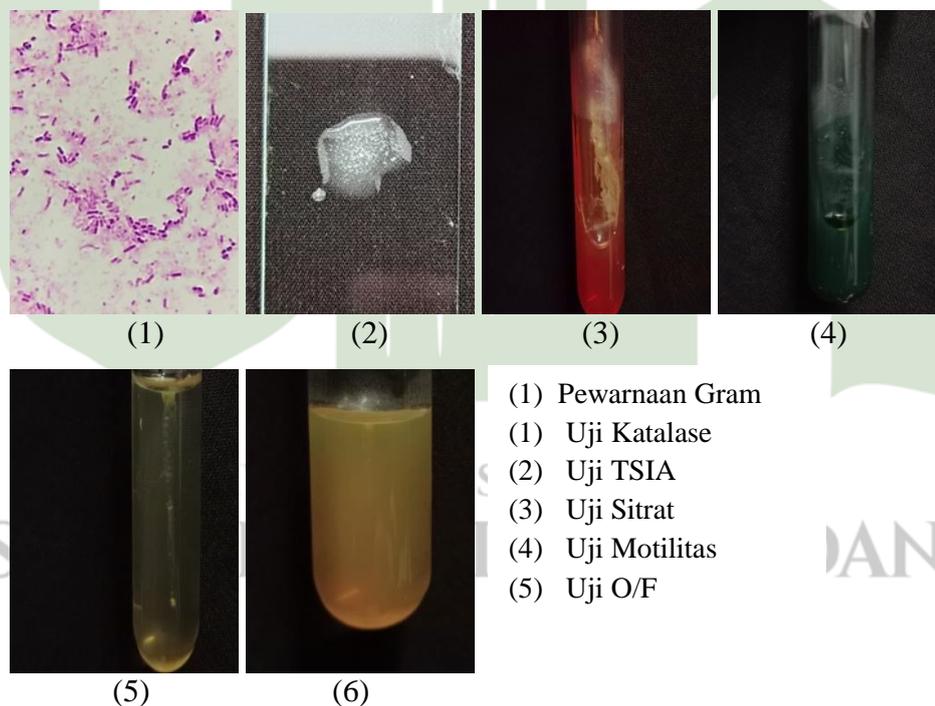
Penentuan genus dari kelompok bakteri simbion akar mangrove *Avicennia marina* yang berpotensi sebagai agen biodegradasi *Rhodamine B* yang diperoleh di Kawasan Mangrove Desa Panipahan, Riau dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi, uji pewarnaan gram, uji biokimia, dan uji ketahanan pertumbuhan bakteri. Pengamatan sifat-sifat yang diperlihatkan oleh masing-masing bakteri tersebut akan dideterminasi menggunakan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*<sup>nd</sup> edition dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 7<sup>th</sup> edition, serta berbagai jurnal ilmiah pendukung lainnya. Hasil determinasi masing-masing bakteri simbion dilampirkan pada tabel 4.7.

**Tabel 4.7. Spesies Bakteri Simbion Akar Mangrove *A.marina***

Titik <i>Sampling</i>	Kode Isolat Bakteri	Spesies
Titik 1	RA5	<i>Bacillus circulans</i>
Titik 2	RA16	<i>Bacillus infernus</i>

#### 4.2.4.1. *Bacillus circulans*

Berdasarkan hasil determinasi menggunakan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> ed*, maka diduga kuat bahwa isolat RA5 adalah bakteri halofilik dan termasuk ke dalam spesies *Bacillus circulans*. Hasil determinasi sejalan dengan hasil identifikasi oleh Alebouyeh *et al.*, (2011), yang memperoleh bakteri dengan bentuk *basil*, gram positif, TSIA positif (A/K), katalase positif yang berarti bakteri ini mampu menghasilkan enzim katalase untuk menghidrolisis senyawa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sitrat negatif, motil, serta bersifat fermentatif sehingga digolongkan ke dalam bakteri anaerobik fakultatif *Bacillus circulans*.



- (1) Pewarnaan Gram
- (1) Uji Katalase
- (2) Uji TSIA
- (3) Uji Sitrat
- (4) Uji Motilitas
- (5) Uji O/F

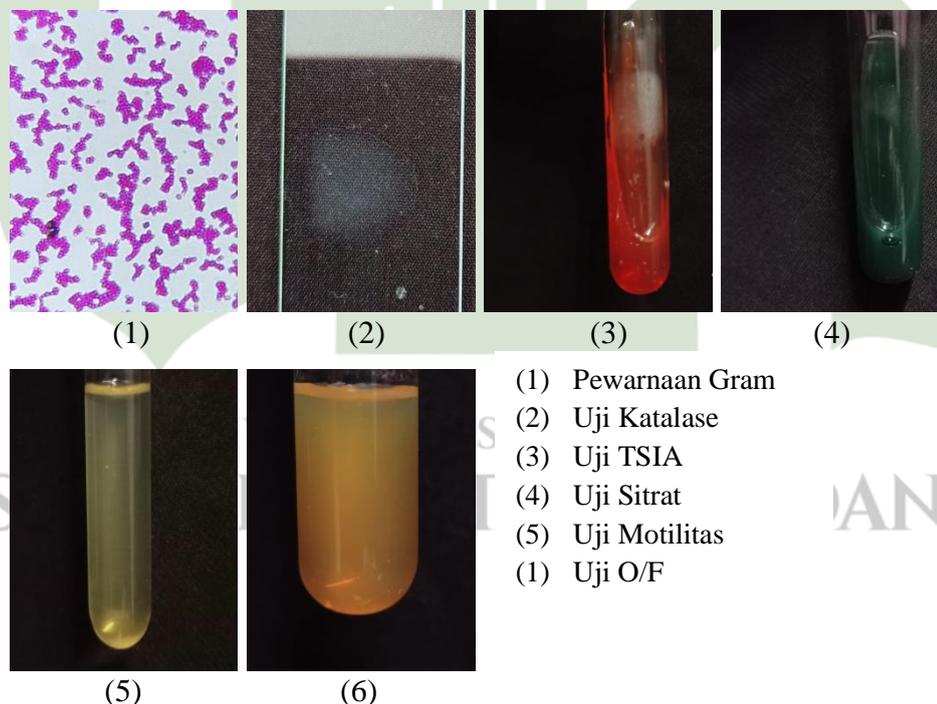
**Gambar 4.6. Uji Pewarnaan Gram dan Karakteristik Genus *Bacillus***

Berdasarkan pengujian ketahanan fisik diperoleh hasil bahwa isolat RA5 mampu tumbuh dengan baik pada kadar salinitas tinggi dan kisaran pH yang tinggi. Hal ini didukung oleh pendapat Whitman, (2009) yang mengemukakan

bahwa bakteri *Bacillus circulans* mampu bertahan hidup pada kisaran temperatur 30°C sampai 55°C, pH optimum pertumbuhan berkisar dari 7-8, dan mampu hidup pada kadar salinitas tinggi. Menurut buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7<sup>th</sup>ed* diketahui isolat bakteri RA5 tergolong ke dalam bakteri *Bacillus circulans* yang dibuktikan dari warna koloni *cream*, *convex*, dengan dan tekstur licin. Ukuran koloni bakteri yang diperoleh *punctiform*, dengan tepian rata yang menandakan bakteri tersebut berasal dari genus *Bacillus* (Puspita *et al.*, 2017).

#### 4.2.4.2. *Bacillus infernus*

Berdasarkan hasil determinasi menggunakan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> edition*, diduga kuat bahwa isolat RA16 merupakan bakteri halofilik *Bacillus infernus*. Hal ini berdasarkan pada ciri-ciri morfologi dan fisiologis bakteri tersebut, yaitu memiliki bentuk *coccus* basil berderet, gram positif, katalase negatif yang berarti bakteri tersebut bersifat anaerob fakultatif, sitrat negatif, non-motil, dan bersifat fermentatif.



**Gambar 4.7.** Uji Pewarnaan Gram dan Karakteristik Genus *Streptococcus*

Pada uji ketahanan fisik pertumbuhan didapatkan hasil RA16 merupakan bakteri halotoleran yang bisa hidup di kisaran pH 7-8. Menurut Whitman, (2009) bakteri *Bacillus infernus* tumbuh pada suhu optimum sekitar 45°C, dan tumbuh

baik pada pH 7,3-8,1. Berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 7<sup>th</sup> ed* diketahui bahwa isolat bakteri RA16 tergolong ke dalam bakteri *Bacillus infernus* yang dibuktikan dari bentuk koloni *circular*, tepian yang rata dengan elevasi *convex* dan berukuran kecil berwarna *cream*.

#### 4.2.5. Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan guna mempermudah proses identifikasi spesies bakteri dengan akurat serta relatif cepat. Salah satu metode identifikasi bakteri yang digunakan adalah menggunakan penanda gen 16S rRNA. Namun disamping itu, teknik ini mempunyai beberapa kekurangan di antaranya tidak sesuai digunakan untuk spesies tertentu.

Hasil identifikasi molekuler isolat bakteri RA16 tidak teridentifikasi sampai tingkat spesies (lampiran 13), hal tersebut dikarenakan adanya *mixed template* ditemukan kemungkinan terdapat beberapa jenis bakteri berbeda kelas dalam satu sampel atau kemungkinan lainnya adalah terdapat daerah *blindspot* pada saat dilakukan sekuensing. Menurut pendapat Noer, (2021) yang mendukung hal tersebut, menyatakan bahwa pada beberapa genus terdapat daerah *blindspot*, urutan 16S rRNA tidak memiliki perbedaan yang cukup untuk pengidentifikasian spesies tertentu. Dalam situasi seperti ini, target alternatif harus diteliti.