

PERSYARATAN TAMBAHAN KHUSUS UNTUK KENAIKAN PANGKAT PROFESOR

Nama : Dr. Sumardi, M.Si
 NIP : 196503251991031003
 Bidang studi : Mikrobiologi
 Unit kerja : Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
 No WA/HP : 085216391087
 Email : sumardi.1965@fmipa.unila.ac.id

Tabel 1. Daftar hibah penelitian, Sumber data : <http://simlitabmas.ristekdikti.go.id>

No	Hibah penelitian	Judul	Besar dana (Rp)
1	Ketua Hibah penelitian pascasarjana Unila No kontrak : 1572/UN26.21/PN/ 2018 Tahun 2018	Isolasi dan karakterisasi bakteri fotosintetik anoksigenik dari hutan Mangrove di hanura Lampung : dalam upaya untuk penyehatan di perairan tambak	40.000.000,-
2	Ketua Hibah penelitian pascasarjana Unila No kontrak : 809/UN26.21/PN/ 2017 Tahun 2017	Pengaruh paparan medan magnet 0,2 mT pada media yang mengandung logam (Fe, Al, Pb, Cd, dan Cu) terhadap aktivitas <i>Bacillus</i> sp. Dalam menghasilkan enzim protease	40.000.000,-
3	Ketua Hibah penelitian pascasarjana Unila No kontrak : 963/UN26.21/PN/ 2016 Tahun 2016	Pengaruh paparan medan magnet 0,2 mT pada komponen senyawa media pertumbuhan terhadap morfologi dan aktivitas <i>Bacillus</i> sp. Dalam menghasilkan enzim protease	40.000.000,-
TOTAL			120.000.000,- (Seratus dua puluh juta rupiah)

LAPORAN PENELITIAN

PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG



ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK DARI HUTAN MANGROVE DI HANURA LAMPUNG: DALAM UPAYA UNTUK PENYEHATAN DI PERAIRAN TAMBAK

Berdasarkan Surat Penugasan Penelitian Pascasarjana Unila
Nomor kontrak: 1572/UN26.21/PP/2018, Tanggal 9 Juli 2018

TIM PENELITIAN

Dr. Sumardi, M.Si	(Ketua)	NIDN 0025036505
Rochmah Agustrina, Ph.D	(Anggota)	NIDN 0003086102
Dr. Bambang Irawan, M.Sc	(Anggota)	NIDN 0003036504

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018**

**HALAMAN PENGESAHAN PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS
LAMPUNG**

Judul Penelitian : Isolasi dan karakterisasi bakteri fotosintetik anoksigenik dari hutan mangrove di Hanura Lampung: dalam upaya untuk penyehatan di perairan tambak

Manfaat sosial ekonomi : menggairahkan /meningkatkan ekonomi petambak udang/ ikan

Jenis penelitian penelitian dasar penelitian terapan
 pengembangan eksperimental

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Dr. Sumardi, M.Si
b. NIDN : 0025036505
c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
d. Program Studi : Magister Biologi
e. Nomor HP : 085216391087
f. Alamat surel (e-mail) : sumardi_bio@yahoo.co.id

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Rochmah Agustrina, Ph.D
b. NIDN : 0003086102
c. Program Studi : Magister Biologi

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Dr. Bambang Irawan, M.Sc
b. NIDN : 0003036504
c. Program Studi : Magister Biologi

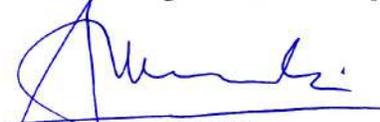
Jumlah mahasiswa yang terlibat : 1 orang
Jumlah alumni yang terlibat : -
Jumlah staf yang terlibat : 3 orang
Lokasi kegiatan : Bandar Lampung
Lama kegiatan : 6 bulan
Biaya Penelitian : Rp40.000.000,-
Sumber dana : BLU Unila

Bandar Lampung, 5 Nopember 2018

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pascasarjana Biologi

Ketua Peneliti,

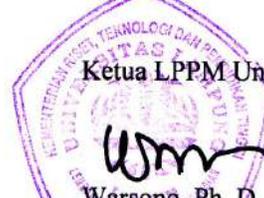

Dr. Sumardi, M.Si
NIP 196503251991031003


Dr. Sumardi, M.Si
NIP 196503251991031003

Menyetujui


Direktur Pascasarjana Unila,

Prof. Mustofa Osman, Ph.D.
NIP 195701011984031020


Ketua LPPM Unila

Warsono, Ph. D
NIP 196302161987031003

**IDENTITAS DAN URAIAN UMUM
PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG**

1. Judul Penelitian : Isolasi dan karakterisasi bakteri fotosintetik anoksigenik dari hutan mangrove di Hanura Lampung: dalam upaya untuk penyehatan di perairan tambak

2. Tim Peneliti

No	Nama	Jabatan	Bidang keahlian	Program studi	Alokasi waktu (jam/minggu)
1	Dr. Sumardi, M.Si	Ketua	Mikrobiologi	Biologi	20
2	Rochmah Agustrina, Ph.D	Anggota – 1	Fisiologi Tumbuhan	Biologi	10
3	Dr. Bambang Irawan, M.Sc	Anggota – 2	Mikologi	Biologi	10

3. Objek Penelitian (jenis material yang akan diteliti dan segi penelitian): bahan media pertumbuhan bakteri dan karakteristik enzim protease

4. Masa Pelaksanaan

Mulai : bulan Juni tahun 2018

Berakhir : bulan Desember tahun 2018

5. Usulan Biaya : Rp40.000.000,-

6. Lokasi Penelitian (lab/studio/lapangan) : laboratorium Mikrobiologi

7. Instansi lain yang terlibat (jika ada, dan uraikan apa kontributornya)

8. Temuan yang ditargetkan lulusan S-2

Mahasiswa dapat melaksanakan presentasi di seminar nasional dan menulis temuannya pada jurnal Nasional terakreditasi.

9. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu

Target khusus yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah bakteri fotosintetik anoksigenik dari hutan mangrove di hanura lampung: dalam upaya untuk penyehatan di perairan tambak

10. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran untuk setiap penerima Hibah Penelitian Pascasarjana (Nasional terakreditasi) Jurnal Ilmu Lingkungan di UNDIP

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
IDENTITAS DAN URAIAN UMUM	iii
DAFTAR ISI	iii
RINGKASAN	iv
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
BAB III. METODE PENELITIAN	6
DAFTAR PUSTAKA.....	19

RINGKASAN

Penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri fotosintetik anoksigenik dari hutan mangrove di Hanura Lampung: dalam upaya untuk penyehatan di perairan tambak saat ini **belum banyak diteliti** oleh para peneliti. Disamping itu perairan di teluk lampung juga ditemukan kandungan logam berat Pb, Cd, Hg, Cu, Zn, Ni, dan Cr walaupun masih berada dibawah ambang batas normal. Namun kondisi tersebut harus dijaga jangan sampai melebihi kadar yang berbahaya. Salah satu upaya untuk menjaga kondisi tersebut adalah dengan menumbuhkan mikroba probiotik bakteri fotosintetik anoksigenik. Probiotik ini akan banyak bermanfaat dalam banyak bidang diantaranya peternakan, perikanan, budidaya tanaman, dan lain-lain.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap: Tahap pertama yaitu mengisolasi BFA dari hutan mangrove di Hanura Lampung, kemudian tahap kedua menentukan karakterisasi dan perbedaan masing-masing isolat BFA yang didapat dari sampel lumpur, air laut, daun bakau, akar bakau, daun dan batang tumbuhan disekitar bakau, ikan, kepiting dan udang, serta tahap ketiga menyeleksi kemampuan BFA berdasarkan perbedaan pH dan salinitas dalam menurunkan konsentrasi H_2S , NO_2 , Amonnia, Hg, dan Pb.

Hasil penelitian diperoleh 11 isolat yang mempunyai karakteristik tertentu. Isolate tersebut berasal dari sampel

akan disusun menggunakan metode survai lapangan di hutan mangrove- Hanura Lampung. Isolat BFA akan diambil dari air, lumpur, ikan, udang, akar bakau, pohon bakau, dan lain-lain. Hasil penelitian ini akan diseminarkan di tingkat nasional / internasional dan direncanakan akan di publikasi pada Jurnal nasional terakreditasi.

Kata kunci: BFA, mangrove, probiotik.

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Permasalahan

Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) merupakan bakteri yang hidup pada daerah perairan. Secara ekologis, BFA tersebar dalam habitat air yang memiliki kandungan oksigen dan intensitas cahaya yang rendah. Kondisi ini banyak terjadi pada dasar perairan dan akumulasi senyawa metabolit toksik serta pada dasar perairan sistem tambak. BFA bersifat fototropik, mampu memanfaatkan gelombang sinar infra merah untuk mengeksitasi membran fotosistem dalam proses fotosintesisnya. Aktivitas fotosintetik tidak menggunakan air sebagai donor elektron, sehingga tidak dihasilkan oksigen dalam proses fotosintetik tersebut. Sebagai gantinya, BFA menggunakan senyawa organik dan anorganik seperti, H_2S , Nitrit, FeS , dan ammonia untuk donor elektron (Widiyanto, 2001).

Saat ini bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) telah banyak digunakan sebagai agen biokondisioner diperairan budidaya seperti tambak udang windu khususnya untuk mengatasi H_2S . BFA telah diketahui mampu menurunkan ion Cu hingga 36-76 % , logam Cd atau kadmium hingga 44-96 % (Sadi, *dkk*, 2006) dan H_2S hingga 72,4 % (Desiyana, 2000). Pada sistem budidaya perairan (tambak udang) senyawa tersebut dihasilkan dari proses dekomposisi senyawa organik yang berasal dari sisa pakan dan feces oleh mikroorganisme pada kondisi oksigen yang rendah atau terjadi proses mineralisasi yang berjalan tidak sempurna. Proses tersebut banyak terjadi pada sistem perairan budidaya yang tidak mengindahkan kemampuan daya dukung dan memaksakan target produksi.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keragaman flora dan faunanya. Mangrove merupakan salah satu tumbuhan yang mudah dijumpai dipesisir pantai karena Indonesia merupakan negara kepulauan. Banyak masyarakat memanfaatkan daerah pantai untuk dijadikan budidaya perairan air payau seperti ikan kerapu dan udang windu. Hutan mangrove menyimpan banyak manfaat yang bermanfaat bagi penduduk antara lain sebagai penahan abrasi pantai, gelombang pasang, dan tsunami. Selain itu hutan mangrove juga menyimpan banyak potensi untuk bidang mikrobiologi sebagai salah satu habitat bakteri fotosintetik anoksigenik. Menurut Widiyanto (2001), keberadaan bakteri fotosintetik anoksigenik mampu memanfaatkan senyawa toksik untuk mengindikasikan potensi yang cukup baik sebagai biokondisioner

Mangrove merupakan salah satu tanaman yang dapat bekerjasama dengan mikroorganisme yang dapat mengubah bahan pencemar menjadi tidak berbahaya. Proses ini berlangsung secara alami dengan enam tahap proses secara serial yang dilakukan tumbuhan terhadap bahan pencemaran yang berada disekitarnya, yaitu dengan cara: *Phytoaccumulation*, *Rhizofiltration*, *Phytostabilization*, *Rhizodegradation*, *Phytodegradation*, *Phytovolatilization* (Fitter, 1991).

Menurut Desiyana (2000) terdapat beberapa isolat BFA yang berhasil diisolasi dari perairan disekitar Lampung Selatan yang mampu menurunkan konsentrasi H₂S. Dilain pihak menurut Tugiyono (2007) zat kontaminan berupa logam berat yang banyak ditemukan di sekitar teluk Lampung adalah antara lain Pb, Cd, Hg, Cu, Zn, Ni. Dan Cr. Kondisi pencemaran tersebut tentu dapat mempengaruhi dan mencemari kehidupan hewan air, seperti ikan, udang, kepiting, kepiting, dan lain-lainnya yang ada disekitar teluk lampung.

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan tersebut diatas maka perlu usaha untuk menanggulangi permasalahan perairan pantai tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi BFA dari hutang mangrove di perairan Hanura Lampung dan ada kemampuan menurunkan kadar H₂S, NO₂, Amonnia, Hg, dan Pb berdasarkan seleksi pH dan kadar garam dari isolat tersebut.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

- a. Mengisolasi BFA dari hutan mangrove di Hanura Lampung
- b. Menentukan karakterisasi dan perbedaan masing-masing isolat BFA yang didapat dari sampel lumpur, air laut, daun bakau, akar bakau, daun dan batang tumbuhan disekitar bakau, ikan, kepiting dan udang.
- c. Menyeleksi kemampuan BFA berdasarkan perbedaan pH dan salinitas dalam menurunkan konsentrasi H₂S, NO₂, Amonnia, Hg, dan Pb.

1.3 Urgensi (keutamaan) penelitian

Penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri fotosintetik anoksigenik dari hutan mangrove di Hanura Lampung: dalam upaya untuk penyehatan di perairan tambak saat ini **belum banyak diteliti** oleh para peneliti. Kondisi perairan di teluk lampung ditemukan kandungan logam berat Pb, Cd, Hg, Cu, Zn, Ni, dan Cr walaupun masih berada dibawah ambang batas normal. Namun kondisi tersebut harus dijaga jangan sampai melebihi kadar yang telah ditentukan. Apabila sampai terjadi pencemaran maka akan mempengaruhi dan mencemari kehidupan hewan air, seperti ikan, udang, kepiting, kepiting, dan lain-lainnya yang ada disekitar teluk lampung.

Dengan semakin bertambahnya jumlah penduduk yang tinggal disekitar teluk lampung, maka kebutuhan manusia akan pangan dan pariwisata juga meningkat. Dengan demikian maka usaha perikanan, tambak udang, dan pariwisata juga akan meningkat. Semua aktivitas tersebut pada akhirnya dapat menambah pencemaran di teluk lampung.

Salah satu usaha penanggulanga bahan kimia tersebut secara biologi dengan menggunakan bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA). Penggunaan BFA tersebut bermanfaat sebagai probiotik, membuat kondisi lingkungan lebih sehat dengan mengurangi bahan pencemar logam berat, menurunkan H₂S, dan amonia diperairan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Bakteri Fotosintesis Anoksigenik (BFA)

Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) merupakan kelompok bakteri yang hidup pada sistem perairan (laut, estuari dan tawar). Bakteri fotosintetik anoksigenik bersifat fototrofik, mampu hidup pada kandungan rendah oksigen dan memanfaatkan gelombang sinar infra merah untuk mengeksitasi membran fotosistem dalam proses fotosintesisnya (Widiyanto, 2001). BFA adalah kelompok bakteri yang mampu melakukan fotosintesis dengan memanfaatkan donor hydrogen yang tereduksi lebih kuat (H₂S, H₂, Nitrit, FeS dan ammonia atau senyawa-senyawa organik) sebagai pengganti H₂O, sehingga hasil fotosintesis bakteri ini tidak membentuk oksigen (Schlegel dan Schmidt, 1994). Hal ini disebabkan karena BFA tidak memiliki fotosistem II, yang

berfungsi untuk menghidrolisis air menjadi ion hidrogen dan oksigen (Brock dan Madigan, 1991).

Bakteri fotosintetik anoksigenik dapat dibagi menjadi dua menurut Pfening dan Truper (1989) yaitu bakteri hijau dan bakteri ungu. Bakteri ungu terdiri dari tiga family yaitu : *Chromatiaceae* (bakteri ungu non sulfur), *Ectothiorodospirillaceae* dan *Rhodospirillaceae* (bakteri ungu non sulfur). Sedangkan bakteri hijau terdiri dari dua family, yaitu *Chlorobiaceae* (bakteri hijau sulfur) dan *Chloroflexaceae* (bakteri hijau berfilamen multiseluller). Bakteri ungu sulfur menggunakan H₂S sebagai donor electron untuk sintesa metabolitnya dengan sumber karbon CO₂. Hidrogen sulfida akan dioksidasi menjadi sulfat, proses ini analog dengan proses fotosintesis pada tanaman.

Secara morfologi BFA adalah bakteri bersel tunggal dengan mayoritas memiliki empat bentuk dasar yakni batang, spiral, bulat dan koma. Bersifat gram negatif dan memiliki flagel sebagai alat geraknya (Rheinheimer, 1994) berwarna merah, jingga atau hijau yang disebabkan karena adanya kandungan klorofil bakteri dari senyawa karotinoid (Schlegel, 1994). Di alam, BFA terdistribusi luas di air dan tanah, serta mampu tumbuh pada lingkungan yang tercemar akibat kegiatan manusia. Dalam lumpur aktif, BFA ada dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri kemoheterotrof aerobik (Hirashi et al., 1995) Umumnya BFA mampu mengasimilasi karbondioksida dan molekul nitrogen (fiksasi nitrogen), dengan cara menggunakan cahaya sebagai sumber energi (Kobayashi dan Kobayashi, 1995).

Bakteri fotosintesis anoksigenik dapat hidup secara aerob, anaerob, maupun fermentasi, selain itu juga mampu menggunakan spektrum merah sampai infra merah, tahan terhadap herbisida tertentu dan mampu mendetoksikasi H₂S (Habte & Alexander, 1980). BFA memiliki ketahanan yang tinggi terhadap oksianion logam tanah jarang seperti arsenat, kromat, selinat menjadi logam dasar yang kemudian disimpan dalam selnya sehingga lingkungan menjadi kurang beracun (Moore & Kaplan, 1992). BFA dapat tumbuh relative cepat (Suryanto & Suwanto, 2000) dengan menggunakan sumber C dapat mengubah organik kompleks menjadi polisakarida kompleks (Hirashi et al., 1995). Produk sampingan BFA yang mampu dihasilkan dari limbah pertanian karena lebih banyak menguraikan dinding sel bakteri dan kaya protein, karoten dan vitamin (Kim & Lee, 2000).

Bakteri fotosintetik anoksigenik mampu memfiksasi nitrogen (Habte & Alexander, 1980). Bakteri fotosintetik anoksigenik dapat mendegradasi senyawa aromatis (Harwoo &

Gibson, 1995 dalam Suryanto et al., 2001). *Rhodobacter sphaeroides* mampu memproduksi hydrogen, detoksifikasi logam berat, dan produksi enzim-enzim komersial (Suwanto, 2001).

Tumbuhan Mangrove

Hutan mangrove atau sering disebut dengan hutan bakau merupakan hutan dengan jenis tumbuhan penyusunnya yaitu pohon bakau. Kata mangrove berasal dari kombinasi kata *Mangue* (Bahasa Portugis) yang berarti tumbuhan dan kata *Grove* (Bahasa Inggris) yang berarti hutan kecil atau belukar. Bakau merupakan tumbuhan subtropik yang khas, tumbuh disepanjang pantai atau muara sungai yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Hutan bakau banyak dijumpai pada pesisir pantai yang terlindungi dari gempuran ombak dan daerah landai. Hutan bakau tumbuh optimal di wilayah pesisir yang mengandung banyak lumpur. Lumpur tersebut akan mengendap sebagai substrat (media) bagi pertumbuhan bakau (Dahuri, 2013).

Pohon mangrove memiliki adaptasi fisiologis secara khusus untuk menyesuaikan diri dengan garam yang ada di dalam jaringannya. Mangrove memiliki adaptasi melalui sistem perakaran untuk menyokong dirinya di sedimen lumpur yang halus dan menransportasikan oksigen dari atmosfer ke akar (Kusmana, 1997). Menurut Sukarjo dan Gufran (2012) ada lima faktor yang mempengaruhi zonasi hutan bakau yaitu :

1. Gelombang air laut
2. Salinitas, berhubungan dengan kadar garam yang berkaitan dengan hubungan osmosis hutan bakau.
3. Substrat sebagai media tumbuh
4. Aliran air (tawar) yang masuk dan rembasan air tawar
5. Keterbukaan terhadap gelombang, yang menentukan jumlah substrat yang dapat dimanfaatkan.

Berdasarkan fungsi dan manfaatnya, ekosistem hutan bakau dibagi menjadi tiga yaitu 1). Fungsi fisik sebagai pencegah abrasi, perlindungan terhadap angin, sebagai perangkap zat-zat pencemar limbah dan sebagai penghasil energi serta hara. 2). Fungsi biologis sebagai tempat bertelurnya dan tempat berkembangbiaknya biota serta jasad renik dan 3.) Fungsi ekonomis sebagai sumber bahan bakar, obat-obatan, serta dapat menjadi sumber pendapatan masyarakat dengan memanfaatkannya sebagai tempat rekreasi dan edukasi.

Vegetasi mangrove juga dapat menyerap dan mengurangi pencemaran (polutan). Jaringan anatomi tumbuhan mangrove mampu menyerap bahan polutan, misalnya seperti jenis *Rhizophora mucronata* dapat menyerap 300 ppm Mn, 20 ppm Zn, 15 ppm Cu dan pada daun *Avicennia marina* terdapat akumulasi Pb 15 ppm, Cd 0,5 ppm serta Ni 2,4 ppm (Mukhtasor, 2007). Mangrove merupakan salah satu tanaman yang dapat bekerjasama dengan mikroorganisme untuk mengubah zat polutan menjadi kurang atau tidak berbahaya. Proses dalam sistem ini berlangsung secara alami dengan enam tahap proses secara serial yang dilakukan tumbuhan terhadap zat polutan yang ada disekitarnya, yaitu dengan cara :

1. *Phytoaccumulation (phytoextraction)*

Proses tumbuhan menarik zat polutan dari media (substrat) sehingga terakumulasi disekitar akat tumbuhan mangrove.

2. *Rhizofiltration (rhizo : akar)*

Proses adsorpsi atau pengendapan zat kontaminan oleh akar agar menempel pada akar.

3. *Phytostabilization*

Penempelan zat-zat kontaminan tertentu pada akar yang tidak diserap masuk kedalam batang tubuh tumbuhan, zat-zat tersebut tidak akan terbawa oleh aliran air.

4. *Rhizodegradation*

Penguraian zat-zat kontaminan oleh aktivitas mikroba yang berada disekitar akar tumbuhan, misal ragi, fungi dan bakteri.

5. *Phytodegradation*

Tumbuhan mangrove memiliki enzim khusus yang dikeluarkan oleh tumbuhan tersebut untuk mempercepat proses degradasi yang berlangsung pada akar, daun dan batang. Proses tersebut dilakukan untuk menguraikan zat polutan yang mempunyai rantai molekul kompleks diubah menjadi bahan yang tidak berbahaya dengan susunan molekul yang lebih sederhana dan berguna bagi pertumbuhan tumbuhan itu sendiri.

6. *Phytovolatilization*

Proses ini menarik dan transpirasi zat polutan oleh tumbuhan dalam bentuk larutan terurai yang tidak berbahaya dan diuapkan ke atmosfer. Tuwo (2011) menambahkan bahwa ekosistem mangrove yang umumnya didominasi oleh tumbuhan dari genera

Rhizophora, *Avicennia*, *Sonneratia* dan *Brugueira* memiliki adaptasi khas untuk dapat hidup dan berkembang pada substrat berlumpur yang asam, anoksigenik dan tergenang air laut. Tumbuhan mangrove beradaptasi dengan kondisi rendah oksigen dengan cara membentuk sistem perakaran penyangga. Akar-akar penyangga tumbuh dari batang, pohon, menembus substrat. Pada akar penyangga tidak ditemukan *pneumatophore* tetapi memiliki lubang-lubang kecil yang disebut lenti sel yang berfungsi untuk melewati udara dan mendapatkan oksigen. Sedangkan untuk mencegah peracunan logam terhadap sel, tumbuhan mangrove memiliki mekanisme detoksifikasi, misalnya dengan menimbun logam di dalam organ tertentu seperti akar (untuk Cd), trikoma (untuk Cd) dan lateks (untuk Ni).

Logam Berat

Logam berat tergolong logam dengan kriteria-kriteria yang sama dengan logam-logam yang lainnya. Perbedaannya terdapat pada pengaruh yang dihasilkan apabila diberikan atau masuk ke dalam tubuh organisme hidup (Palar, 1994). Menurut Connel, D (1995), mengatakan bahwa secara biologis logam dapat dibagi menjadi tiga kelompok antara lain:

- a) Logam ringan yang secara normal dapat ditransportasikan sebagai kation yang mobile dalam suatu larutan (contoh Na, K, dan Ca)
- b) Logam transisi penting bagi organisme dalam jumlah sedikit karena apabila dalam jumlah besar akan menjadi racun (contoh Fe, Cu, Co, dan Mn)
- c) Logam metaloid umumnya tidak dibutuhkan dalam aktivitas metabolisme dan bersifat racun bagi sel walaupun dalam jumlah yang sedikit (contoh Hg, Cd, Pb, As, Cu, Ni, Cr dan Se).

Logam Berat Hg

Merkuri ditulis dengan symbol Hg yang berarti “Perak cair” (*liquid silver*) adalah jenis logam yang sangat berat yang dikelompokkan ke dalam golongan tingkat toksik tinggi (Widowati, et. al., 2008) yang berbentuk cair pada temperature kamar, memiliki sifat konduktor listrik yang cukup baik namun sebagai konduktor panas kurang baik. Merkuri apabila bercampur

dengan enzim didalam tubuh manusia menyebabkan hilangnya kemampuan enzim untuk bertindak sebagai katalisator untuk fungsi tubuh yang penting.

Lingkungan yang terkontaminasi oleh logam berat merkuri dapat membahayakan kehidupan manusia karena adanya rantai makanan. Bahaya penyakit yang ditimbulkan oleh senyawa merkuri diantaranya adalah kerusakan rambut dan gigi, hilang daya ingat dan terangnya sistem syaraf (Bambang Tjahjono Setiabudi, 2005 dalam Mirdat, dkk, 2013).

Logam Berat Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan salah satu jenis logam berat yang disebut timah hitam. Timbal adalah logam yang lunak berwarna abu-abu kebiruan mengkilat dan memiliki bilangan oksidasi +2 (Sunarya, 2007). Timbal bersifat karsinogenik, dapat menyebabkan mutasi, tidak mudah terurai dan tingkat toksisitasnya tidak berubah. Timbal dapat mencemari udara, air, tanah, tumbuhan hewan bahkan manusia. Timbal juga bersifat neurotoksin yang dapat masuk dan terakumulasi dalam tubuh manusia ataupun hewan. Akumulasi logam berat Pb pada tubuh manusia yang terjadi secara terus menerus dapat mengakibatkan anemia, kemandulan, penyakit ginjal, kerusakan syaraf bahkan hingga kematian.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Juni 2018 –Nopember 2018 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila dan analisis pola spectra di Laboratorium Botani FMIPA Unila.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *spectrophotometer* yang digunakan untuk mengukur kurva pertumbuhan BFA dan pola spektra; dan *laminar airflow* untuk perlakuan yang memerlukan kondisi aseptik, termasuk inokulasi bakteri. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: media SWC, sukrosa, alcohol, dan lain-lain.

3.3 Pelaksanaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Teracak Sempurna (RTS) dengan isolat sebagai perlakuan yang diulang sebanyak tiga kali. Kegiatan yang dilakukan dalam penelitian terdiri dari beberapa tahap, yaitu isolasi BFA, pengamatan morfologi dan karakterisasi BFA, serta uji pengurangan H_2S , NO_2 , Hg, Pb dari perbedaan cekaman salinitas dan pH

Pengambilan Sampel

Sumber isolat yang diambil dari setiap lokasi adalah pada lumpur, air laut, daun bakau, akar bakau, daun dan batang tumbuhan disekitar bakau, ikan, kepiting dan udang dan dimasukkan ke dalam wadah bersih (botol) untuk mendapat perlakuan selanjutnya.

Isolasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik

Sebanyak kurang lebih 1 gram lumpur dan 1 ml air diinokulasi pada media SWC dengan komposisi : 5 gram bakto pepton, 1 gram ekstrak khamir, 3 ml gliserol, 250 aquades, 750 air laut dan 15 gram agar (media cair tanpa agar) (Widiyanto,2001) dalam tabung reaksi berulir sampai leher tabung atau sampai penuh sehingga tidak terdapat gelembung udara. Pada suhu 29-31°C selama 4-6 hari dan diinkubasi didepan lampu tungsten 40 watt pada jarak penyinaran 30-40 cm (Desiyana, 2000). Kemudian kultur yang mengandung BFA diisolasi pada media agar dalam cawan petri dengan menggunakan ose dan metode gores kuadran. Setelah itu cawan-cawan petri tersebut diinkubasi secara anaerobic fotosintetik di dalam anaerobic jar pada temperature dan lama inkubasi yang sama dengan langkah pertama. Koloni-koloni yang tumbuh diambil, kemudian dipisahkan dengan menanamnya kembali pada cawan petri yang berbeda untuk setiap koloni yang berbeda (Widiyanto, 1996). Perbedaan koloni tersebut dapat dibedakan berdasarkan perbedaan warna, tepi, permukaan dan bentuk koloni.

Uji Cekaman pH

Isolat BFA yang didapat, ditanam ke petri disk yang sudah berisi media SWC padat lalu diinkubasi secara anerobik fotosintetik di dalam aerobik jar dengan lama inkubasi selama 4-6 hari pada suhu 29-31°C. Koloni yang tumbuh kemudian diambil menggunakan ose, diinokulasi ke dalam petri disk yang berisi media SWC dengan perbedaan pH yaitu pH 4, 7 dan 10. Kemudian diseleksi dengan cara melihat pertumbuhan BFA dari ketiga parameter tersebut.

Uji Cekaman Salinitas

Isolat BFA diambil menggunakan tusuk gigi steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC agar yang dimodifikasi dengan NaCl konsentrasi 0, %, 3 % dan 6 %. Kultur kemudian diinkubasi selama 4-6 hari pada suhu 29 – 31°C. Pengamatan dilakukan pada ukuran koloni yang tumbuh (Triyanto, 2009).

Pengamatan Morfologi dan Karakterisasi BFA

Karakterisasi morfologi koloni dilakukan dengan pengamatan koloni sedangkan karakterisasi morfologi sel dilakukan dengan pengecatan Gram (Yulvizar, 2013). Perubahan Konsentrasi H₂S diukur menggunakan spektrofotometer berdasarkan metode phenylenediamine, yaitu 5 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,4 mL campuran reagen yang terdiri atas N.N-dimetil p-phenylaenediamine dan FeCl₃ dengan perbandingan 1 :1. Tabung reaksi yang berisi campuran tersebut ditutup lalu ditunggu selama 20 menit, setelah itu siap diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 670 nm (Golterman, 1978).

Uji Penurunan Konsentrasi H₂S

Media cair SWC dengan konsentrasi H₂S sebanyak 2 mg/L dibuat dengan menambahkan larutan 0,1 M Na₂S.7H₂O. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi berulir sampai penuh, kemudian diinokulasikan masing-masing isolat BFA dengan kepadatan 10 sel/mL. Tabung-tabung reaksi tersebut diinkubasi pada temperature (29-31°C) selama 4 – 6 hari secara fotosintetik (Widiyanto, 1996).

Uji Penurunan Konsentrasi Senyawa Nitri (NO₂)

Isolat murni BFA ditumbuhkan pada 100 ml media cair SWC di tabung reaksi yang mengandung nitri sebanyak 1,2,3, dan 4 ppm. Dengan jalan ditambahkan larutan standar kalium

nitrit (KNO_2). Sebanyak 100 μl suspensi BFA diinokulasikan dalam media SWC cair tersebut. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari. Pertumbuhan isolat diamati berdasarkan tingkat kekeruhan media dan sebagai kontrol media yang tidak diinokulasi isolat BFA setiap isolat dilakukan tiga kali ulangan. Isolat BFA yang mampu tumbuh pada media yang mengandung nitrit 4 ppm dilanjutkan dengan uji kemampuan reduksi nitrit.

Sebanyak 10 ml media cair SWC dengan kandungan nitrit 4 ppm dimasukkan ke dalam tabung reaksi berulir. Kemudian diinokulasikan 100 μl isolat BFA terseleksi dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 5 hari di depan lampu tungsten 40 watt. Konsentrasi nitrit dihitung berdasarkan metode kolometri dengan jalan memisahkan media dengan koloni sel BFA terlebih dahulu. Diambil 5 ml media dan ditambahkan 0,1 ml sulfanilamide dan 0,1 ml NED (*N-1-Naphthylwthylen diamin dihidrochlorid*). Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm dengan spektrofotometer. Sebagai kontrol media yang tidak diinokulasikan dengan isolat BFA. Selanjutnya dianalisis kemampuan isolat BFA dalam mereduksi senyawa nitrit (Widiyanto, 2001).

Uji Penurunan Konsentrasi Senyawa Ammonia

Isolat bakteri yang di dapat pada isolasi dioindahkan pada media bakteri pengoksidasi ammonia dengan komposisi sebagai berikut (g/L) : 50 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 6.60 g; 50 Mm KH_2PO_4 0,41 g; 1 M MgSO_4 0,75 ml, 1 M CaCl_2 0,20 mL; 30 Mm FESO_4 0,15 ml, 50 Mm EDTA 0,15 ml ; 50 Mm CuSO_4 0,01 ml. Sebanyak 100 μl suspensi BFA diinokulasikan dalam media SWC cair tersebut. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 4-6 hari. Pertumbuhan isolat diamati berdasarkan tingkat kekeruhan media dan sebagai kontrol media yang tidak diinokulasi isolat BFA setiap isolat dilakukan tiga kali ulangan. Isolat BFA yang mampu tumbuh pada media yang mengandung nitrit 4 ppm dilanjutkan dengan uji kemampuan reduksi ammonia. Bakteri pengoksidasi ammonia yang diperoleh dimurnikan dan disimpan sebagai stok pada suhu -20°C dengan penambahan 15% gliserol. Parameter yang diukur adalah Konsentrasi ammonia dan Jumlah koloni bakteri (CFU/mL) (Rusnam, dkk. 2009).

Uji Minimum Inhibitor Concentration (MIC) pada logam berat Hg

Uji penurunan konsentrasi logam berat Hg oleh bakteri dilakukan dengan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC). Metode yang digunakan adalah screening dengan menggunakan media SWC sebagai media pada cawan petri. Konsentrasi Hg yang digunakan untuk menentukan nilai MIC adalah 0, 5, 50, 100, 250 dan 500 mg/L yang telah disterilkan. Pengamatan terhadap bakteri pertumbuhan bakteri setelah 24 jam. Pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung Hg dibanding dengan media kontrol yang tidak mengandung Hg (Imron, dkk, 2016).

Uji *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) pada logam berat Pb (Timbal)

Uji penurunan konsentrasi logam berat Pb oleh bakteri dilakukan dengan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC). Metode yang digunakan adalah screening dengan menggunakan SWC sebagai media pada cawan petri. Konsentrasi timbal (Pb) yang digunakan untuk menentukan nilai MIC adalah 0, 5, 50, 100, 250 dan 500 mg/L yang telah disterilkan. Pengamatan terhadap bakteri pertumbuhan bakteri setelah 24 jam. Pertumbuhan bakteri pada media yang mengandung timbal dibanding dengan media kontrol yang tidak mengandung timbal (Imron, dkk, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan seleksi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik

Dari hasil pengamatan ada 10 koloni yang tumbuh pada media SWC agar, diperoleh 2 berwarna merah muda, 3 berwarna kuning, dan 1 berwarna jingga. Sebanyak 2 isolat berwarna merah muda, bulat dan ukurannya lebih besar, sedangkan 3 koloni berwarna kuning, bulat dan ukurannya lebih kecil serta 1 berwarna jingga, bulat dan ukurannya juga lebih kecil. Pada seleksi pH menunjukkan bahwa pada pH 4 semua isolate BFA tidak mampu tumbuh pada suasana asam. Pertumbuhan ditunjukkan pada pH 7 dan 10 namun pada isolat L1, D1 dan B4LM tidak mampu tumbuh. Sedangkan pertumbuhan paling baik terjadi pada isolate AS 1, AS 2, B2DM dan B3DK. Pada uji salinitas menunjukkan bahwa pada salinitas 0 % pertumbuhan

BFA cukup baik namun pada isolate B4LM, K1 dan K2 pertumbuhannya lambat sedangkan pada isolate D1 bakteri tidak mampu tumbuh. Pada Salinitas 3 % dan 6 % pertumbuhan seluruh isolat sangat baik namun hanya pada isolate D1 dan B3DK saja yang pertumbuhannya lambat. Bakteri BFA ini berpotensi untuk dijadikan sebagai bakteri probiotik untuk di tambak udang serta pupuk hayati bagi tanaman di daerah pasang surut (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil isolasi dan seleksi isolate bakteri BFA terhadap pH dan konsentrasi NaCl

No	KODE ISOLAT	pH media			Konsentrasi NaCl pada media		
		4	7	10	0%	3%	6%
1.	AS1	-	++	++	+	++	++
2.	AS2	-	++	++	++	++	++
3.	LL1	-	+	-	++	++	++
4.	LL2	-	+	+	++	++	++
5.	K1	-	+	+	+	++	++
6.	K2	-	+	+	+	++	++
7.	D1	-	-	-	-	+	+
8.	B2DM	-	++	++	+	++	++
9.	B3DK	-	++	++	++	+	+
10.	B4LM	-	+	-	+	++	++

Keterangan : (-) = Isolat tidak tumbuh
 (+) = Isolat tumbuh namun tidak subur
 (++) = Isolat tumbuh subur

Menurut (Seumahu *et al*, 1998), beberapa jenis bakteri fotosintetik anoksigenik diketahui dapat mengikat nitrogen bebas yang ada di alam dan dapat memenuhi suplai nitrogen bagi tumbuhan padi. Pada penelitian (Bai *et al*, 2006, dan Li *et al*, 2016) melaporkan bahwa suhu dan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *Rhodobacter sphaeroides* adalah 30-35°C dengan pH 7. Sedangkan bakteri *Rhodospseudomonas palustris* didapatkan pada air dengan salinitas 148 g kg⁻¹ (Burke C.M. and Burton, 1988).

Isolate bakteri dapat diperoleh dari berbagai sampel. Ada yang bersifat sebagai BFA dan yang dicurigai sebagai bacillus namun memiliki warna yang kemungkinan bersifat sebagai bakteri fotosintetik. Oleh karena itu bakteri ini berpotensi untuk digunakan sebagai pewarna alami (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram Kultur Isolat

No	Sampel	Kode Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
1.	Akar Serabut Mangrove 1	AS1	Positif	Basil
2.	Akar Serabut Mangrove 2	AS2	Negatif	Basil
3.	Lumpur Laut 1	LL1	Positif	Basil
4.	Lumpur Laut 2	LL2	Negatif	Basil
5.	Keong 1	K1	Negatif	Basil
6.	Keong 2	K2	Negatif	Basil
7.	Daun serasah Mangrove	D1	Negatif	Basil
8.	Bacillus Daun Isolate Merah	B2DM	Positif	Basil
9.	Bacillus Daun Isolat Kuning	B3DK	Positif	Basil
10.	Bacillus Lumpur Isolat Merah	B4LM	Positif	Basil

Pada penelitian (Sadi *dkk*, 2010) melaporkan bahwa isolat bakteri ungu lokal dari Pusat Penelitian Limnologi LIPI Cibinong memberikan peluang yang dapat digunakan sebagai agen coloring karena bakteri fotosintetik mengandung pigmen karotinoid . Kemudian berdasarkan pengecatan Gram didapatkan bahwa lima isolat bakteri ungu menunjukkan bentuk sel berbentuk batang dan termasuk Gram negatif.



Gambar 1. Isolat BFA dari Keong



Gambar 2. *Bacillus* sp. berwarna merah

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 10 isolat BFA yaitu AS1, AS2, LL1, LL2, K1, K2, D1, B2DM, B3DK, B4LM dari ekosistem hutan mangrove. Karakterisasi morfologi sel isolat yaitu basil dengan sifat gram positif untuk genus *Bacillus* sp. dan gram negative untuk kelompok BFA. Semua isolate hidup pada pH 7 dan 10, serta tidak mampu tumbuh pada pH 4. Semua Isolate BFA tumbuh pada salinitas 3% dan 6%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini telah didanai oleh hibah Pascasarjana -Universitas Lampung dengan Nomor kontrak: 1572/UN26.21/PP/2018 tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Bai, H., Zhang, Z., Yun, N., Wang, Y., Yang, G., 2007. *Studies on removal and transformation mechanism of lead by Rhodobacter sphaeroides*. Acta Sci. Circumstantiae 27, 608e 614 (in Chinese)
- Burke C.M., Burton H.R..1988. *Photosynthetic bacteria in meromictic lakes and stratified fjords of the Vestfold Hills, Antarctica*. In: Ferris J.M., Developments in Hydrobiology, vol 34. Springer, Dordrecht
- Giotta, Livia. Angela Agostiano, Fancesca Italiano, Francesca Milano, Massimo Trotta. 2006. Heavy Metal Ion Influence on The Photosynthetic Growth of Rhodobacter spaeroides. Journal Chemosphere. Vol. 62 (9) : 1490-1499.

Li, Xiaomin. Ewihua Peng, Yingying Jia, Lin Lu, Wenghong Fan. *Bioremediation of Lead Contaminated Soil with Rhodobacter sphaeroides*. Journal Chemosphere. Vol. 156 : 228-235.

Sadi, Nina Hermayani, Miratul Maghfiroh dan Tri Widiyanto. 2006. *Potential Use of Purple Bacteria as Carotenoid Source in Ornamental Fish Feed*. Jurnal Aqua Kultur. Bogor. Vol 9 (1) : 16-20.

Widiyanto, Tri. 2001. *Pendekatan Biokondisioner dengan Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA) untuk Pengendalian Senyawa Metabolik Toksik di Tambak Udang*. Disertasi. Program Pascasarjana/S3. IPB. Bogor.

Catatan :

Data yang lain sedang diambil, seperti pola spectra, pengaruh logam berat, penurunan H₂S, dll. Semua data diharapkan akan selesai pada bulan Desember 2018

DRAF MAKALAH SEMINAR NASIONAL 2018

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK PADA HUTAN MANGROVE DI HANURA LAMPUNG

Oleh

Sumardi^{*)}, Bambang Irawan, Rochmah Agustrina, dan Desfika Ardia Putri

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

Jl. Prof. Dr. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145

^{*)}E-mail: sumardi_bio@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui karakteristik isolat BFA dari habitatnya. Metode: Isolate diambil dari beberapa sampel hutan mangrove antara lain lumpur mangrove, lumur laut, akar mangrove, air laut, air mangrove, serasah daun mangrove, bunga mangrove, keong dan rajungan. Kemudian diisolasi secara anaerobic fotosintetik selama 4-5 hari pada suhu ruang pada medium SWC. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 10 isolat BFA yaitu AS1, AS2, LL1, LL2, K1, K2, D1, B2DM, B3DK, B4LM dari ekosistem hutan mangrove Hanura Lampung. Karakterisasi morfologi sel isolat yaitu basil dengan sifat gram positif untuk genus *Bacillus* sp. dan gram negative untuk kelompok BFA. Uji seleksi isolat menggunakan pH 4, 7 dan 10. Hasil menunjukkan isolat yang tidak mampu tumbuh hanya pada seleksi pH 4 saja. Pada uji salinitas hanya satu isolat yang tidak dapat tumbuh yaitu pada isolat BFA D1.

Kata kunci : Bakteri fotosintetik anoksigenik, Hutan Mangrove

This study aims to isolate and determine the characteristics of Anoxic photosynthetic bacteria from their habitat. Method: Isolate was taken from several samples of mangrove forest including mud, sea water, roots, leaf, flowers, snails and crabs. Then, sample inoculated to liquid SWC medium with anaerobic photosynthetically isolated for 4-5 days at room temperature . Based on the results of the study, we obtained 10 isolates were obtained, namely AS1, AS2, LL1, LL2, K1, K2, D1, B2DM, B3DK, B4LM from the Hanura Lampung mangrove forest ecosystem. The morphological characterization of isolate cells namely gram-positive bacilli for the genus *Bacillus* sp. and gram negative for the Anoxic photosynthetic bacteria group. The isolate selection test used pH 4, 7 and 10. The results showed that isolates were not able to grow only at pH 4 selection only. In the salinity test only one isolate could not grow, namely in the D1 isolate.

Keywords: Anoxic photosynthetic bacteria, mangrove forest

PENDAHULUAN

Provinsi Lampung memiliki panjang garis pantai sekitar 1.105 km yang membentuk 4 wilayah pesisir. Banyak masyarakat yang memanfaatkan daerah pantai untuk dijadikan budidaya perairan air payau seperti ikan kerapu, kakap, dan udang windu. Hutan mangrove menyimpan banyak manfaat yang bermanfaat bagi penduduk antara lain sebagai penahan abrasi pantai, gelombang pasang, dan tsunami. Selain itu hutan mangrove juga menyimpan banyak potensi untuk bidang mikrobiologi sebagai salah satu habitat bakteri fotosintetik anoksigenik. Menurut Widiyanto (2001), keberadaan bakteri fotosintetik anoksigenik mampu memanfaatkan senyawa toksik. Selain itu, BFA berpotensi cukup baik sebagai agen biokontrol (Yuhana, 2010), sebagai agen penurun logam berat (Giotta, *et al.* 2006), mampu menurunkan ion Cu hingga 36-76 % dan logam Cd hingga 44-96 % (Sadi, dkk. 2006). Berdasarkan latar belakang tersebut maka dirasa perlu mengisolasi dan mengkarakterisasi isolat BFA dari hutan mangrove di perairan Hanura Lampung.

METODE PENELITIAN

Persiapan sampel

Isolat diambil dari hutan mangrove Hanura Lampung pada titik koordinat 5°31'39" LS dan 105°14'54" BT antara lain lumpur laut, lumpur mangrove, akar mangrove, serasah daun mangrove, bunga, keong dan rajungan.

Masing-masing isolat diinokulasi dalam media SWC cair (5 gram bacto pepton, 1 gram yeast ekstrak, 3 ml gliserol, 250 ml aquades, 750 ml air laut). Kemudian kultur bakteri diinkubasi selama 4-5 hari didepan lampu tuntutsten pada jarak 30-40 cm. Setelah itu diambil 1 ose dari media cair tersebut dan di lakukan metode streak kuadran kedalam media SWC agar dan diinkubasi kembali selama 4-5 hari dalam anaerobik jar di depan lampu tutsen dengan jarak 30-

40 cm. Selanjutnya isolat dipindahkan pada media miring SWC agar untuk didapatkan isolat murninya (Widiyanto, 2001).

Karakterisasi

Isolasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA) diisolasi dan seleksi menggunakan media selektif Sea Water Complete (SWC) agar dan dimasukkan kedalam anaerobik jar fotosintetik.

Pertumbuhan koloni pada media SWC agar yang diduga sebagai BFA yaitu koloni yang berwarna merah muda, jingga, kuning, dan coklat. Koloni BFA yang tumbuh bebas pada media SWC agar ini dipindah ke media miring SWC agar. Kultur bakteri murni kemudian dikarakterisasi sel, morfologi koloni, serta sifat biokimiawi lainnya meliputi pengaruh pH dan salinitas. Karakterisasi bakteri menggunakan pengecatan Gram dengan melihat morfologi, warna koloni dan bentuk koloni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan seleksi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik

Dari hasil pengamatan ada 10 koloni yang tumbuh pada media SWC agar, diperoleh 2 berwarna merah muda, 3 berwarna kuning, dan 1 berwarna jingga. Sebanyak 2 isolat berwarna merah muda, bulat dan ukurannya lebih besar, sedangkan 3 koloni berwarna kuning, bulat dan ukurannya lebih kecil serta 1 berwarna jingga, bulat dan ukurannya juga lebih kecil. Pada seleksi pH menunjukkan bahwa pada pH 4 semua isolate BFA tidak mampu tumbuh pada suasana asam. Pertumbuhan ditunjukkan pada pH 7 dan 10 namun pada isolat L1, D1 dan B4LM tidak mampu tumbuh. Sedangkan pertumbuhan paling baik terjadi pada isolate AS 1, AS

2, B2DM dan B3DK. Pada uji salinitas menunjukkan bahwa pada salinitas 0 % pertumbuhan BFA cukup baik namun pada isolate B4LM, K1 dan K2 pertumbuhannya lambat sedangkan pada isolate D1 bakteri tidak mampu tumbuh. Pada Salinitas 3 % dan 6 % pertumbuhan seluruh isolat sangat baik namun hanya pada isolate D1 dan B3DK saja yang pertumbuhannya lambat. Bakteri BFA ini berpotensi untuk dijadikan sebagai bakteri probiotik untuk di tambak udang serta pupuk hayati bagi tanaman di daerah pasang surut (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil isolasi dan seleksi isolate bakteri BFA terhadap pH dan konsentrasi NaCl

No	KODE ISOLAT	pH media			Konsentrasi NaCl pada media		
		4	7	10	0%	3%	6%
1.	AS1	-	++	++	+	++	++
2.	AS2	-	++	++	++	++	++
3.	LL1	-	+	-	++	++	++
4.	LL2	-	+	+	++	++	++
5.	K1	-	+	+	+	++	++
6.	K2	-	+	+	+	++	++
7.	D1	-	-	-	-	+	+
8.	B2DM	-	++	++	+	++	++
9.	B3DK	-	++	++	++	+	+
10.	B4LM	-	+	-	+	++	++

Keterangan : (-) = Isolat tidak tumbuh

(+) = Isolat tumbuh namun tidak subur

(++) = Isolat tumbuh subur

Menurut (Seumahu *et al*, 1998), beberapa jenis bakteri fotosintetik anoksigenik diketahui dapat mengikat nitrogen bebas yang ada dialam dan dapat memenuhi suplai nitrogen bagi tumbuhan padi. Pada penelitian (Bai *et al*, 2006, dan Li *et al*, 2016) melaporkan bahwa suhu dan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *Rhodobacter sphaeroides* adalah 30-35°C dengan pH 7. Sedangkan bakteri *Rhodopseudomonas palustris* didapatkan pada air dengan salinitas 148 g kg⁻¹ (Burke C.M. and Burton, 1988).

Isolate bakteri dapat diperoleh dari berbagai sampel. Ada yang bersifat sebagai BFA dan yang dicurigai sebagai bacillus namun memiliki warna yang kemungkinan bersifat sebagai bakteri fotosintetik. Oleh karena itu bakteri ini berpotensi untuk digunakan sebagai pewarna alami (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram Kultur Isolat

No	Sampel	Kode Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
1.	Akar Serabut Mangrove 1	AS1	Positif	Basil
2.	Akar Serabut Mangrove 2	AS2	Negatif	Basil
3.	Lumpur Laut 1	LL1	Positif	Basil
4.	Lumpur Laut 2	LL2	Negatif	Basil
5.	Keong 1	K1	Negatif	Basil
6.	Keong 2	K2	Negatif	Basil
7.	Daun serasah Mangrove	D1	Negatif	Basil
8.	Bacillus Daun Isolate Merah	B2DM	Positif	Basil
9.	Bacillus Daun Isolat Kuning	B3DK	Positif	Basil
10.	Bacillus Lumpur Isolat Merah	B4LM	Positif	Basil

Pada penelitian (Sadi *dkk*, 2010) melaporkan bahwa isolat bakteri ungu lokal dari Pusat Penelitian Limnologi LIPI Cibinong memberikan peluang yang dapat digunakan sebagai agen coloring karena bakteri fotosintetik mengandung pigmen karotinoid . Kemudian berdasarkan pengecatan Gram didapatkan bahwa lima isolat bakteri ungu menunjukkan bentuk sel berbentuk batang dan termasuk Gram negatif.



Gambar 1. Isolat BFA dari Keong



Gambar 2. *Bacillus* sp. berwarna merah

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 10 isolat BFA yaitu AS1, AS2, LL1, LL2, K1, K2, D1, B2DM, B3DK, B4LM dari ekosistem hutan mangrove. Karakterisasi morfologi sel isolat yaitu basil dengan sifat gram positif untuk genus *Bacillus* sp. dan gram negative untuk kelompok BFA. Semua isolate hidup pada pH 7 dan 10, serta tidak mampu tumbuh pada pH 4. Semua Isolate BFA tumbuh pada salinitas 3% dan 6%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini telah didanai oleh hibah Pascasarjana -Universitas Lampung dengan Nomor kontrak: 1572/UN26.21/PP/2018 tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Bai, H., Zhang, Z., Yun, N., Wang, Y., Yang, G., 2007. *Studies on removal and transformation mechanism of lead by Rhodobacter sphaeroides*. Acta Sci. Circum-stantiae 27, 608e 614 (in Chinese)
- Burke C.M., Burton H.R..1988. *Photosynthetic bacteria in meromictic lakes and stratified fjords of the Vestfold Hills, Antarctica*. In: Ferris J.M., Developments in Hydrobiology, vol 34. Springer, Dordrecht
- Giotta, Livia. Angela Agostiano, Fancesca Italiano, Francesca Milano, Massimo Trotta. 2006. Heavy Metal Ion Influence on The Photosynthetic Growth of Rhodobacter spaeroides. Journal Chemosphere. Vol. 62 (9) : 1490-1499.
- Li, Xiaomin. Ewihua Peng, Yingying Jia, Lin Lu, Wenghong Fan. *Bioremediation of Lead Contaminated Soil with Rhodobacter sphaeroides*. Journal Chemospere. Vol. 156 : 228-235.
- Sadi, Nina Hermayani, Miratul Maghfiroh dan Tri Widiyanto. 2006. *Potential Use of Purple Bacteria as Carotenoid Source in Ornamental Fish Feed*. Jurnal Aqua Kultur. Bogor. Vol 9 (1) : 16-20.
- Widiyanto, Tri. 2001. *Pendekatan Biokondisioner dengan Bakteri Fotosintetik Anoksigenik (BFA) untuk Pengendalian Senyawa Metabolik Toksik di Tambak Udang*. Disertasi. Program Pascasarjana/S3. IPB. Bogor.

- Widiyanto, Tri. 1996. *Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Sebagai Biokondisioner di Tambak Udang: Pengurangan Produksi H₂S dan Pengaruhnya pada Pertumbuhan Vibrio hervey*. Thesis. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor.
- Seumahu, Cecilia, Antonius Suwanto, dan Aris Tjahjoleksono. *Charaterization of a Number of Anoxygenic Photosynthetic Bacteria Isolates for Biofertilizer in The Rice Field*. 1997. *Jurnal Hayati*. Vol 4 (3) : 67-71.
- Yuhana, M. 2010. *Biocontrol Agents in Aquacultur : Production and their application*. *Jurnal Akua kultur Indonesia*. Bogor. Vol. 9 No. 1 (16-20).

LAPORAN PENELITIAN

PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG



PENGARUH PAPARAN MEDAN MAGNET 0,2 mT PADA MEDIA YANG MENGANDUNG LOGAM (Fe, Al, Pb, Cd DAN Cu) TERHADAP AKTIVITAS *Bacillus* sp. DALAM MENGHASILKAN ENZIM PROTEASE

Berdasarkan Surat Penugasan Penelitian Pascasarjana Unila
Nomor kontrak: 809/UN26.21/PP/2017, Tanggal 27 Juli 2017

TIM PENGUSUL

Dr. Sumardi, M.Si	(Ketua)	NIDN 0025036505
Rochmah Agustrina, Ph.D	(Anggota)	NIDN 0003086102
Dr. Bambang Irawan, M.Sc	(Anggota)	NIDN 0003036504

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
NOPEMBER, 2017**

**HALAMAN PENGESAHAN PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS
LAMPUNG**

Judul Penelitian : Pengaruh Paparan Medan Magnet 0,2 mt pada Media yang Mengandung Logam (Fe, Al, Pb, Cd dan Cu) terhadap Aktivitas *Bacillus* sp. dalam Menghasilkan Enzim Protease

Kode/ Nama Rumpun Ilmu : 113/ Biologi

Bidang Unggulan PT : Ketahanan Pangan dan Pemberdayaan Masyarakat

Topik Unggulan : Ketahanan Pangan dan Pemberdayaan Masyarakat

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Dr. Sumardi, M.Si

b. NIDN : 0025036505

c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

d. Program Studi : Magister Biologi

e. Nomor HP : 085216391087

f. Alamat surel (e-mail) : sumardi_bio@yahoo.co.id

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Rochmah Agustina, Ph.D

b. NIDN : 0003086102

c. Program Studi : Magister Biologi

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Dr. Bambang Irawan, M.Sc

b. NIDN : 0003036504

c. Program Studi : Magister Biologi

Lama Penelitian : 6 bulan

Biaya Penelitian : Rp40.000.000,-

Bandar Lampung, 7 Nopember 2017

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pascasarjana Biologi

Ketua Peneliti,



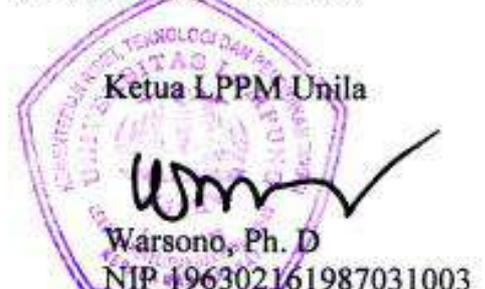
Dr. Sumardi, M.Si
NIP 196503251991031003

Dr. Sumardi, M.Si
NIP 196503251991031003



Direktur Pascasarjana Unila,
Prof. Mustofa Usman, Ph.D.
NIP 195701011984031020

Menyetujui



Ketua LPPM Unila
Warsono, Ph. D
NIP 196302161987031003

**IDENTITAS DAN URAIAN UMUM
PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG**

1. Judul Penelitian : Pengaruh Paparan Medan Magnet 0.2 mT pada Komponen Media Pertumbuhan terhadap Morfologi dan Aktivitas *Bacillus* sp. dalam Menghasilkan Enzim Protease

2. Tim Peneliti

No	Nama	Jabatan	Bidang keahlian	Program studi	Alokasi waktu (jam/minggu)
1	Dr. Sumardi, M.Si	Ketua	Mikrobiologi	Biologi	20
2	Rochmah Agustrina, Ph.D	Anggota – 1	Fisiologi Tumbuhan	Biologi	10
3	Dr. Bambang Irawan, M.Sc	Anggota – 2	Mikologi	Biologi	10

3. Objek Penelitian (jenis material yang akan diteliti dan segi penelitian): bahan media pertumbuhan bakteri dan karakteristik enzim protease

4. Masa Pelaksanaan

Mulai : bulan Juni tahun 2017

Berakhir : bulan Desember tahun 2017

5. Usulan Biaya : Rp40.000.000,-

6. Lokasi Penelitian (lab/studio/lapangan) : laboratorium Mikrobiologi

7. Instansi lain yang terlibat (jika ada, dan uraikan apa kontributornya)

8. Temuan yang ditargetkan lulusan S-2

Mahasiswa dapat melaksanakan presentasi di seminar internasional dan menulis temuannya pada jurnal internasional yang terindeks.

9. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu

Target khusus yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah mempelajari pengaruh medan magnet terhadap media pertumbuhan Bakteri *Bacillus* sp dan karakteristik enzimnya.

10. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran untuk setiap penerima Hibah Penelitian Pascasarjana (Nasional/ Internasional) Biotrophia

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
IDENTITAS DAN URAIAN UMUM	iii
DAFTAR ISI	iii
RINGKASAN	iv
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
BAB III. METODE PENELITIAN	6
BAB IV. HASIL PENELITIAN	14
BAB V. KESIMPULAN	16
DAFTAR PUSTAKA.....	16

RINGKASAN

Bacillus sp. termasuk salah satu spesies mikroba potensial dalam memproduksi enzim protease karena tidak menghasilkan toksin, mudah ditumbuhkan, tidak memerlukan substrat yang mahal dan mampu bertahan pada suhu tinggi. Enzim protease dihasilkan secara ekstraseluler oleh mikroorganisme dan mempunyai peranan penting dalam metabolisme sel, serta keteraturan proses dalam sel, sehingga enzim ini banyak digunakan untuk kepentingan komersial pada sektor industri. Aktivitas dan pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti komposisi media, pH, suhu, aliran listrik dan medan magnet. Faktor lingkungan lain seperti ion logam dapat berperan sebagai aktivator maupun inhibitor pada *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim protease.

Penelitian ini diharapkan dapat **memperbaiki kualitas Bakteri *Bacillus* sp sebagai probiotik** dengan cara pemberian pemaparan medan magnet pada substrat. Probiotik ini akan banyak bermanfaat dalam banyak bidang diantaranya peternakan, perikanan, budidaya tanaman, dan lain-lain.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap: Tahap pertama yaitu peremajaan *Bacillus* sp. Tahap kedua yaitu uji proteolitik dan perhitungan Indeks Proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media padat Mendels yang dimodifikasi. Ke dalam media Mendels yang digunakan ditambahkan logam berat FeCl₂, Al₂Cl₃, PbCl₂, CdCl₂ dan CuCl₂ yang dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit sebelum digunakan dengan masing-masing konsentrasi 10 ppm. Tahap ketiga yaitu produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam berat yang dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit. Aktivitas protease ditentukan menggunakan *spectrophotometer* UV pada panjang gelombang 578 nm . Perubahan morfologi sel *Bacillus* sp. dilakukan dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan perlakuan faktorial 2x5, yaitu paparan medan magnet (0 mT dan 0,2 mT) dan logam (kontrol, Fe, Al, Pb, Cd, Cu), masing-masing perlakuan dilakukan dengan tiga kali pengulangan.

Hasil penelitian ini telah diseminarkan di tingkat nasional / internasional dan direncanakan akan di publikasi pada Jurnal International Biotrophia.

Kata kunci: *Bacillus* sp., Protease, Medan magnet, Ion logam.

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Permasalahan

Protease merupakan salah satu enzim yang paling banyak digunakan dalam dunia industri. Secara komersial protease menduduki urutan tertinggi di antara enzim lainnya dan mencakup lebih dari 60% total penjualan enzim. Protease banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi, deterjen, pengolahan susu, roti, dan produk kedelai (Fuad dkk., 2004). Kebutuhan protease di Indonesia hampir 100% berasal dari impor dan nilai impor protease terus meningkat dari tahun ke tahun. Terdapat beberapa faktor atau kondisi yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, diantaranya unsur-unsur mineral, suhu dan waktu inkubasi. Budiyanah (2012) menyatakan, setiap mikroba menghasilkan enzim protease yang spesifik dengan karakteristik yang berbeda. Kisaran suhu untuk produksi enzim sangat bervariasi dengan suhu optimum yang juga berbeda, tergantung pada jenis mikroba. Enzim alkalin protease yang diperoleh dari cairan rumen sapi (CRS) mempunyai suhu optimum berkisar antara 50° C – 70° C dan pH optimum 6 untuk aktivitasnya. Hasil penelitian Utarti dkk. (2009) menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. B1 mulai meningkat aktivitasnya pada 6 jam inkubasi pertama dan maksimum setelah diinkubasi selama 30 jam, dan aktivitas isolat mulai menurun setelah waktu.

Kemampuan suatu mikroba dalam memproduksi enzim protease dapat ditingkatkan dengan cara mengoptimalkan faktor-faktor lingkungan seperti sumber karbon, suhu, pH, komposisi medium (Mubarik, 2010). Faktor lingkungan lain yang akhir-akhir ini banyak diteliti adalah medan magnet. Paparan medan magnet pada substrat media dapat mempengaruhi karakteristik pertumbuhan dan jumlah sel bakteri. Muhammad (1997) menyebutkan bahwa medan magnet dapat mempengaruhi komponen protein dan lipid membran sel mikroorganisme, sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim. Selain itu, diketahui juga bahwa kandungan ion logam dapat mempengaruhi aktivitas dan produksi enzim pada mikroba (Selfiana, 2016). Logam-logam yang diduga dapat mempengaruhi aktivitas *Bacillus* sp. antara lain Fe, Al, Pb, Cd dan Cu.

Pengaruh positif medan magnet terhadap aktivitas organisme telah banyak dibuktikan pada beberapa penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Rohma (2013), menunjukkan bahwa pemaparan medan magnet 0,1 mT selama 15 menit 36 detik dapat meningkatkan

aktivitas enzim α -amilase pada kacang merah dan buncis hitam. Penelitian yang dilakukan oleh Winandari (2011) menambahkan pemaparan medan magnet 0,2 mT pada benih tomat selama 7 menit 48 detik meningkatkan perkecambahan dan pertumbuhan tanaman tomat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Alkhazan dan Saddiq (2010) menyebutkan bahwa medan magnet yang diinduksikan pada proses pengolahan limbah cair diketahui dapat meningkatkan pH air limbah sehingga dapat mempengaruhi aktivitas enzim mikroorganisme. Penelitian yang telah dilakukan oleh Dali dkk (2010) menyebutkan bahwa pengaruh paparan medan magnet akan lebih kuat ketika media ditambahkan dengan kofaktor enzim yang berupa ion logam. Selfiana (2016) menambahkan bahwa pemaparan medan magnet 0,2 mT selama 10 menit pada ion logam Fe dapat meningkatkan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease. Berdasarkan hasil kajian diatas, maka diajukan proposal penelitian untuk mengetahui pengaruh paparan medan magnet 0,2 mT pada media yang mengandung logam Al, Pb, Cd dan Cu terhadap pertumbuhan dan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease.

1.2 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh paparan medan magnet 0,2 mT pada media yang mengandung logam Fe, Al, Pb, Cd dan Cu terhadap:

- a. nilai indeks proteolitik *Bacillus* sp.
- b. aktivitas protease *Bacillus* sp.
- c. morfologi sel *Bacillus* sp.

1.3 Urgensi (keutamaan) penelitian

Pengaruh Paparan medan magnet terhadap *Bacillus* penghasil protease ini belum banyak diteliti oleh para peneliti di dunia. Beberapa penelitian membuktikan bahwa, paparan medan magnet ini mempengaruhi karakteristik pertumbuhan dan jumlah sel pada fase stasioner. Medan magnet dapat mempengaruhi semua komponen membran sel mikroorganisme yang saling berinteraksi satu sama lain sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim (Muhammad, 1997). Paparan medan magnet dengan frekuensi 50 Hz dan kuat medan magnet 10 mT selama 60 menit mempengaruhi morfologi bakteri *Escherichia coli* gram negatif dan *Denitrificans Paracoccus* gram positif karena sel

koloni bakteri tersebut menjadi lebih besar. Paparan medan magnet lebih cepat terlihat pengaruhnya bila diperlakukan pada media nutrisi agar dibandingkan bila diperlakukan pada media kaldu cair (Fojt *et al.*, 2009). Perlakuan medan magnet 0.2 mT meningkatkan laju pertumbuhan dan mempengaruhi *Magnetospirillum magneticum* strain AMB-1 dalam menanggapi rangsang (Chen *et al.*, 2010).

Pengaruh pemaparan medan magnet 0.2 mT pada media untuk meningkatkan aktivitas *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim protease. Bakteri ini merupakan bakteri probiotik untuk pakan ayam. Target khusus yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah **memperbaiki kualitas *Bacillus* sp sebagai probiotik** dengan cara pemberian pemaparan medan magnet pada substrat pertumbuhannya.

1.4 Luaran penelitian

Penelitian ini sudah berjalan (on going) dan sebagian sudah selesai pekerjaan di laboratorium. Mahasiswa sudah melaksanakan seminar usul dan makalah telah diseminarkan di kegiatan seminar tingkat internasional yakni “International Conference on Applied Sciences Mathematics and Informatics Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Lampung” pada 13-15 July 2017 | Bandar Lampung, Indonesia. Bukti-bukti pelaksanaan tersebut ada di lampiran. Direncanakan di akhir bulan oktober 2017 ini sudah seminar hasil dan submit ke jurnal internasional yang terindeks “Biotrop”.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Probiotik

Awal penelitian dimulai dengan melakukan eksplorasi bakteri yang terdapat pada usus ayam kampung (Hibah Fundamental 2007-2008). Eksplorasi tersebut dilakukan atas dasar kemampuan ayam kampung yang tahan terhadap serangan penyakit. Dari penelitian tersebut diperoleh beberapa isolat bakteri yang terdiri dari *Bacillus* sp, *Lactobacillus*, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Geotricum* sp, dan yeast. Pengujian karakterisasi mikroba tersebut diketahui ada yang menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler seperti amilase, selulase, lipase, dan

selulase. Disamping itu juga ada yang menghasilkan antimikroba. Kemampuan karakteristik tersebut apabila digabungkan akan mendatangkan keuntungan yakni dapat mikroba mikroba patogen yang akan menyerang pada usus ayam (Sumardi dan Ekowati, 2008).

Disamping itu selama ini produk-produk probiotik untuk unggas kebanyakan diimpor dari luar negeri. Sehingga kemampuan memproduksi probiotik untuk kebutuhan dalam negeri tentu sangat diharapkan. Beberapa mikroba probiotik telah diperjual belikan secara komersial berasal dari luar negeri. Probiotik tersebut berupa tunggal (hanya satu macam mikroba probiotika) dan bentuk campuran (lebih dari satu macam mikroba). Sebagai contoh “Probiolac” (produksi Intervet, salem India) terdiri dari *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Aspergillus oryzae*, *Streptococcus faecium* dan *Torulopsis spp.*(Panda *et al.*, 2003). “Protexin” (produksi Novartis probiotics international, UK) terdiri dari *Lactobacillus plantarum*, *L.delbruecki subspecies bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifodobacterium bifidum*, *Stretococcus salivarius subspecies thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Aspergillus oryzae* dan *Candida pentolepsi* (Balevi *et al.*, 2001; Fuller, 1999), serta masih banyak lagi jenis probiotika komersial yang lain. Penelitian lain oleh Asli dkk (2007) tentang probiotik yeast *Saccharomyces cerevisiae* yang dikombinasikan dengan vitamin E dan C membuktikan bahwa terjadi peningkatan titer antibody dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik tersebut mampu meningkatkan daya tahan tubuh unggas. Kemudian Ahsani dkk., (2013) juga membuktikan bahwa penggunaan berbagai jenis probiotik dalam ransum pada ayam Arab mampu menurunkan kadar lemak kuning telur. Bakteri *Bacillus* sp. memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menurunkan kadar lemak dibandingkan dengan bakteri *Lactobacillus* sp. Namun penggunaan berbagai jenis probiotik belum mampu menurunkan kolesterol kuning telur ayam arab. Selanjutnya kami, juga telah dilakukan penelitian uji kemampuan bakteri *Bacillus* terhadap menghambat bakteri patogen baik secara *in vitro* dan *in vivo* (pada broiler). Dari penelitian sebelumnya kami telah berhasil membuat formula mikroba probiotik yang terkemas dengan baik namun hasilnya kurang memuaskan dan perbaikan terus diupayakan.

Pengaruh Medan Magnet terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Mikroba

Medan magnet adalah suatu medan atau lapangan yang dapat menimbulkan gaya pada benda atau partikel bermuatan listrik. Medan magnet alami dapat diperoleh dari bumi dengan kutub magnet di Kutub Utara dan Selatan dan dapat pula dihasilkan dari arus listrik yang mengalir dalam kawat (Soesanto, 1996). Besarnya nilai medan magnet yang diperoleh dari aliran listrik dipengaruhi oleh kuat arus listrik yang masuk. Semakin besar arus yang mengalir

semakin besar medan magnet dan nilainya bervariasi sesuai dengan daya yang diserap oleh peralatan listrik (Sudarti dkk., 2014).

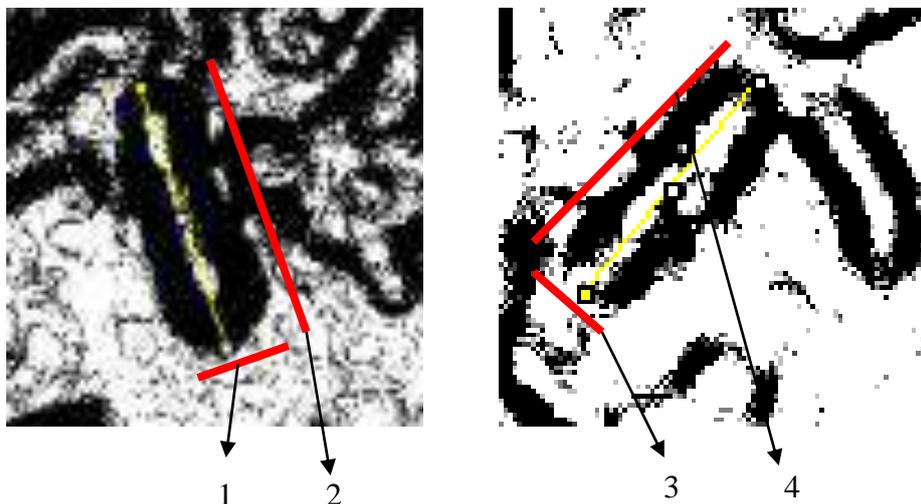
Induksi medan magnet pada sel biologis dapat mengakibatkan konversi energi karena adanya interaksi *hyperfine* yaitu interaksi antara momen magnetik proton dan elektron. Selain itu, paparan medan magnet dapat memberikan tambahan energi bagi sel (Dwi dkk., 2013).

Pemberian medan magnet berpengaruh langsung terhadap aktivitas metabolisme sel. Secara umum, medan magnet mempengaruhi arah migrasi dan mengubah pertumbuhan, mengubah aliran ionik melalui membran sehingga mengakibatkan perubahan kecepatan reproduksi sel (Sudarti dkk., 2014). Beberapa peneliti menduga bahwa tempat reaksi medan magnet dalam sistem biologi adalah plasma elektromagnetik membran (Setyasih dkk., 2013). Medan magnet dapat mengubah karakteristik membran sel, mempengaruhi reproduksi sel, menyebabkan perubahan pada metabolisme sel serta mempengaruhi karakteristik pertumbuhan seperti kualitas mRNA, ekspresi gen, sintesis protein dan aktivitas enzim (Setyasih dkk., 2012). Medan magnet juga dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim peroxidase, katalase and superoxide dismutase (Li *et al.*, 2015). Kekuatan medan magnet yang diberikan pada bakteri harus tepat karena jika terlalu besar justru akan menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Medan magnet dilaporkan dapat membunuh mikroba patogen yang terdapat di dalam bahan makanan seperti *Salmonella typhimurium* (Sudarti dkk., 2014). Menurut Setyasih dkk. (2013) perlakuan kuat medan magnet yang terlalu tinggi dan dalam paparan waktu yang tidak tepat akan menyebabkan metabolisme yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan sel atau menyebabkan perubahan pada struktur membran. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri terhambat secara signifikan dengan pemberian perlakuan medan magnet sebesar 150 G (Sutariningsih dkk., 2007). Persentase kematian populasi *S. typhimurium* cukup tinggi yaitu 33.14% pada pemberian medan magnet dengan intensitas 646.7 μ T, dimana semakin besar intensitas yang digunakan maka semakin besar pula kematian jumlah mikroorganisme. Kematian mikroba dikarenakan medan magnet disebabkan oleh rusaknya struktur sel pada mikroba seperti membran sel (Sudarti dkk., 2014).

Nascimento *et al.* (2003) menyatakan terjadi peningkatan pertumbuhan *E. coli* setelah terpapar medan magnet selama 8 jam dikarenakan medan magnet memperpendek fase lag dan lebih mempercepat mulainya fase log pada pertumbuhan mikroba. Akibatnya, pada akhirnya fase log akan terjadi lebih panjang dan meningkatkan jumlah koloni untuk tumbuh. Efek

medan magnet terhadap pertumbuhan dan reproduksi mikroba diklasifikasikan menjadi: (1) *inhibitory*, (2) *stimulatory* dan (3) *none observable* (Muchtadi dkk., 2013).

Medan magnet juga diketahui dapat mengubah anatomi sel mikroba seperti perubahan panjang dan diameter. Paparan ELF-MF pada *Salmonella typhimurium* menurunkan rata-rata panjang dan diameter sel masing-masing dari panjang 6.312 μm menjadi 4.341 μm dan diameter dari 1.535 μm menjadi 1.148 μm (Sudarti dkk., 2014). Pada bakteri *E. coli* dimana terjadi penurunan panjang sel *E. coli*, paparan medan magnet selama 6 jam menurunkan ukuran panjang sel sedangkan paparan medan magnet selama 16 jam meningkatkan ukuran panjang sel karena ketebalan dinding sel berkurang dan sebagian besar komponen sitoplasma menghilang (Gaafar *et al.*, dalam Sudarti dkk., 2014).



Gambar 1. Perubahan Ukuran Sel akibat ELF-MF: (1) Diameter Sel Normal, (2) Panjang Sel Normal, (3) Panjang Sel setelah Terpapar ELF-MF, dan (4) Diameter Sel setelah Terpapar ELF-MF (Sudarti dkk., 2014)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Juni 2017 – Agustus 2017 di Laboratorium

Mikrobiologi FMIPA Unila dan analisis uji Enzim dilakukan di Laboratorium Botani

FMIPA Unila.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *spectrophotometer* yang digunakan untuk mengukur kurva pertumbuhan *Bacillus* sp. dan aktivitas enzim protease; inkubator untuk menginkubasi bakteri pada suhu yang terkontrol; dan *laminar airflow* untuk perlakuan yang memerlukan kondisi aseptik, termasuk inokulasi bakteri, kumparan medan magnet sebesar 0.2 mT untuk pemberian treatment pada *Bacillus* sp.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: isolat *Bacillus* sp. yang diperoleh dari koleksi biakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila. Media untuk kultur yaitu media Mendels (Mendels dan Elwyn, 1956) yang dimodifikasi (Lampiran 1) .

3.3 Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap (Gambar 3). Tahap pertama yaitu peremajaan *Bacillus* sp. penghasil protease pada media miring padat Mendels yang dimodifikasi. Tahap kedua yaitu uji proteolitik dan perhitungan Indeks Proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media padat Mendels yang dimodifikasi. Ke dalam media Mendels yang digunakan ditambahkan logam $AlCl_3$, $PbCl_2$, $CdCl_2$ dan $CuCl_2$ yang dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit sebelum digunakan dengan konsentrasi masing-masing logam adalah 10 ppm. Tahap ketiga yaitu produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam yang dipapar medan magnet 0,2 mT selama 10 menit dan konsentrasi logam yang digunakan sama dengan perlakuan pada tahap 2. Aktivitas protease ditentukan menggunakan *spectrophotometer* UV pada panjang gelombang 578 nm (Widowati dkk., 2001).

1. Tahap Pertama

Tahap pertama adalah peremajaan bakteri *Bacillus* sp. penghasil protease yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila. Peremajaan bakteri *Bacillus* sp. akan dilakukan pada media miring. Sebanyak satu ose stok isolate

diambil secara aseptis dan diinokulasikan pada media miring Mendels yang dimodifikasi di dalam tabung reaksi steril. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam.

2. Tahap Kedua

Pada tahap kedua dilakukan uji proteolitik dan perhitungan Indeks Proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media padat Mendels yang dimodifikasi. Logam AlCl_3 , PbCl_2 , CdCl_2 dan CuCl_2 yang telah dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit ditambahkan ke dalam media Mendels yang dimodifikasi.

a) Uji proteolitik pada media padat Mendels yang dimodifikasi

Uji proteolitik terdiri dari beberapa tahapan perlakuan sebagai berikut:

Perlakuan 1 (P_0L_0). Perlakuan P_0L_0 merupakan perlakuan kontrol dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi tidak diberi paparan medan magnet dan tidak diberi logam.

Perlakuan 2 (P_1L_0). Perlakuan P_1L_0 merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit tetapi tanpa diberi logam.

Perlakuan 3 ($\text{P}_0\text{L}_{\text{Al}}$). Perlakuan $\text{P}_0\text{L}_{\text{Al}}$ merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam AlCl_3 . Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 4 ($\text{P}_1\text{L}_{\text{Al}}$). Perlakuan $\text{P}_1\text{L}_{\text{Al}}$ merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam AlCl_3 . Logam AlCl_3 dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Perlakuan 5 (P₀L_{Pb}). Perlakuan P₀L_{Pb} merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam PbCl₂. Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 6 (P₁L_{Pb}). Perlakuan P₁L_{Pb} merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam PbCl₂. Logam PbCl₂ dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Perlakuan 7 (P₀L_{Cd}). Perlakuan P₀L_{Cd} merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CdCl₂. Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 8 (P₁L_{Cd}). Perlakuan P₁L_{Cd} merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CdCl₂. Logam CdCl₂ dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Perlakuan 9 (P₀L_{Cu}). Perlakuan P₀L_{Cu} merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CuCl₂. Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 10 (P₁L_{Cu}). Perlakuan P₁L_{Cu} merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CuCl₂. Logam CuCl₂ dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Pengamatan keberadaan zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni bakteri dilakukan setelah kultur bakteri diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C.

b) Perhitungan Indeks Proteolitik (IP)

Indeks Proteolitik (IP) merupakan ukuran yang menunjukkan nisbah antara diameter zona jernih terhadap diameter koloni (Durham *et al.*, 1987). Nilai IP isolat ≥ 3 menunjukkan bahwa isolat memiliki potensi besar dan maksimal sebagai sumber protease (Said dan Likadja, 2012).

Indeks proteolitik dapat dihitung menggunakan rumus:

$$IP = \frac{B}{A}$$

Ket :

IP : Indeks Proteolitik

A : Diameter Koloni

B : Diameter Zona Jernih (Sumardi dan Dewi, 2010).

3. Tahap Ketiga

Tahap ketiga yaitu produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam $AlCl_3$, $PbCl_2$, $CdCl_2$, $CuCl_2$ dengan masing-masing konsentrasi yang digunakan adalah 30 ppm, 30 ppm, 30 ppm, 30 ppm. Medan magnet 0,2 mT dipaparkan pada logam $AlCl_3$, $PbCl_2$, $CdCl_2$, dan $CuCl_2$ selama 10 menit sebelum digunakan. Aktivitas protease ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 578 nm.

a) Produksi Enzim Protease pada Media Cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi Logam (Al, Pb, Cd,Cu) yang terpapar Medan Magnet 0,2 mT selama 10 menit

Produksi enzim protease dilakukan dengan menginokulasikan 5 ml starter *Bacillus* sp.pada 45 ml media cair Mendels yang dimodifikasi dengan perlakuan medan magnet dan logam sebagai berikut:

Perlakuan 1 (P₀L₀). Perlakuan P₀L₀ merupakan perlakuan kontrol dimana media cair Mendels yang dimodifikasi tidak diberi paparan medan magnet dan tidak diberi logam.

Perlakuan 2 (P₁L₀). Perlakuan P₁L₀ merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit tetapi tanpa diberi logam.

Perlakuan 3 (P₀L_{Al}). Perlakuan P₀L_{Al} merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam AlCl₃. Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 4 (P₁L_{Al}). Perlakuan P₁L_{Al} merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam AlCl₃. Logam HgCl₂ dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Perlakuan 5 (P₀L_{Pb}). Perlakuan P₀L_{Pb} merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam PbCl₂. Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 6 (P₁L_{Pb}). Perlakuan P₁L_{Pb} merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam PbCl₂. Logam PbCl₂ dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Perlakuan 7 (P₀L_{Cd}). Perlakuan P₀L_{Cd} merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CdCl₂. Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 8 (P₁L_{Cd}). Perlakuan P₁L_{Cd} merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CdCl₂.

Logam CdCl_2 dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Perlakuan 9 ($\text{P}_0\text{L}_{\text{Cu}}$). Perlakuan $\text{P}_0\text{L}_{\text{Cu}}$ merupakan perlakuan dengan menggunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CuCl_2 . Baik media maupun logam tidak dipapar medan magnet.

Perlakuan 10 ($\text{P}_1\text{L}_{\text{Cu}}$). Perlakuan $\text{P}_1\text{L}_{\text{Cu}}$ merupakan perlakuan dengan menggunakan media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi logam CuCl_2 . Logam CuCl_2 dipapar medan magnet 0.2 mT selama 10 menit sebelum digunakan.

Semua perlakuan kultur diinkubasi dalam inkubator goyang dengan kecepatan 120 rpm pada suhu 40°C selama 24 jam (Selfiana, 2016).

Ekstraksi enzim protease dilakukan dengan cara menyentrifugasi media cair dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C . Sentrifugasi medium cair akan mengendapkan sel karena adanya gaya gravitasi. Supernatan yang mengandung enzim akan digunakan sebagai sampel uji aktivitas enzim protease (Yusufa dkk., 2013).

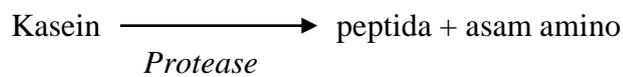
b) Uji Aktivitas Protease

Uji aktivitas protease dilakukan dengan mengukur kadar asam amino sebagai produk hidrolisis protein dalam susu skim oleh enzim protease (Soeka dan Sulistiyani, 2014).

Uji aktivitas protease dimulai dengan mengambil 0.1 ml protease yang kemudian ditambahkan pada campuran 0.5 ml substrat kasein dalam buffer fosfat 0.01 M pH 7 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu ditambah 0.5 ml TCA 0.1 M kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit.

Kemudian diambil 0.375 ml supernatan dan ditambah dengan 1.25 ml larutan Na_2CO_3 0.4 M dan 0.25 ml pereaksi Folin, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Supernatan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm (Bergmeyer dan Grassl, 1983).

Prinsip kerja pengukuran aktivitas protease dengan menggunakan metode Bergmeyer dan Grassl (1983) yaitu kasein dalam media sebagai substrat dihidrolisis oleh protease dengan bantuan air menjadi peptide dan asam amino.



Tabel 1. Metode Pengujian Aktivitas Enzim Protease

	Blanko (ml)	Standar (ml)	Sampel (ml)
Substrat Kasein dalam Buffer Fosfat (0,1 M, pH 7)	0,5	0,5	0,5
Enzim	-	-	0,1
Tirosin standar	-	0,1	-
Aquades	0,1	-	-
Inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit			
TCA (0,1 M)	0,5	0,5	0,5
Enzim	0,1	0,1	-
Aquades	-	-	0,1
Inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada 10000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C			
Supernatan	0,375	0,375	0,375
Na_2CO_3 (0,4 M)	1,25	1,25	1,25
Pereaksi Folin (1:2)	0,25	0,25	0,25
Diamkan selama 20 menit pada suhu 37°C , kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm			

Aktivitas protease dihitung dalam satuan PU (Protease Unit) per ml ekstrak enzim (Djajasukma, 1993).

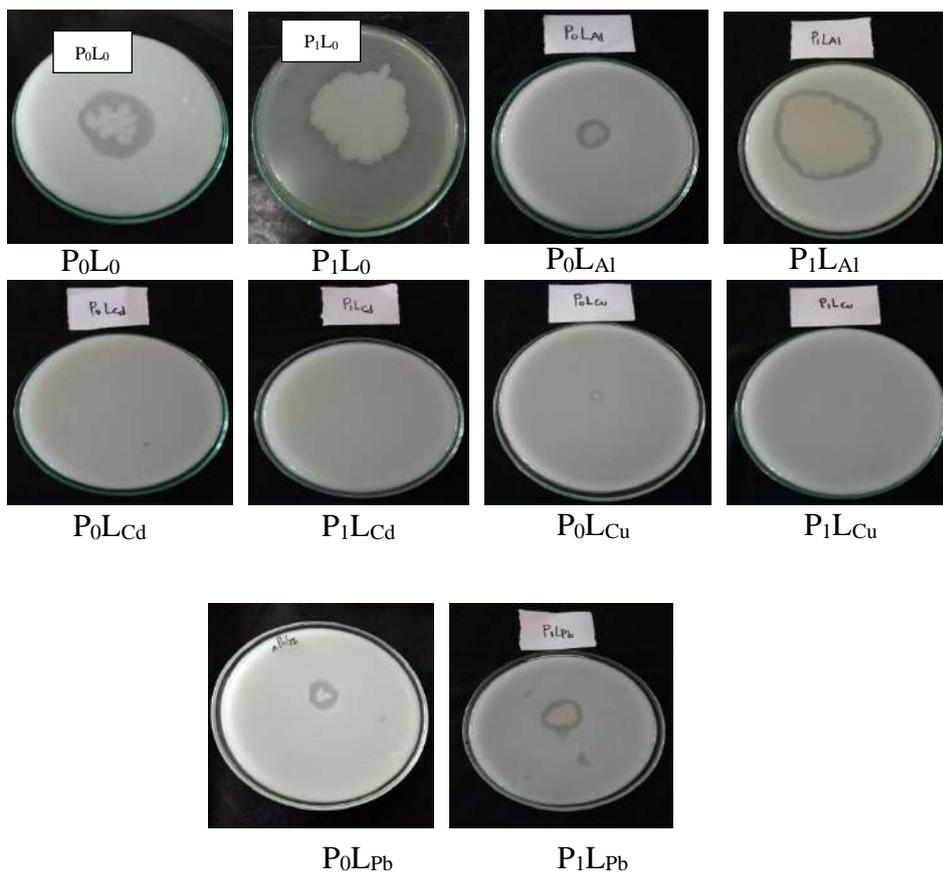
$$PU = \frac{Asp - Abl}{Ast - Abl} \times \frac{1}{T}$$

Keterangan :

PU : Unit Aktivitas Protease (Unit/ml)
 Asb : Nilai Absorbansi Sampel
 Ast : Nilai Absorbansi Standard
 Abl : Nilai Absorbansi Blanko
 T : Waktu

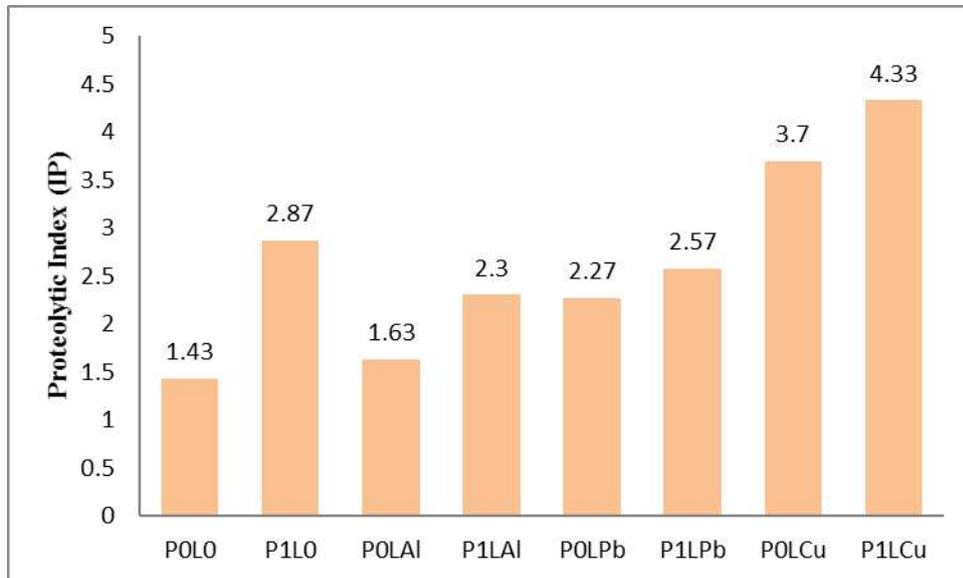
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Masing-masing bakteri menghasilkan zona jernih di sekitar koloni. Keberadaan zona jernih menunjukkan terbentuknya protease. Namun pada perlakuan pemberian logam Cadmium (Cd) tidak ada bakteri yang tumbuh (Gambar 1).



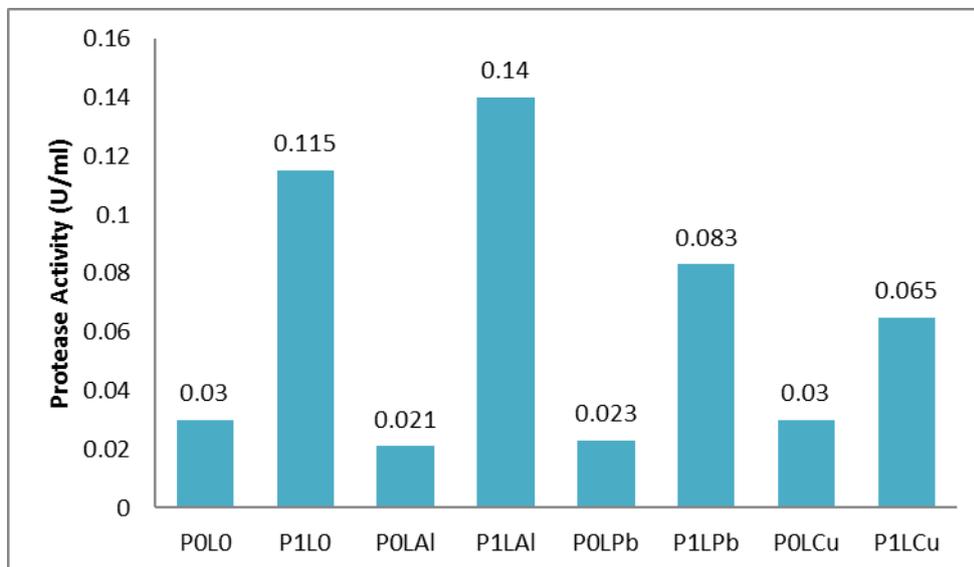
Gambar 1. Zona jernih pada koloni bakteri

Hasil penghitungan indeks proteolitik *Bacillus* sp. pada medium yang diberi medan magnet menunjukkan bahwa logam yang diberi medan magnet menghasilkan indeks proteolitik yang terbesar. Sedangkan logam Al menghasilkan indeks proteolitik yang kecil.



Gambar 2. Hasil penghitungan indeks proteolitik *Bacillus* sp.

Sedangkan rata-rata aktivitas protease *Bacillus* sp. dalam media cair menghasilkan terbaik pada media yang mengandung Al yang diberi perlakuan medan magnet.



Gambar 3. Hasil perhitungan aktivitas enzim protease *Bacillus* sp.

BAB 5. KESIMPULAN

Pemaparan medan magnet 0.2 mT selama 10 minutes pada medium padat yang mengandung ion Cu menghasilkan indeks proteolitik tertinggi. Sedangkan pada medium cair , aktivitas enzim protease dihasilkan oleh medium yang mengandung ion Al yaitu sebesar 0.14 U /ml,

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsani M., , Iriyanti N, dan Mugiyono S. 2013. penggunaan berbagai jenis probiotik dalam ransum terhadap kadar lemak dan kolesterol kuning telur ayam arab. jurnal ilmiah peternakan 1(1):323-331,
- Alkhazan. M.M.K. and Saddiq, A. A.N. 2010. The Effect Magnetic Field on the Physical, Chemical, and Microbiological Properties of the Lake Water in Saudi Arabia. *Journal of Evolutionary Biology Research* Vol 2 (1), pp. 7-14. ISSN 2141-6583.
- Asli, M.M., Hosseini S A, Lotfollahian H and Shariatmadari F. 2007. Effect of Probiotics, Yeast, Vitamin E and Vitamin C Supplements on Performance and Immune Response of Laying Hen During High Environmental Temperature. *International Journal of Poultry Science* 6 (12): 895-900, ISSN 1682-8356
- Balevi, T., U.S.U. An, B. Coşkun, V.Kurtoğlu and S.S. Etingul, 2001. Effect of dietary probiotic on performance and humoral immune response. *British Poult. Sci.* 42:456-461.
- Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive Methode For The Quantitationof Microgram quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein –Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254
- Dali, S., R. Arafah, A. Karim dan A. R. Patong. 2010. Karakterisasi Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Termofilik *Bacillus substilis*. *Jurnal repository Universitas Hasanudin*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA. Universitas Hasanudin
- Dwi, N. 2013. Potensi Induksi Medan Magnet Eksternal Untuk Efektivitas Fotoinaktivasi Bakteri Patogen. *Journal of Physics and Application*. Vol. I No.3
- Fuad, A.M., R. Rahmawati dan N.R. Mubarik. 2004. Produksi dan Karakterisasi Parsial Protease Alkali Termotabil *Bacillus thermoglucosidasius* AF-01. *Journal Mikrobiology Indonesia* 9(1), 29-35.
- Lie, Jie. 2015. Study on the effect of magnetic field treatment of newly isolated *Paenibacillus* sp. *Botanical Studies* (2015) 56:2
- Mubarik, N.R., 2001. Pemurnian dan Karakterisasi Protease ekstraseluler dari isolate bakteri termofilik GP-04. *Disertasi. IPB. Bogor*.

- Muchtadi, T.R. & Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses dan Teknologi Pangan*. Bandung: Alfabeta.
- Muhammad, A. A., F. M. Ali, E. A. Gaafar, and H.R. Magda. 1997. Effects of Magnetic Field on the Biophysical, Biochemical Properties and Biological Activity of *Salmonella typhi*. *Master thesis submitted for Biophysics department, Faculty of Science*. Cairo University. Egypt.
- Nailola, E dan Nunuk W. 2007. Semi Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Protease *Bacillus* sp.. *Jurnal Bidang Mikrobiologi LIPI*. 13(51-56).
- Nascimento, L.F.C., Botura, Jr.G., & Mota, R.P. 2003. "Glucose consume and growth of *e.coli* under electromagnetic field". *Rev. Inst.Med. trop. S. Paulo* 45(2): 65-67.
- Panda, A.K., M.R. Reddy, S.V. Rama Rao and N.K. Praharaj, 2003. Production performance, serum/yolk cholesterol and immune competence of white leghorn layers as influenced by dietary supplementation with probiotic. *Trop. Anim. Health and Prod.* 35: 85-94.
- Rohma, Aulia. 2013. Pengaruh Medan Magnet Terhadap Aktivitas Enzim α - Amilase Pada Kecambah Kacang Merah Dan Kacang Buncis Hitam (*Phaseolus vulgaris* L.). *Skripsi*. Fakultas MIPA, Universitas Lampung.
- Soesanto, S.S. 1996. Medan Elektromagnet. *Artikel Media Litbang. Vol II No. 03: 1-12*
- Said, M.I dan J.C. Likadja. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi Sebagai Penghasil Enzim Protease Pada Industri Penyamakan Kulit PT. Adhi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta. *JITP Vol. 2 No. 2*. UGM
- Setyasih, Nevi, Rochmah Agustrina, Tundjung Tripeni Handayani dan Eti Ernawati. 2013. Pengaruh Medan Magnet 0,3 mT terhadap Stomata Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Sumardi dan C N Ekowati. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Flora Normal Saluran Gastrointestinal Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) untuk Probiotik. Makalah disajikan pada Seminar dan Rapat Tahunan (SEMIRATA) Badan Kerjasama PTN Wilayah Barat Bidang Ilmu MIPA di Universitas Bengkulu, 13 - 14 Mei 2008
- Sudarti, Nurhayati, Eka Ruriani, Vonni Triana Hersa: 2014. Prevalence of Salmonella Typhimurium on Gado-Gado Seasoning by Treatment of Extremely Low Frequency (ELF) Magnetic Field. *Artikel-ELF-Salmonella*. Jember University
- Sudaryati Soeka, Yati, Sri Hartin Rahayu, Ninu Setianingrum, Elidar Naiola. 2011. Kemampuan *bacillus licheniformis* dalam Memproduksi enzim protease yang bersifat Alkalin dan termofilik. *Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 2*
- Sumardi, L., dan Dewi. 2009. *Isolasi Bacillus Penghasil Protease Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung*. Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat. Unila.
- Sutariningsih, Endang. 2012. Potensi Pengguna Magnetic Pengguna Fe dan Hg. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada.
- Winandari, O.P. 2011. Perkecambah dan Pertumbuhan Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) di Bawah Pengaruh Lama Pemaparan Medan Magnet yang Berbeda. *Skripsi*.

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Lampung. Bandar Lampung.

Yusufa, Mohammad H., Masdiana C. Padaga, Dyah A. Octavianie. 2012. Identifikasi dan studi aktivitas protease *Bacillus sp* asal limbah cair rumah potong ayam tradisional sebagai kandidat penghasil biodeterjen. Universitas Brawijaya

LAPORAN AKHIR

PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG



PENGARUH PAPARAN MEDAN MAGNET 0.2 mT PADA KOMPONEN SENYAWA
MEDIA PERTUMBUHAN TERHADAP MORFOLOGI DAN AKTIVITAS *Bacillus* sp.
DALAM MENGHASILKAN ENZIM PROTEASE

TIM PENGUSUL

Dr. Sumardi, M.Si	(Ketua)	NIDN 0025036505
Rochmah Agustrina, Ph.D	(Anggota)	NIDN 0003086102
Dr. Bambang Irawan, M.Sc	(Anggota)	NIDN 0003036504

Berdasarkan Surat Penugasan Penelitian Pascasarjana Unila
Nomor kontrak: 963/UN26.21/PP/2016, Tanggal 28 oktober 2016

PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2016

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN PASCASARJANA UNIVERSITAS LAMPUNG**

Judul Penelitian : Pengaruh Paparan Medan Magnet 0.2 mT pada Komponen Media Pertumbuhan terhadap Morfologi dan Aktivitas *Bacillus* sp. dalam Menghasilkan Enzim Protease

Kode/ Nama Rumpun Ilmu : 113/ Biologi

Bidang Unggulan PT : Ketahanan Pangan dan Pemberdayaan Masyarakat

Topik Unggulan : Ketahanan Pangan dan Pemberdayaan Masyarakat

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Dr. Sumardi, M.Si

b. NIDN : 0025036505

c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

d. Program Studi : Magister Biologi

e. Nomor HP : 085216391087

f. Alamat surel (e-mail) : sumardi_bio@yahoo.co.id

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Rochmah Agustrina, Ph.D

b. NIDN : 0003086102

c. Program Studi : Magister Biologi

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Dr. Bambang Irawan, M.Sc

b. NIDN : 0003036504

c. Program Studi : Magister Biologi

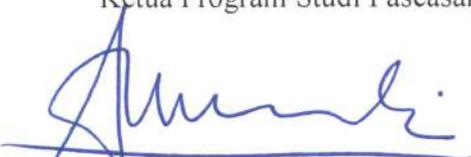
Lama Penelitian : 4 bulan

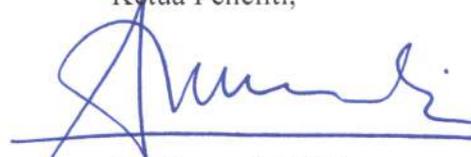
Biaya Penelitian : Rp40.000.000,-

Bandar Lampung, 4 Oktober 2016

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pascasarjana Biologi

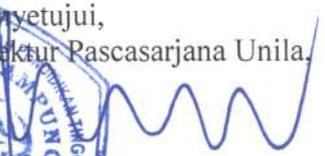
Ketua Peneliti,


Dr. Sumardi, M.Si
NIP 196503251991031003


Dr. Sumardi, M.Si
NIP 196503251991031003

Menyetujui,
Direktur Pascasarjana Unila.

Ketua LPPM Unila


Prof. Dr. Sudjarwo, M.S.
NIP. 195305281981031002


Warsono, Ph. D
NIP 196302161987031003



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	v
BAB 1. PENDAHULUAN	1
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
BAB 3. METODE PENELITIAN	7
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	20
DAFTAR PUSTAKA.....	21

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Metode pengujian Aktivitas Enzim Protease	11
2. Rata-rata IP pada waktu inkubasi 10 jam dengan uji Fisher	12

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Perubahan Ukuran Sel akibat ELF-MF:	7
2. Grafik rata-rata IP pada waktu inkubasi 10 jam	13
3. Grafik rata-rata IP pada waktu inkubasi 18 jam	15
4. Grafik pertumbuhan bakteri	16
5. Grafik produksi Protease oleh <i>Bacillus</i> sp.....	18
6. Grafik produksi enzim protease optimal pada media cair Mendels yang dimodifikasi	21

RINGKASAN

Keberadaan mikroba yang menguntungkan dapat memberi pandangan baru bahwa mikroba sangat prospektif untuk dijadikan **probiotik yang bernilai ekonomi tinggi**. Untuk mengetahui kemampuan probiotiknya maka mikroba penghasil enzim hidrolase (selulase, amilase, lipase, dan protease) dan penghasil antimikroba diuji kemampuan probiotiknya secara *in vivo* dan *in vitro*.

Salah satu dari kelemahan dari hasil penelitian sebelumnya, yakni bahwa bakteri probiotik tersebut **tidak berpengaruh nyata pada kekentalan telur**. Oleh karena itu perlu upaya peningkatan *Bacillus sp* sebagai probiotik tersebut dalam menghasilkan protease. Dari percobaan pengaruh paparan medan magnet pada kandungan media bakteri, ternyata dapat meningkatkan produksi protease. Bidang kajian ini merupakan hal yang baru dan belum banyak diteliti. Penelitian ini dapat **memperbaiki kualitas Bakteri *Bacillus sp* probiotik** dengan cara pemberian pemaparan medan magnet pada substrat.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat *Allah Subhanahu Wata'ala* yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian hibah pascasarjana tahun 2016. Penelitian ini berjudul “Pengaruh Paparan Medan Magnet 0.2 mT pada Komponen Media Pertumbuhan terhadap Morfologi dan Aktivitas *Bacillus sp*. dalam Menghasilkan Enzim Protease” berlangsung sejak bulan Juli 2016 dan akan selesai pada Desember 2016. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ketua LPPM Unila, Dekan FMIPA, dan Kajarur biologi yang telah banyak membantu administrasi penelitian ini.
2. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama melakukan penelitian.

Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih kurang sempurna. Walaupun demikian, penulis berharap penelitian ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukan.

B Lampung, Oktober 2016

Penulis

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Permasalahan

Enzim protease dapat dihasilkan dari berbagai sumber, seperti : tanaman, hewan, jamur, bakteri dan virus. Tanaman merupakan sumber enzim protease terbesar (43,85%) diikuti oleh bakteri (18,09%), jamur (15,08%), hewan (11.15%), alga (7,42%) dan virus (4,41%) (Mahajan dan Shamkant, 2010). Protease adalah enzim yang mengkatalis proses pemutusan ikatan peptida pada protein menjadi asam-asam amino sehingga lebih mudah diabsorpsi oleh tubuh. Asam amino yang larut dalam air juga merupakan substrat bagi bakteri pembentuk asam-asam organik asidogenesis dan asetogenesis (Purwati dkk., 2011).

Protease merupakan salah satu enzim yang paling banyak digunakan dalam dunia industri. Secara komersial protease menduduki urutan tertinggi di antara enzim lainnya dan mencakup lebih dari 60% total penjualan enzim. Protease banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi, deterjen, pengolahan susu, roti, dan produk kedelai (Fuad dkk., 2004). Kebutuhan protease di Indonesia hampir 100% berasal dari impor dan nilai impor protease terus meningkat dari tahun ke tahun. Terdapat beberapa faktor atau kondisi yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, diantaranya unsur-unsur mineral, suhu dan waktu inkubasi. Budiyanah (2012) menyatakan, setiap mikroba menghasilkan enzim protease yang spesifik dengan karakteristik yang berbeda. Kisaran suhu untuk produksi enzim sangat bervariasi dengan suhu optimum yang juga berbeda, tergantung pada jenis mikroba. Enzim alkalin protease yang diperoleh dari cairan rumen sapi (CRS) mempunyai suhu optimum berkisar antara 50° C – 70° C dan pH optimum 6 untuk aktivitasnya. Hasil penelitian Utarti dkk. (2009) menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. B1 mulai meningkat aktivitasnya pada 6 jam inkubasi pertama dan maksimum setelah diinkubasi selama 30 jam, dan aktivitas isolat mulai menurun setelah waktu.

Menurut Baehaki (2011), *Bacillus* sp. merupakan salah satu jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim protease. *Bacillus* sp. memainkan peranan utama dalam perkembangan produksi enzim karena a) mudah dikembangbiakkan juga mempunyai habitat yang beragam yaitu psikrofilik, mesofilik, termofilik, alkalofilik, neutrofilik, asidofilik dan b) mudah diisolasi dari berbagai macam lingkungan dan mampu tumbuh dalam media sintetik (Johnvesly dan Naik, 2001). *Bacillus* sp. yang

ditumbuhkan pada lingkungan alkali menghasilkan enzim proteolitik lebih tinggi dibandingkan bila bakteri tersebut ditumbuhkan pada lingkungan netral (Soeka, 2011).

Usul penelitian ini, merupakan pengembangan dari hasil dua penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yakni “Pengaruh paparan medan magnet 0.2 mt pada ion logam Fe dan Zn terhadap aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease” dan ”Uji probiotik dari mikroba lokal terhadap layer untuk peningkatan kesehatan, performa ayam dan kualitas telur”. Dari hasil percobaan secara *in vitro* dan *in vivo* (pada broiler) ternyata diketahui bahwa mikroba probiotik tersebut **sukses** dalam menurunkan populasi bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Sedangkan pada ayam petelur terbukti **tidak berpengaruh** nyata pada kekentalan telur, dan kolesterol darah/telur, namun memberikan pengaruh nyata pada kerabang telur dan haemoglobin telur.

Salah satu dari kelemahan hasil penelitian tersebut, yakni bahwa bakteri probiotik tersebut **tidak berpengaruh nyata pada kekentalan telur**. Oleh karena itu perlu upaya peningkatan *Bacillus sp* sebagai probiotik tersebut dalam menghasilkan protease. Salah satu peningkatan produksi enzim protease tersebut dilakukan dengan menggunakan pemaparan medan magnet pada substratnya. Bidang kajian ini merupakan hal yang baru dan belum banyak diteliti.

Beberapa penelitian telah dilakukan tentang paparan medan magnet terhadap mikroorganisme, yang ternyata hasilnya mempengaruhi karakteristik pertumbuhan dan jumlah sel pada fase stasioner. Medan magnet dapat mempengaruhi semua komponen membran sel mikroorganisme yang saling berinteraksi satu sama lain sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim (Muhammad, 1997). Paparan medan magnet dengan frekuensi 50 Hz dan kuat medan magnet 10 mT selama 60 menit mempengaruhi morfologi bakteri *Escherichia coli* gram negatif dan *Denitrificans Paracoccus* gram positif karena sel-sel koloni bakteri tersebut menjadi lebih besar. Paparan medan magnet lebih cepat terlihat pengaruhnya bila diperlakukan pada media nutrisi agar dibandingkan bila diperlakukan pada media kaldu cair (Fojt *et al.*, 2009). Perlakuan medan magnet 0.2 mT meningkatkan laju pertumbuhan dan mempengaruhi *Magnetospirillum magneticum* strain AMB-1 dalam menanggapi rangsang (Chen *et al.*, 2010).

1.2 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh paparan medan magnet 0.2 mT pada komponen media pertumbuhan terhadap morfologi dan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease

1.3 Urgensi (keutamaan) penelitian

Pengaruh Paparan medan magnet terhadap mikroorganisme ini **belum banyak diteliti** oleh para peneliti di dunia. Beberapa penelitian membuktikan bahwa, paparan medan magnet ini mempengaruhi karakteristik pertumbuhan dan jumlah sel pada fase stasioner. Medan magnet dapat mempengaruhi semua komponen membran sel mikroorganisme yang saling berinteraksi satu sama lain sehingga dapat meningkatkan aktivitas enzim (Muhammad, 1997). Paparan medan magnet dengan frekuensi 50 Hz dan kuat medan magnet 10 mT selama 60 menit mempengaruhi morfologi bakteri *Escherichia coli* gram negatif dan *Denitrificans Paracoccus* gram positif karena sel koloni bakteri tersebut menjadi lebih besar. Paparan medan magnet lebih cepat terlihat pengaruhnya bila diperlakukan pada media nutrisi agar dibandingkan bila diperlakukan pada media kaldu cair (Fojt *et al.*, 2009). Perlakuan medan magnet 0.2 mT meningkatkan laju pertumbuhan dan mempengaruhi *Magnetospirillum magneticum* strain AMB-1 dalam menanggapi rangsang (Chen *et al.*, 2010).

Pengaruh pemaparan medan magnet 0.2 mT pada media untuk meningkatkan aktivitas *Bacillus* sp. dalam memproduksi enzim protease. Bakteri ini merupakan bakteri probiotik untuk pakan ayam. Target khusus yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah **memperbaiki kualitas probiotik** dengan cara pemberian pemaparan medan magnet pada substrat. Probiotik baik tersebut diharapkan dapat meningkatkan produktivitas ayam dengan peningkatan jumlah telur (butir/minggu), Bobot telur (g/butir/ minggu), Konsumsi ransum (g/ekor/minggu), Konversi ransum, dan nilai ekonomis ransum. Probiotik tersebut juga dapat berpengaruh terhadap kekentalan dan menurunkan kolesterol darah/telur.

1.4 Luaran penelitian

Penelitian ini sudah berjalan (on going) dan sebagian sudah selesai pekerjaan di laboratorium. Mahasiswa sudah melaksanakan seminar usul dan telah diseminarkan tingkat internasional yakni “USR International Seminar on Food Security- UNILA-SEARCA 23-24 Agustus 2016, di Bandar Lampung”. Bukti-bukti pelaksanaan tersebut ada di lampiran. Direncanakan di akhir bulan oktober 2016 ini sudah seminar hasil dan submit ke jurnal internasional yang terindeks “Malaysia Application Biology”.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Probiotik

Awal penelitian dimulai dengan melakukan eksplorasi bakteri yang terdapat pada usus ayam kampung (Hibah Fundamental 2007-2008). Eksplorasi tersebut dilakukan atas dasar kemampuan ayam kampung yang tahan terhadap serangan penyakit. Dari penelitian tersebut diperoleh beberapa isolat bakteri yang terdiri dari *Bacillus* sp, *Lactobacillus*, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Geotricum* sp, dan yeast. Pengujian karakterisasi mikroba tersebut diketahui ada yang menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler seperti amilase, selulase, lipase, dan selulase. Disamping itu juga ada yang menghasilkan antimikroba. Kemampuan karakteristik tersebut apabila digabungkan akan mendatangkan keuntungan yakni dapat mikroba mikroba pathogen yang akan menyerang pada usus ayam (Sumardi dan Ekowati, 2008).

Disamping itu selama ini produk-produk probiotik untuk unggas kebanyakan diimpor dari luar negeri. Sehingga kemampuan memproduksi probiotik untuk kebutuhan dalam negeri tentu sangat diharapkan. Beberapa mikroba probiotik telah diperjual belikan secara komersial berasal dari luar negeri. Probiotik tersebut berupa tunggal (hanya satu macam mikroba probiotika) dan bentuk campuran (lebih dari satu macam mikroba). Sebagai contoh “Probiolac” (produksi Intervet, salem India) terdiri dari *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Aspergillus oryzae*, *Streptococcus faecium* dan *Torulopsis spp.* (Panda *et al.*, 2003). “Protexin” (produksi Novartis probiotics international, UK) terdiri dari *Lactobacillus plantarum*, *L.delbruecki subspecies bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus salivarius subspecies thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Aspergillus oryzae* dan *Candida pentolepsi* (Balevi *et al.*, 2001; Fuller, 1999), serta masih banyak lagi jenis probiotika komersial yang lain. Penelitian lain

oleh Asli dkk (2007) tentang probiotik yeast *Saccharomyces cerevisiae* yang dikombinasikan dengan vitamin E dan C membuktikan bahwa terjadi peningkatan titer antibody dibandingkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik tersebut mampu meningkatkan daya tahan tubuh unggas. Kemudian Ahsani dkk., (2013) juga membuktikan bahwa penggunaan berbagai jenis probiotik dalam ransum pada ayam Arab mampu menurunkan kadar lemak kuning telur. Bakteri *Bacillus* sp. memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menurunkan kadar lemak dibandingkan dengan bakteri *Lactobacillus* sp. Namun penggunaan berbagai jenis probiotik belum mampu menurunkan kolesterol kuning telur ayam arab. Selanjutnya kami, juga telah dilakukan penelitian uji kemampuan bakteri *Bacillus* terhadap menghambat bakteri patogen baik secara *in vitro* dan *in vivo* (pada broiler). Dari penelitian sebelumnya kami telah berhasil membuat formula mikroba probiotik yang terkemas dengan baik namun hasilnya kurang memuaskan dan perbaikan terus diupayakan.

Pengaruh Medan Magnet terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Mikroba

Medan magnet adalah suatu medan atau lapangan yang dapat menimbulkan gaya pada benda atau partikel bermuatan listrik. Medan magnet alami dapat diperoleh dari bumi dengan kutub magnet di Kutub Utara dan Selatan dan dapat pula dihasilkan dari arus listrik yang mengalir dalam kawat (Soesanto, 1996). Besarnya nilai medan magnet yang diperoleh dari aliran listrik dipengaruhi oleh kuat arus listrik yang masuk. Semakin besar arus yang mengalir semakin besar medan magnet dan nilainya bervariasi sesuai dengan daya yang diserap oleh peralatan listrik (Sudarti dkk., 2014).

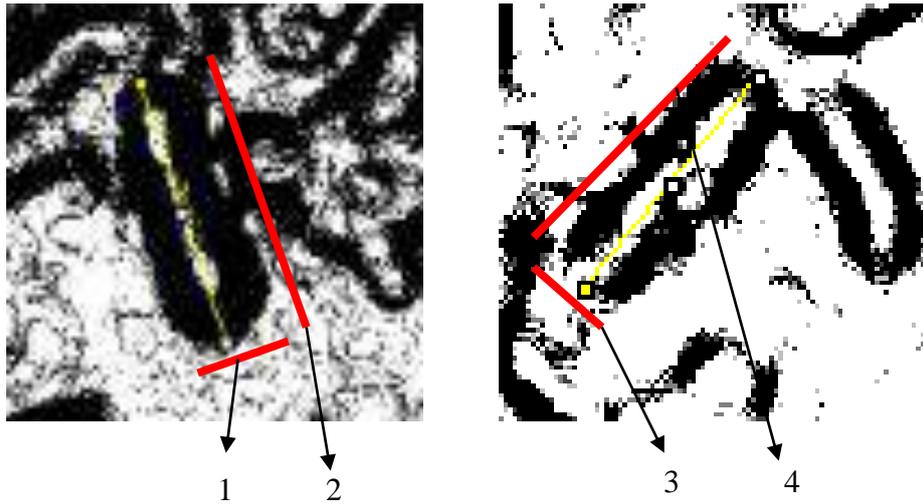
Induksi medan magnet pada sel biologis dapat mengakibatkan konversi energi karena adanya interaksi *hyperfine* yaitu interaksi antara momen magnetik proton dan elektron. Selain itu, paparan medan magnet dapat memberikan tambahan energi bagi sel (Dwi dkk., 2013).

Pemberian medan magnet berpengaruh langsung terhadap aktivitas metabolisme sel. Secara umum, medan magnet mempengaruhi arah migrasi dan mengubah pertumbuhan, mengubah aliran ionik melalui membran sehingga mengakibatkan perubahan kecepatan reproduksi sel (Sudarti dkk., 2014). Beberapa peneliti menduga bahwa tempat reaksi medan magnet dalam sistem biologi adalah plasma elektromagnetik membran (Setyasih dkk., 2013). Medan magnet dapat mengubah karakteristik membran sel, mempengaruhi reproduksi sel, menyebabkan perubahan pada metabolisme sel serta mempengaruhi karakteristik pertumbuhan seperti kualitas mRNA, ekspresi gen, sintesis protein dan aktivitas enzim (Setyasih dkk., 2012). Medan magnet juga dapat memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim peroxidase,

katalase and superoxide dismutase (Li *et al.*, 2015). Kekuatan medan magnet yang diberikan pada bakteri harus tepat karena jika terlalu besar justru akan menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Medan magnet dilaporkan dapat membunuh mikroba patogen yang terdapat di dalam bahan makanan seperti *Salmonella typhimurium* (Sudarti dkk., 2014). Menurut Setyasih dkk. (2013) perlakuan kuat medan magnet yang terlalu tinggi dan dalam paparan waktu yang tidak tepat akan menyebabkan metabolisme yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan sel atau menyebabkan perubahan pada struktur membran. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri terhambat secara signifikan dengan pemberian perlakuan medan magnet sebesar 150 G (Sutariningsih dkk., 2007). Persentase kematian populasi *S. typhimurium* cukup tinggi yaitu 33.14% pada pemberian medan magnet dengan intensitas 646.7 μT , dimana semakin besar intensitas yang digunakan maka semakin besar pula kematian jumlah mikroorganisme. Kematian mikroba dikarenakan medan magnet disebabkan oleh rusaknya struktur sel pada mikroba seperti membran sel (Sudarti dkk., 2014).

Nascimento *et al.* (2003) menyatakan terjadi peningkatan pertumbuhan *E. coli* setelah terpapar medan magnet selama 8 jam dikarenakan medan magnet memperpendek fase lag dan lebih mempercepat mulainya fase log pada pertumbuhan mikroba. Akibatnya, pada akhirnya fase log akan terjadi lebih panjang dan meningkatkan jumlah koloni untuk tumbuh. Efek medan magnet terhadap pertumbuhan dan reproduksi mikroba diklasifikasikan menjadi: (1) *inhibitory*, (2) *stimulatory* dan (3) *none observable* (Muchtadi dkk., 2013).

Medan magnet juga diketahui dapat mengubah anatomi sel mikroba seperti perubahan panjang dan diameter. Paparan ELF-MF pada *Salmonella typhimurium* menurunkan rata-rata panjang dan diameter sel masing-masing dari panjang 6.312 μm menjadi 4.341 μm dan diameter dari 1.535 μm menjadi 1.148 μm (Sudarti dkk., 2014). Pada bakteri *E. coli* dimana terjadi penurunan panjang sel *E. coli*, paparan medan magnet selama 6 jam menurunkan ukuran panjang sel sedangkan paparan medan magnet selama 16 jam meningkatkan ukuran panjang sel karena ketebalan dinding sel berkurang dan sebagian besar komponen sitoplasma menghilang (Gaafar *et al.*, dalam Sudarti dkk., 2014).



Gambar 1. Perubahan Ukuran Sel akibat ELF-MF: (1) Diameter Sel Normal, (2) Panjang Sel Normal, (3) Panjang Sel setelah Terpapar ELF-MF, dan (4) Diameter Sel setelah Terpapar ELF-MF (Sudarti dkk., 2014)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Januari 2016 – Maret 2016 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila dan analisis uji Enzim dilakukan di Laboratorium Botani FMIPA Unila.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *spectrophotometer* yang digunakan untuk mengukur kurva pertumbuhan *Bacillus* sp. dan aktivitas enzim protease; inkubator untuk menginkubasi bakteri pada suhu yang terkontrol; dan *laminar airflow* untuk perlakuan yang memerlukan kondisi aseptik, termasuk inokulasi bakteri, kumpanan medan magnet sebesar 0.2 mT untuk pemberian treatment pada *Bacillus* sp.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: isolat *Bacillus* sp. yang diperoleh dari koleksi biakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila. Media untuk kultur yaitu media Mendels (Mendels dan Elwyn, 1956) yang dimodifikasi (Lampiran 1) .

3.3 Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan secara bertahap. Tahap pertama, isolasi dan seleksi bakteri. Tahap kedua, uji proteolitik pada media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi perlakuan medan magnet. Dalam tahap ini setiap bahan yang digunakan untuk media kultur *Bacillus* sp. diberi paparan medan magnet 0.2 mT dalam waktu 10 menit. Tahap ketiga, optimasi lama waktu produksi enzim protease dan produksi enzim protease pada media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi perlakuan medan magnet.

1.1.1 Tahap 1 : Isolasi dan Seleksi *Bacillus* sp.

Bacillus sp. yang digunakan diperoleh dari *Bacillus* sp. koleksi di laboratorium Mikrobiologi FMIPA Unila, Lampung. Bakteri diisolasi menggunakan susu skim bubuk yang ditambahkan pada media Mendels yang dimodifikasi. Bakteri yang digunakan adalah bakteri yang mempunyai kemampuan proteolitik (Naiola dan Widhyastuti, 2002).

1.1.2 Tahap 2 : Uji Proteolitik dan Perhitungan Indeks Proteolitik *Bacillus* sp. pada Media Padat Mendels yang Dimodifikasi

a) Uji Proteolitik *Bacillus* sp. pada Media Padat yang Diberi Perlakuan Medan Magnet

Pada tahap kedua dilakukan uji proteolitik dan perhitungan indeks proteolitik (IP) yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media padat Mendels yang dimodifikasi. Bahan media padat Mendels yang dimodifikasi terdiri dari : a) susu, b) yeast, c) NaCl, d) KH_2PO_4 , e) MgSO_4 , f) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, g) Agar, h) Aquades. Dalam tahap ini dibuat 8 media yang berbeda dan diberi label a sampai dengan h. Pada media a. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada susu, media b. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada yeast, media c. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada NaCl, media d. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada KH_2PO_4 , media e. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada MgSO_4 , media f. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, media g. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada agar, media h. perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit diberikan pada aquadest. Setelah itu bahan yang telah diberi perlakuan

medan magnet 0.2 mT selama 10 menit dibiarkan memadat kemudian diberi kultur *Bacillus* sp. dan dihitung indeks proteolitiknya.

b) Perhitungan nilai Indeks Proteolitik (IP)

Indeks proteolitik dihitung dengan cara membandingkan diameter areal bening dan diameter koloni bakteri (Baehaki dkk., 2011). Nilai IP yang semakin tinggi (≥ 3) pada isolat menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki potensi yang semakin besar dan maksimal sebagai sumber protease (Said dkk., 2012). Mengukur zona jernih yang terbentuk untuk mendapatkan nilai indeks proteolitik dapat dihitung menggunakan rumus:

$$IP = \frac{B}{A}$$

Keterangan:

IP : Indeks Proteolitik

A : Diameter koloni

B : Diameter Zona jernih (Sumardi dkk., 2010)

Dari ke delapan perlakuan, isolat yang memiliki nilai IP tinggi dijadikan sampel pada tahap selanjutnya.

1.1.3 Tahap Ketiga : Menghitung Optimasi Waktu dan Produksi Enzim pada Media Cair Mendels Modifikasi dan Dipapar Medan Magnet 0.2 mT

Pada tahap ketiga digunakan media cair Mendels yang dimodifikasi dan diberi paparan medan magnet 0.2 mT. Tahap ketiga meliputi tiga kegiatan, kegiatan pertama, menentukan waktu optimasi *Bacillus* sp. untuk menghasilkan enzim protease. Kegiatan kedua, menentukan produksi optimal enzim. Kegiatan ketiga, menguji aktivitas enzim protease yang diukur menggunakan spektrofotometer uv pada panjang gelombang 280 nm (Bintang, 2010).

a) Optimasi Lama Produksi Protease oleh *Bacillus* sp.

Pengujian waktu optimum *Bacillus* sp. untuk memproduksi enzim protease dilakukan dengan cara mengukur aktivitas enzim protease kultur isolat *Bacillus* sp. setiap 6 jam sekali selama 30 jam. Waktu inkubasi yang memperlihatkan produksi enzim terbaik diambil sebagai acuan untuk menentukan waktu optimum produksi enzim.

b) Produksi Enzim Protease Pada Media Cair Mendels yang Modifikasi dan Diberi Paparan Medan Magnet 0.2 mT

Pada perlakuan ini produksi enzim dilakukan pada tiga bahan media Mendels yang dimodifikasi yaitu a) NaCl, b) MgSO₄, c) KH₂PO₄. Pemilihan ketiga bahan media Mendels yang dimodifikasi tersebut berdasarkan perhitungan nilai IP tiga perlakuan tertinggi. Pada bahan a) NaCl, b) MgSO₄, c) KH₂PO₄ masing-masing diberi perlakuan paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit dalam bentuk media cair, kemudian diberi 5 ml starter *Bacillus* sp.

Setelah itu kultur dari ketiga perlakuan diinkubasi pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 120 rpm suhu 40⁰ C dengan lama waktu inkubasi 18 jam menyesuaikan dengan waktu pertumbuhan optimum.

Ekstraksi enzim protease dilakukan dengan cara sentrifugasi media cair dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Gaya gravitasi yang terbentuk, akan mengendapkan *Bacillus* sp. sedangkan enzim akan tetap terdapat pada supernatant yang akan digunakan sebagai sampel uji aktivitas protease (Yusufa dkk., 2013).

c) Uji Aktivitas Protease

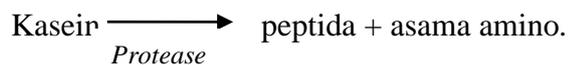
Aktivitas protease diuji dengan mengukur kadar asam amino sebagai produk hidrolisis protein dari susu skim oleh enzim protease (Soeka dan Sulistiyani, 2014).

Sebanyak 0.2 ml protease ditambahkan pada campuran yang berisi 1 ml bufer fosfat dengan substrat kasein pH 7, 0.2 ml tirosin standar dan 0.2 ml aquades, diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 10 menit. Setelah itu ditambah TCA (0.1 M) 1 ml dan protease 0.2 ml, diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 10 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 4⁰ C selama 10 menit. Kemudian diambil 0.75 ml supernatan dan ditambah dengan 2.5 ml larutan Na₂CO₃ (0.4 M) dan 0.5 ml pereaksi Folin, diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 578 nm (Bergmeyer dan Grassl, 1983).

Tabel 1. Metode pengujian Aktivitas Enzim Protease

	Blanko (ml)	Standar (ml)	Sampel (ml)
Buffer fosfat pH 7 dengan substrat kasein	1.0	1.0	1.0
Enzim	-	-	0.2
Tirosin standar	-	0.2	-
Aquades	0.2	-	-
<hr/>			
Inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 10 menit			
TCA (0.1 M)	1.0	1.0	1.0
Enzim	0.2	0.2	-
<hr/>			
Inkubasi pada suhu 37 ⁰ C selama 10 menit			
Sentrifugasi 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 ⁰ C			
Supernatan	0.75	0.75	0.75
Na ₂ CO ₃ (0.4 M)	2.5	2.5	2.5
Pereaksi folin (1:2)	0.5	0.5	0.5
<hr/>			
Diamkan selama 20 menit pada suhu 37 ⁰ C			
Baca absorbansi pada panjang gelombang 578 nm			

Prinsip kerja dari metode Bergmeyer dan Grassl, 1983 yaitu kasein yang berfungsi sebagai substrat akan dihidrolisis oleh protease dengan bantuan air menjadi peptida dan asam amino.



Aktivitas protease dihitung dalam satuan PU (Protease Unit) per ml ekstrak enzim (Djayasukma, 1993)

$$PU = \frac{Asp - Abl}{Ast - Abl} \times \frac{1}{T}$$

Keterangan :

- PU : Unit Aktivitas Protease (Unit/ml)
- Asb : Nilai Absorbansi Sampel
- Ast : Nilai Absorbansi Strandar
- Abl : Nilai Absorbansi Blanko
- T : Waktu

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Proteolitik pada media padat Mendels yang dimodifikasi

Hasil pengamatan uji proteolitik *Bacillus* sp. pada media padat Mendels yang dimodifikasi dan diberi perlakuan paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit dilakukan 2 kali pengamatan yaitu pada waktu inkubasi 10 jam dan 18 jam. Pada pengamatan 10 jam, hasil menunjukkan bahwa isolat bakteri pada semua perlakuan (M₀ sampai M₈) memiliki berpengaruh terhadap aktivitas proteolitik. Uji tersebut kemudian dilanjutkan dengan uji Fisher untuk melihat ada atau tidaknya beda nyata pada setiap perlakuan.

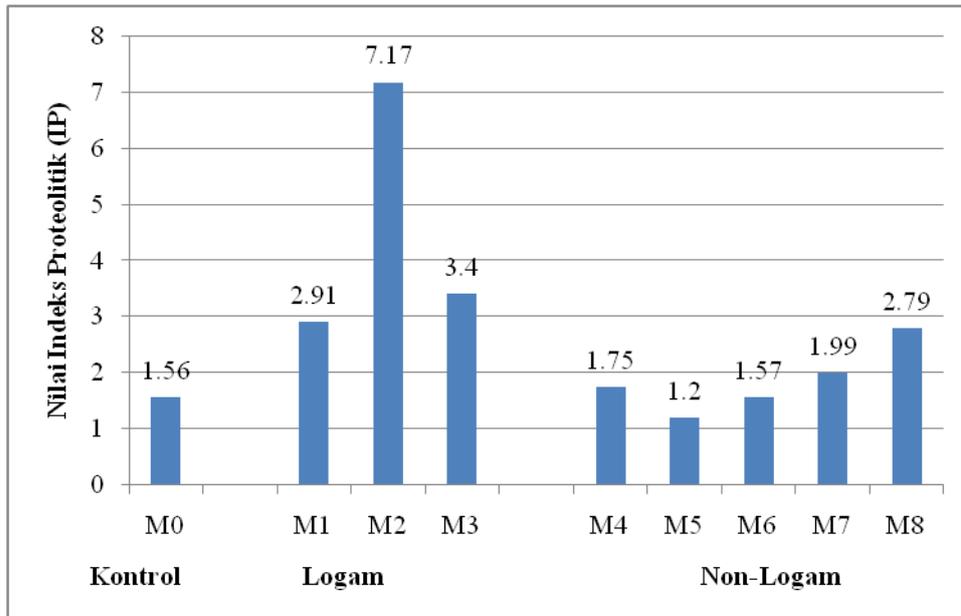
Dari uji tersebut diketahui bahwa rata-rata nilai IP tertinggi dengan lama waktu inkubasi media kultur selama 10 jam adalah pada perlakuan M₂ yaitu 7.17 ± 0.38 . Nilai IP pada perlakuan M₂ lebih tinggi secara nyata dibanding pada ke-7 perlakuan lain yaitu M₀, M₁, M₃, M₄, M₅, M₆, M₇, M₈ (tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata IP pada waktu inkubasi 10 jam dengan uji Fisher

Perlakuan	Indeks Proteolitik/IP Mean \pm SD
	10 Jam
M ₀	1.56 ± 0.010^{ab}
M ₁	2.91 ± 0.035^{cd}
M ₂	7.17 ± 0.388^e
M ₃	3.40 ± 0.629^d
M ₄	1.75 ± 0.353^{ab}
M ₅	1.20 ± 0.001^a
M ₆	1.57 ± 0.304^{ab}
M ₇	1.99 ± 0.077^{abc}
M ₈	2.79 ± 1.888^{cd}

Keterangan : Nilai Indeks Proteolitik (IP) *Bacillus* sp. pada media padat tanpa perlakuan medan magnet (M₀), perlakuan medan magnet 0.2 mT pada komponen NaCl (M₁), KH₂PO₄ (M₂), MgSO₄ (M₃), susu (M₄), yeast (M₅), (NH₄)₂SO₄ (M₆), agar (M₇), aquadest (M₈)

KH_2PO_4 dalam media kultur bakteri berfungsi sebagai buffer dan merupakan mineral utama yang penting untuk pertumbuhan sel (Suhartono, 1989). Berdasarkan hasil penelitiannya, Tangguh (2011) menyatakan KH_2PO_4 berperan penting dalam metabolisme energi sebagai stabilitor membran sel dan dalam sintesis asam amino.



Gambar 2. Grafik rata-rata IP pada waktu inkubasi 10 jam

Keterangan : Nilai Indeks Proteolitik (IP) *Bacillus* sp. pada media padat tanpa perlakuan medan magnet (M_0), perlakuan medan magnet 0.2 mT pada komponen NaCl (M_1), KH_2PO_4 (M_2), MgSO_4 (M_3), susu (M_4), yeast (M_5), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (M_6), agar (M_7), aquadest (M_8)

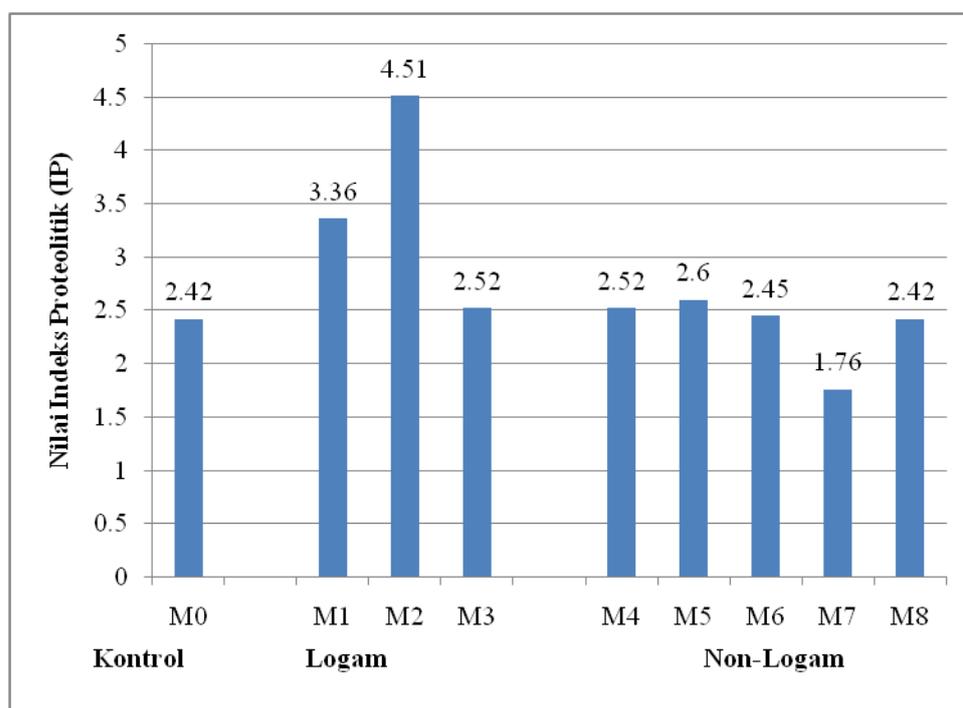
Pada Gambar 2 menunjukkan grafik tertinggi terdapat pada hasil perlakuan medan magnet 0.2 mT terhadap senyawa logam yaitu komponen M_2 (KH_2PO_4). Hasil penelitian Iyabu dan Suleman (2013) menyatakan penambahan KH_2PO_4 dalam jumlah yang sesuai akan meningkatkan pertumbuhan sel bakteri *Bacillus* sp.

Media Mendels yang dimodifikasi mengandung delapan komponen. Kedelapan komponen tersebut terbagi menjadi ion logam dan ion non logam. Ion logam terdiri dari : NaCl, KH_2PO_4 dan MgSO_4 , sedangkan ion non logam terdiri dari : susu, yeast, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, agar dan aquades. Meskipun ion logam menunjukkan grafik tertinggi namun

pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. juga memerlukan unsur non logam berupa susu, yeast, $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, agar dan aquades yang masing-masing memiliki peranan dalam menunjang pertumbuhan bakteri.

Ion logam adalah gabungan dari beberapa unsur yang dapat menghantarkan listrik dan menghantarkan panas dengan baik (Pinem dkk., 2013), sedangkan ion non logam adalah gabungan dari beberapa unsur yang tidak memiliki sifat seperti logam.

Perhitungan One-Way ANOVA nilai Indeks Proteolitik (IP) pada waktu inkubasi 18 jam menggunakan minitab menunjukkan bahwa nilai $F = 8.87$, $P = 0.002 < 0.05$. Hal ini berarti bahwa rerata IP pada kesembilan sampel sama dengan waktu inkubasi 10 jam yaitu menunjukkan berbeda nyata atau setiap komponen media (Gambar 6).



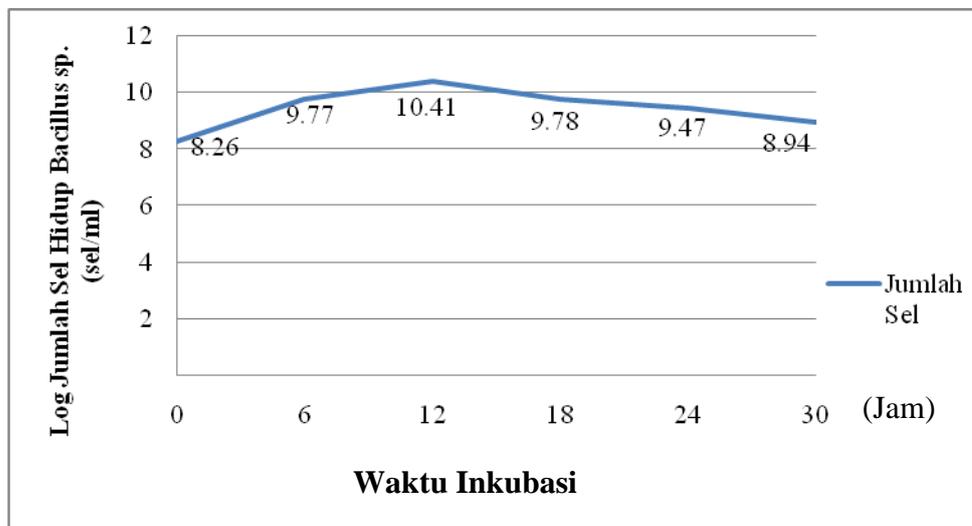
Gambar 3. Grafik rata-rata IP pada waktu inkubasi 18 jam

Keterangan : Nilai Indeks Proteolitik (IP) *Bacillus* sp. pada media padat tanpa perlakuan medan magnet (M_0), perlakuan medan magnet 0.2 mT pada komponen NaCl (M_1), KH_2PO_4 (M_2), MgSO_4 (M_3), susu (M_4), yeast (M_5), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (M_6), agar (M_7), aquadest (M_8)

Pada kedua grafik (Gambar 2 dan Gambar 3) sama-sama menunjukkan hasil bahwa nilai IP tertinggi terdapat pada hasil perlakuan medan magnet 0.2 mT terhadap senyawa logam yaitu M_2 (KH_2PO_4). Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada komponen media Mendels yang dimodifikasi memiliki pengaruh yang berbeda-beda. Adanya medan magnet di lingkungan sel dan medium dapat menyimpan medan magnet untuk berpenetrasi melalui membran sel dan media ekstraseluler.

B. Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri

Fase pertumbuhan *Bacillus* sp. digunakan untuk menentukan waktu inkubasi optimal selama produksi enzim protease. Fase lag *Bacillus* sp. terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-2 inkubasi.



Gambar 4. Grafik pertumbuhan bakteri

Pada gambar 4 menunjukkan pada waktu inkubasi 0 jam merupakan fase lag bakteri. Pada fase lag bakteri melakukan proses adaptasi terhadap kondisi lingkungan seperti: pH, suhu, nutrisi dan lain sebagainya. Pada fase ini peningkatan jumlah sel bakteri berlangsung lambat. Hal ini sejalan dengan penelitian Setyati dkk. (2015) yang

menyatakan pada waktu jam ke-0 sampai jam ke-4 waktu inkubasi pertumbuhan bakteri isolat 36K terjadi relatif singkat. Hal tersebut dikarenakan bakteri isolat 36K tumbuh pada media yang sama dengan media penyegaran ditahap sebelumnya maka penyesuaian diri dengan lingkungannya berlangsung cepat.

Pada jam ke-6 sampai jam ke-12 waktu inkubasi terjadi peningkatan jumlah sel bakteri. Fase ini disebut fase eksponensial, pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat, dimulai pada jam ke-2 sampai jam ke-12 inkubasi. Pada fase ini, mikroba memperbanyak diri dengan cara membelah diri menjadi dua, kemudian masing-masing membelah lagi menjadi dua sehingga pada setiap generasi jumlahnya menjadi dua kali populasi sebelumnya.

Berdasarkan hasil penelitian Adam dan Shovitri (2013) pada jam ke-5 hingga jam ke-12 merupakan fase eksponensial pertumbuhan *Bacillus* SL II-I, dimana terlihat sel tumbuh secara pesat. Pada fase ini sel isolat *Bacillus* SLII-I telah beradaptasi terhadap lingkungannya sehingga dapat memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam media secara optimal untuk pertumbuhannya.

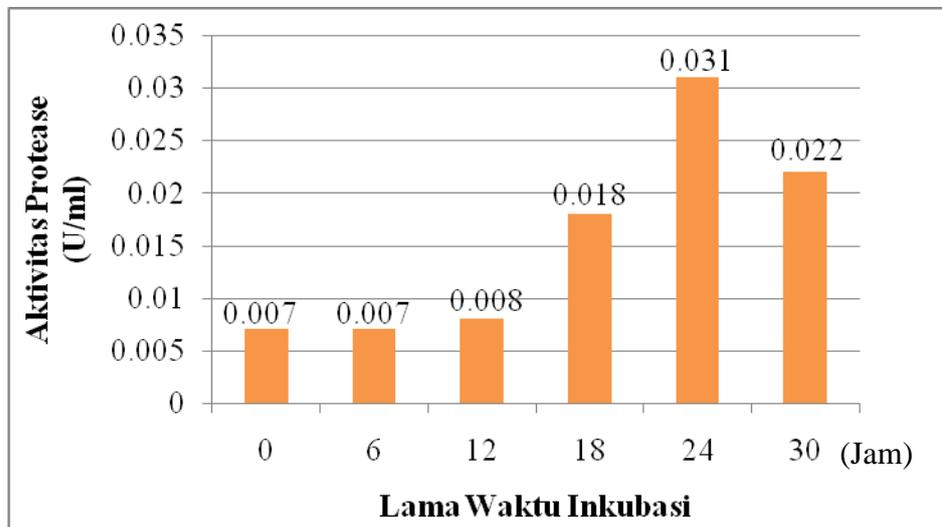
Dari jam ke-12 menuju jam ke-18 waktu inkubasi terjadi penurunan jumlah sel dari 10.41 sel/ml menjadi 9.78 sel/ml, kemudian menurun lagi pada jam ke-24 waktu inkubasi sebesar 9.47 sel/ml. Pada fase ketiga ini disebut fase stasioner, terjadi mulai jam ke-16 sampai jam ke-24. Fase stasioner adalah fase dimana jumlah sel yang membelah dan mati relatif sama (Adam dan Shovitri, 2013).

Pada fase ini cadangan makanan sudah mulai menipis dan pada fase ini *Bacillus* sp. akan menghasilkan metabolit sekunder sebagai upaya pertahanan diri terhadap lingkungannya dan mikroorganisme lain (Khoiriyah dan ardiningsih, 2014). Pada fase terakhir yaitu fase kematian terjadi pada jam ke-30 waktu inkubasi, jumlah sel bakteri menurun menjadi 8.943 sel/ml.

C. Optimasi Lama Produksi Protease oleh *Bacillus* sp.

Optimasi lama produksi protease digunakan untuk melihat waktu optimum *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease. Penentuan lama produksi dilakukan dengan cara, mengukur nilai aktivitas enzim setiap 6 jam selama 30 jam.

Hasil pengujian pada tabel 11 menunjukkan aktivitas *Bacillus* sp. dalam menghasilkan enzim protease tertinggi terjadi pada jam ke-24 inkubasi dengan nilai absorbansi sebesar 0.031 U/ml.



Gambar 5. Grafik produksi Protease oleh *Bacillus* sp.

Pada gambar 5 menunjukkan isolat *Bacillus* sp. mengalami kenaikan aktivitas mulai dari 18 jam inkubasi pertama hingga mencapai waktu produksi optimal yaitu pada 24 jam.

Hal ini sejalan dengan penelitian Sumardi dan Lengkana (2008) yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan aktivitas enzim protease yang dihasilkan dari isolat APP-4 dari waktu inkubasi 18 jam ke 24 jam yaitu dari 0,118 U/mg menjadi 24 0,524 U/mg.

Setelah mencapai waktu produksi optimal, isolat *Bacillus* sp. mengalami penurunan aktivitasnya dalam menghasilkan enzim protease yaitu pada jam ke-30 sebesar 0.022 U/ml. Kenaikan aktivitas enzim pada awal waktu produksi diduga disebabkan oleh masih tersedianya asupan nutrisi dalam jumlah yang cukup untuk *Bacillus* dalam

melakukan metabolisme. Penurunan aktivitas *Bacillus* sp. terjadi setelah 24 jam inkubasi, hal ini dapat terjadi karena berkurangnya jumlah substrat yang menghambat pembentukan kompleks enzim substrat. Selain itu setelah 24 jam inkubasi, ketersediaan nutrisi bakteri sudah mulai berkurang dan sel bakteri mulai mengalami lisis yang dilanjutkan dengan fase kematian (Yuniati dkk., 2015).

Pada optimasi produksi protease, di dalam media produksi ditambahkan kasein yang digunakan sebagai substrat. Enzim protease yang disekresi oleh sel bakteri akan menghidrolisis kasein untuk menghasilkan asam amino. Besarnya aktivitas protease ditentukan berdasarkan jumlah tirosin yang dihasilkan dari hidrolisis kasein, dan dilakukan dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 620 nm (Susanti, 2002).

Hasil pengamatan pada aktivitas produksi protease oleh *Bacillus* sp. (Gambar 11) menunjukkan bahwa produksi enzim protease tertinggi yaitu pada jam ke-24 waktu inkubasi sebesar 0.031 U/ml. Bila dihubungkan dengan fase pertumbuhan mikroba, maka aktivitas tertinggi tersebut terdapat pada akhir fase eksponensial memasuki fase stasioner (Gambar 10) (Artika, 2013).

Pada fase eksponensial enzim yang dihasilkan oleh bakteri lebih banyak digunakan untuk pertumbuhan sel, diantaranya digunakan untuk pembelahan sel, sedangkan pada fase stasioner pembelahan sel mulai berkurang dan jumlah sel yang membelah sama dengan jumlah sel yang mati sehingga terjadi penumpukan enzim protease diluar sel atau dilingkungan sel.

Hal ini sejalan dengan penelitian Suhartono dkk, (1996) yang menyatakan produksi protease *Bacillus pumilus* Y1 meningkat saat mencapai fase stasioner dan mendekati kematian, dengan aktivitas optimum dicapai pada 20-25 jam masa inkubasi. Sintesis

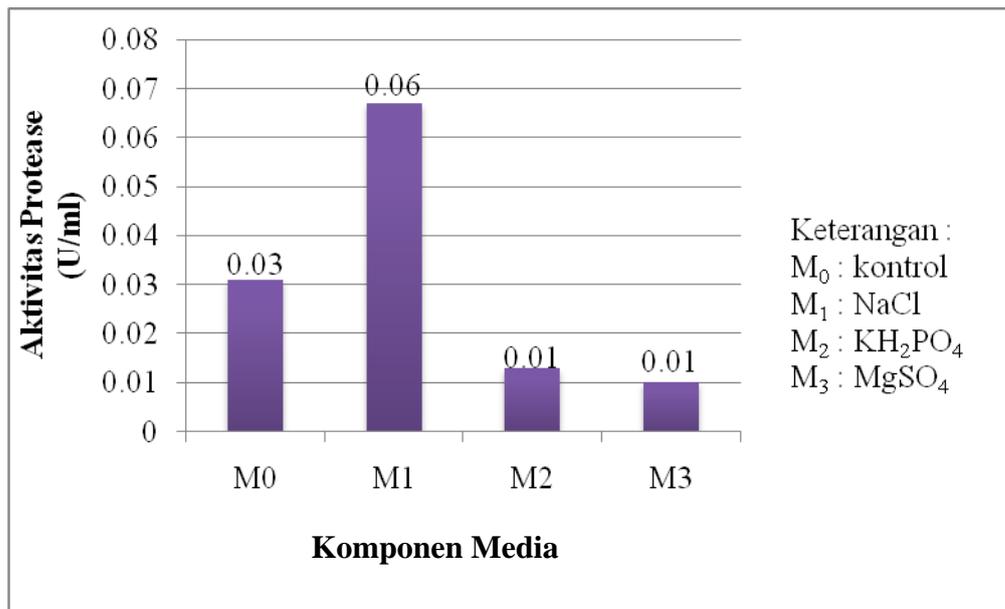
protease ekstraseluler biasanya terjadi pada fase diam (stasioner), hal ini terkait dengan mekanisme represi katabolit. Selama fase pertumbuhan eksponensial, sel akan mengalami hambatan represi katabolit, sehingga menurunkan konsentrasi cAMP intraseluler yang dapat mengaktifkan transkripsi mRNA penyandi protease.

Memasuki fase stasioner, represi katabolit mulai menurun sehingga mengaktifkan biosintesis enzim (Suhartono 1992). Hasil penelitian Artika (2013) juga menyatakan bahwa produksi tertinggi protease dicapai selama fase eksponensial dan berlangsung konstan saat spora telah terbentuk (fase stasioner) yaitu ketika biakan berumur 27 jam waktu inkubasi.

D. Produksi Enzim Protease Optimal Pada Media Cair Mendels yang Dimodifikasi

Produksi enzim protease dilakukan pada media cair Mendels yang dimodifikasi yang diberi perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit. Enzim protease dipanen setelah 24 jam waktu inkubasi. Pengujian produksi enzim protease dilakukan pada 4 perlakuan yaitu M₀, M₁, M₂ dan M₃. 5 perlakuan lainnya yaitu M₄, M₅, M₆, M₇ dan M₈ tidak dilakukan karena pada tahap sebelumnya menunjukkan hasil perhitungan IP yang lebih kecil dibandingkan M₁, M₂ dan M₃.

Berdasarkan data, perlakuan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit berpengaruh terhadap NaCl, sedangkan pada perlakuan M₀, M₂ dan M₃ medan magnet 0.2 mT selama 10 menit tidak memberi pengaruh yang besar terhadap komponen media tersebut. NaCl dikenal sebagai garam yang memiliki tingkat osmotik yang tinggi. Ion-ion garam memiliki kelarutan lebih besar dibandingkan dengan protein sehingga ion garam akan menarik molekul air dari protein enzim. Protein-protein enzim akan berinteraksi membentuk gumpalan dan mengendap (Wardani dan Lia, 2012). Hal ini yang menyebabkan hasil aktivitas enzim pada media NaCl memiliki hasil paling tinggi dibanding pada media yang lain.



Gambar 6. Grafik produksi enzim protease optimal pada media cair Mendels yang dimodifikasi

Adanya peningkatan keaktifan karena penambahan logam tertentu menunjukkan bahwa ion logam diperlukan sebagai komponen dalam sisi aktif enzim. Mekanisme ion logam dalam memperbesar aktivitas enzim melalui yaitu (a) menjadi bagian integral dari sisi aktif, (b) merubah konstanta kesetimbangan dari reaksi enzimatik, (c) merubah muatan listrik, (d) mengusir ion inhibitor, (e) menukar ion yang kurang efektif pada sisi aktif enzim atau substrat. Penghambatan ion logam terhadap aktivitas protease pada konsentrasi tertentu berkaitan dengan kekuatan ion, dimana kekuatan ion itu sendiri mempengaruhi konformasi atau struktur tiga dimensi dari protein enzim atau protein substrat (Baehaki dkk., 2005).

Penambahan ion Na⁺ yang berasal dari kristal 7,0 mM NaCl terhadap media pertumbuhan bakteri yang telah dipapar medan magnet 0.2 mT dapat meningkatkan aktivitas enzim. Tanpa ion kofaktor, aktivitas enzim mula-mula ialah 449,4987

$\mu\text{mol/mL/menit}$ sedangkan dengan adanya ion Na^+ aktivitas meningkat hingga mencapai $478,5026 \mu\text{mol/mL/menit}$ (Pratiwi dkk., 2013).

Jika pada media padat nilai indeks proteolitik tertinggi terdapat pada komponen media KH_2PO_4 , berbeda dengan hasil pada media cair. Pada media cair komponen yang memiliki aktivitas enzim tertinggi terdapat pada komponen media NaCl . Hal ini diduga ion NaCl pada media cair lebih dapat bergerak bebas ketika melintasi membran plasma sel dibandingkan pada media padat, sehingga dapat menyeimbangkan elektron di dalam dan diluar membran sel.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil pembahasan dalam tesis ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada komponen media Mendels yang dimodifikasi meningkatkan nilai indeks proteolitik komponen media KH_2PO_4 pada waktu inkubasi 10 jam dan 18 jam sebesar 7.17 dan 4.51 .
2. Waktu terbaik pertumbuhan *Bacillus* sp. yaitu pada 12 jam waktu inkubasi sebesar 10.419 sel/ml .
3. Waktu terbaik produksi enzim protease oleh *Bacillus* sp. yaitu pada 24 jam waktu inkubasi sebesar 0.031 U/ml .
4. Paparan medan magnet 0.2 mT selama 10 menit pada komponen media Mendels yang dimodifikasi meningkatkan aktivitas enzim dan jumlah sel hidup *Bacillus* sp. yaitu pada media NaCl sebesar 0.067 U/ml dan 9.684 sel/ml .

B. Saran

Perlu ada penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh medan magnet pada morfologi sel *Bacillus* sp. yaitu dengan mengukur panjang dan pendek ukuran *Bacillus* sp.

menggunakan alat SEM (*Scanning Electron Microscope*) khususnya pada komponen media MgSO₄ serta pengaruh paparan medan magnet pada kisaran dan lama waktu tertentu terhadap kandungan komposisi media Mendels yang dimodifikasi (NaCl, KH₂PO₄, MgSO₄, susu, yeast (NH₄)₂SO₄, agar, aquadest).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsani M., Iriyanti N, dan Mugiyono S. 2013. penggunaan berbagai jenis probiotik dalam ransum terhadap kadar lemak dan kolesterol kuning telur ayam arab. jurnal ilmiah peternakan 1(1):323-331,
- Asli, M.M., Hosseini S A, Lotfollahian H and Shariatmadari F. 2007. Effect of Probiotics, Yeast, Vitamin E and Vitamin C Supplements on Performance and Immune Response of Laying Hen During High Environmental Temperature. International Journal of Poultry Science 6 (12): 895-900, ISSN 1682-8356
- Baehaki, A., Rinto dan A. Budiman. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Indralaya, Sumatera Selatan. J. Teknol. dan Industri Pangan, 22(1): 37-42.
- Balevi, T., U.S.U. An, B. Coşkun, V.Kurtoğlu and Ş.S. Etingul, 2001. Effect of dietary probiotic on performance and humoral immune response. British Poult. Sci. 42:456-461.
- Bergmann, M.1942. *A Clasification of Poteolytic Enzims*. Adv. Enzymol
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga: Jakarta
- Bradford MM. 1976. A Rapid and Sensitive Methode For The Quantitationof Microgram quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein –Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254
- Dwi, N. 2013. Potensi Induksi Medan Magnet Eksternal Untuk Efektivitas Fotoinaktivasi Bakteri Patogen. *Journal of Physics and Application*. Vol. I No.3
- Green DH., Wakeley PR,1 Page A,1 Barnes A,1 Baccigalpi L,2 Ricca E,2 and Cutting SA. 1999. Characterization of Two *Bacillus* Probiotics. APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY- Sept. 1999, p. 4288–4291 Vol. 65, No. 9
- Fuller, R., 1999. Probiotics for farm animal. In Gerald W. Tannock, 1999. Probiotics A Critical Review. Horizon Scientific Press, Wymondham, U.K.
- Kosim, Muhammad dan Surya Rosa Putra. 2010. *Pengaruh Suhu Pada Protease dari Bacillus subtilis*. Prosiding Skipsi
- Lie, Jie. 2015. Study on the effect of magnetic field treatment of newly isolated Paenibacillus sp. *Botanical Studies* (2015) 56:2
- Mubarik, N.R., 2001. Pemurnian dan Karakterisasi Protease ekstraseluler dari isolate bakteri termofilik GP-04. *Disertasi. IPB. Bogor*.
- Muchtadi, T.R. & Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses dan Teknologi Pangan*. Bandung: Alfabeta.

- Nabilasani, GC. dan Sumardi. 2015. Karakterisasi Enzim Xilanase dari *Bacillus* sp. *Seminar Nasional Sains & Teknologi VI Lembaga Penelitian dan Pengabdian Universitas Lampung*
- Nailola, E dan Nunuk W. 2007. Semi Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Protease *Bacillus* sp.. *Jurnal Bidang Mikrobiologi LIPI*. 13(51-56).
- Naik. L.S., Aruna K, Sreevennela P, dan Devi CVR. 2013. Original Article Isolation and Biochemical characterization of protease isolated from *Bacillus* sp SVN12. *International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology*; 3(3): 94-101
- Nascimento, L.F.C., Botura, Jr.G., & Mota, R.P. 2003. "Glucose consume and growth of *e.coli* under electromagnetic field". *Rev. Inst.Med. trop. S. Paulo* 45(2): 65-67.
- Panda, A.K., M.R. Reddy, S.V. Rama Rao and N.K. Praharaj, 2003. Production performance, serum/yolk cholesterol and immune competence of white leghorn layers as influenced by dietary supplementation with probiotic. *Trop. Anim. Health and Prod.* 35: 85-94.
- Soesanto, S.S. 1996. Medan Elektromagnet. *Artikel Media Litbang. Vol II No. 03: 1-12*
- Said, M.I dan J.C. Likadja. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi Sebagai Penghasil Enzim Protease Pada Industri Penyamakan Kulit PT. Adhi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta. *JITP Vol. 2 No. 2. UGM*
- Setyasih, Nevi, Rochmah Agustrina, Tundjung Tripeni Handayani dan Eti Ernawati. 2013. Pengaruh Medan Magnet 0,3 mT terhadap Stomata Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.*
- Sumardi dan C N Ekowati. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Flora Normal Saluran Gastrointestinal Ayam Kampung (*Gallus domesticus*) untuk Probiotik. Makalah disajikan pada Seminar dan Rapat Tahunan (SEMIRATA) Badan Kerjasama PTN Wilayah Barat Bidang Ilmu MIPA di Universitas Bengkulu, 13 - 14 Mei 2008
- Sumardi, Hartono, M., dan Handayani,K. 2010. Pengaruh Pemberian Biakan *Bacillus* sp. Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* dan *Escherichia coli* pada Broiler. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi – III -Unila B. Lampung.* 18-19 Oktober 2010 ISBN 978-979-8510-20-5
- Sudarti, Nurhayati, Eka Ruriani, Vonni Triana Hersa 2014. Prevalence of *Salmonella* Typhimurium on Gado-Gado Seasoning by Treatment of Extremely Low Frequency (ELF) Magnetic Field. *Artikel-ELF-Salmonella.* Jember University
- Sudaryati Soeka, Yati, Sri Hartin Rahayu, Ninu Setianingrum, Elidar Naiola. 2011. Kemampuan *bacillus licheniformis* dalam Memproduksi enzim protease yang bersifat Alkalin dan termofilik. *Media Litbang Kesehatan Volume 21 Nomor 2*
- Sumardi, L., dan Dewi. 2009. *Isolasi Bacillus Penghasil Protease Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung.* Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat. Unila.
- Sutariningsih, Endang. 2012. Potensi Pengguna Magnetic Pengguna Fe dan Hg. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada.
- Yusufa, Mohammad H., Masdiana C. Padaga, Dyah A. Octavianie. 2012. Identifikasi dan studi aktivitas protease *Bacillus* sp asal limbah cair rumah potong ayam tradisional sebagai kandidat penghasil biodeterjen. Universitas Brawijaya