

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL
ENZIM β -GLUKOSIDASE DARI EKOSISTEM GUMUK
PASIR PARANGKUSUMO, YOGYAKARTA**

SKRIPSI



AULIA AZZAHRA

PROGRAM STUDI S-1

BIOLOGI DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

2022

IR – PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL
ENZIM β -GLUKOSIDASE DARI EKOSISTEM GUMUK
PASIR PARANGKUSUMO, YOGYAKARTA**

SKRIPSI



AULIA AZZAHRA

PROGRAM STUDI S-1

**BIOLOGI DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

UNIVERSITAS AIRLANGGA

2022

i

SKRIPSI

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI

AULIA A.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM
 β -GLUKOSIDASE DARI EKOSISTEM GUMUK PASIR
PARANGKUSUMO, YOGYAKARTA**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh

Gelar Sarjana Sains Bidang Biologi

Pada Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

Aulia Azzahra

NIM 081711433061

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Dr. Ni'matuzahroh

NIP. 196801051992032003

Pembimbing II,



Almando Geraldi, S.Si, Ph.D

NIP.198704212018093101

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim β -Glukosidase
dari Ekosistem Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta

Penyusun : Aulia Azzahra

Nomor Induk : 081711433061

Tanggal Sidang : 12 Mei 2022

Disetujui Oleh

Pembimbing I,



Dr. Ni'matuzahroh
NIP. 196801051992032003

Pembimbing II,



Almando Geraldi, S.Si., Ph.D
NIP. 198704212018093101

Mengetahui:
Ketua Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga



Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M. Si
NIP. 196602211992032001

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Aulia Azzahra
NIM : 081711433061
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Universitas : Airlangga
Jenjang : S1

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM β -
GLUKOSIDASE DARI EKOSISTEM GUMUK PASIR
PARANGKUSUMO, YOGYAKARTA**

Apabila suatu saat terbukti melakukan plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan. Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 18 Mei 2022



Aulia Azzahra

Aulia Azzahra, 2022. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim β -Glukosidase dari Ekosistem Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta.** Skripsi ini dibawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Almando Geraldi S.Si, Ph.D. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta merupakan ekosistem yang unik karena memiliki tipe gumuk pasir barchan namun terletak di wilayah beriklim tropis basah. Gumuk Pasir Parangkusumo menyimpan biodiversitas mikroorganisme yang unik dan kaya manfaat, salah satunya bakteri penghasil enzim β -glukosidase. Enzim β -glukosidase merupakan enzim potensial yang banyak digunakan dalam bidang industri. Penggunaan enzim β -glukosidase yang dihasilkan bakteri bersifat lebih unggul karena ramah lingkungan, efektif dan bekerja lebih optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi spesies bakteri penghasil enzim β -glukosidase dari sampel Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah inokulasi sampel pasir, analisis karakteristik makroskopis bakteri, pemurnian sampel, analisis karakteristik mikroskopis, isolasi DNA genom, uji aktivitas enzim β -glukosidase, *Polymerase Chain Reaction*, analisis hasil *sequencing* menggunakan aplikasi *software* Bioedit versi 7.2.5 dan website BLASTn. Penelitian ini berhasil mengidentifikasi 2 bakteri penghasil enzim β -glukosidase, yaitu *Bacillus inaquosorum* dengan nilai *per. identity* 98.71% dan *Bacillus spizizenii* yang memiliki nilai *per. identity* sebesar 99.45%.

Kata Kunci : Gumuk pasir, enzim β -glukosidase, bakteri penghasil β -glukosidase, *Bacillus inaquosorum*, *Bacillus spizizenii*, Enzim, 16S rRNA.

Aulia Azzahra, 2022. **Isolation and Identification of β -Glucosidase – Producing Bacteria from Parangkusumo Sand Dune Ecosystem, Yogyakarta.**

This bachelor thesis are under guidance of Dr. Ni'matuzahroh and Almando Geraldi, S.Si., Ph.D. Biology Department, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

Parangkusumo Sand Dune, Yogyakarta is an unique ecosystem because it has a barchan sand dune type which is located in a wet tropical climate. The Parangkusumo Sand Dune has unique and rich biodiversity of microorganisms, one of it is β -glucosidase- producing bacteria. The β -glucosidase enzyme is a potential enzyme that is widely used in industry. The use of β -glucosidase enzymes produced by bacteria is superior because it is environmentally friendly, effective and works more optimally. This research aims to isolate and identify bacterial species that produce β -glucosidase enzymes from sand samples of Parangkusumo Sand Dunes, Yogyakarta. The methods used in this study were sand samples inoculation, analysis of macroscopic characteristics of bacteria, samples purification, analysis of microscopic characteristics, genomic DNA isolation, testing of β -glucosidase enzyme activity, Polymerase Chain Reaction, analysis of sequencing results using Bioedit software version 7.2.5 and BLASTn website. The result of this research succeeded in identifying 2 bacteria that produce β -glucosidase enzymes, namely *Bacillus inaquosorum* with a value of per. identity 98.71% and *Bacillus spizizenii* which has a value of per. identity of 99.45%.

Keywords : Sand dune, β -glucosidase enzyme, β -glucosidase-producing bacteria, *Bacillus inaquosorum*, *Bacillus spizizenii*, 16S rRNA sequencing.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah memberikan petunjuk dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim β -Glukosidase dari Ekosistem Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta”**. Skripsi ini merupakan bagian dari proyek penelitian yang dilakukan oleh Bapak Almando Geraldi, S.Si, Ph.D.

Penyusunan naskah skripsi ini dilakukan sebagai salah satu syarat kelulusan Sarjana-1 Biologi Universitas Airlangga. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa naskah skripsi ini memiliki banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun dari berbagai pihak sangat diharapkan. Semoga naskah ini dapat memberikan manfaat dan berguna untuk pengembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 22 April 2022

Penyusun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala, oleh karena petunjuk dan rahmatNya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Selama proses penyusunan skripsi ini, dukungan dan bimbingan serta doa telah diberikan oleh beberapa pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Ni'matuzahroh selaku pembimbing dan penguji 1 yang selama ini telah memberikan ilmu, wawasan dan inspirasi selama perkuliahan, serta bimbingan, saran, dan arahan selama penulisan dan penyusunan naskah skripsi.
2. Bapak Almando Geraldi, S.Si, Ph. D selaku pembimbing dan penguji 2 yang menjadi inspirasi penulis, yang telah memberikan ilmu, wawasan dan pengalaman berharga yang tidak terlupakan di masa perkuliahan, juga ide penelitian dan bimbingan selama penyusunan naskah skripsi.
3. Bapak Drs. Agus Supriyanto, M. Kes. selaku penguji III yang telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan naskah skripsi.
4. Bapak Hari Soepriandono, M.Si. selaku penguji IV yang telah memberikan saran dan masukan dalam penulisan naskah skripsi.
5. Ibu Prof. Dr. Sri Puji Astuti Wahyuningsih, M.Si. selaku Ketua Departemen Biologi dan Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga yang senantiasa mengingatkan dan memberikan arahan untuk penyelesaian naskah skripsi.
6. Ibu Dr. Listijani Suhargo selaku dosen wali yang senantiasa memberikan arahan, saran, masukan dan bimbingan dalam menjalani dunia perkuliahan.
7. Seluruh dosen Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, atas segala ilmu, wawasan dan pengalaman yang telah

diberikan selama perkuliahan.

8. Orang tua penulis yang telah memberikan rasa percaya, semangat dan doa tanpa henti dalam setiap langkah kehidupan penulis; serta adik-adik tersayang.
9. Sahabat dan teman terdekat penulis, Oci, Kimal, Atul, yang telah berbagi cerita dan menemani hari-hari perkuliahan; keluarga kontrakan Bu Anik, Yeni, Frazna, Rahma, Riza, Nurul, yang menjadi keluarga kedua selama masa perkuliahan di Surabaya; Gita dan Vera, teman seperjuangan semester akhir; serta Yana, Febri dan Mbak Ela yang telah memberi semangat dan bantuan di masa akhir perkuliahan.
10. Keluarga besar Biologi 2017, keluarga LPM FORMAT, JIMM FST UNAIR dan BEM FST UNAIR yang telah memberikan pengalaman organisasi kepada penulis selama perkuliahan.
11. Sahabat penulis, Siti dan Barika yang sudah seperti saudara bagi penulis, juga Indira dan Febri yang selalu ada untuk saling berbagi cerita dan nasihat.
12. Kakak penulis, Mas Riza, yang telah memberikan pandangan baru, semangat, nasihat dan cerita yang menginspirasi, serta membuat penulis memiliki kesempatan untuk meraih salah satu mimpi dan target di masa akhir perkuliahan.

Surabaya, 22 April 2022

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
UCAPAN TERIMA KASIH	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Asumsi Penelitian	6
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tinjauan Umum Gumuk Pasir	8
2.2 Ekosistem Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta	11
2.3 Mikroba pada Gumuk Pasir Parangkusumo	13
2.4 Tinjauan Umum Enzim β -Glukosidase	14
2.5 Aplikasi Enzim β -Glukosidase	18
2.6 Metode Identifikasi Bakteri	21
2.6.1 Identifikasi bakteri secara makroskopis	21
2.6.2 Identifikasi bakteri secara mikroskopis	23
2.6.3 Identifikasi bakteri melalui pewarnaan gram	25

2.6.4 Identifikasi bakteri secara molekuler	26
2.6.4.1 Polymerase Chain Reaction (PCR)	26
2.6.4.2 Analisis gen 16s rRNA	31
BAB III METODE PENELITIAN	36
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	36
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	36
3.2.1 Alat penelitian	36
3.2.2 Bahan penelitian	37
3.3 Jenis Penelitian	40
3.4 Metode dan Analisis Data	40
3.4.1 Pembuatan media	40
3.4.2 Inokulasi sampel pasir	41
3.4.3 Identifikasi makroskopis bakteri	41
3.4.4 Pemurnian sampel	42
3.4.5 Identifikasi mikroskopis bakteri	42
3.4.6 Analisis aktivitas enzim β -Glukosidase	43
3.4.7 Pembuatan stok gliserol	43
3.4.8 Isolasi DNA genom bakteri	44
3.4.9 <i>Polymerase chain reaction</i> DNA genom untuk mengamplifikasi Gen 16S rRNA	45
3.4.10 Analisis hasil <i>sequencing</i> bakteri penghasil β -glukosidase	47
3.5 Diagram Alur Penelitian	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	49
4.1 Hasil Penelitian	49
4.1.1 Karakterisasi makroskopis bakteri penghasil enzim β -glukosidase	50
4.1.2 Karakterisasi mikroskopis bakteri penghasil enzim β -glukosidase	54
4.1.3 Pengujian enzim β -glukosidase	56
4.1.4 Identifikasi isolat bakteri penghasil enzim β -glukosidase secara molekuler	58
4.1.4.1 Elektroforesis DNA genome	58

4.1.4.2 Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA genome	59
4.1.4.3 Elektroforesis hasil PCR	60
4.1.4.4 <i>Local alignment search tool</i> – <i>nucleotide</i> bakteri penghasil enzim β – glukosidase	61
4.2 Pembahasan	61
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	73

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Persebaran <i>Well developed dune system</i> dan <i>Small sand dunes</i> di seluruh dunia (Martinez <i>et al.</i> , 2004)	9
2.2	Tipe-tipe gumuk pasir bebas (<i>free dunes</i>) (Summerfield, 1991)	10
2.3	Tipe-tipe gumuk pasir terhalang (<i>impeded dunes</i>) (Summerfield, 1991)	10
2.4	Mekanisme aksi dari enzim β -Glukosidase penahan (A) dan enzim β -Glukosidase pembalik (B)	15
2.5	Karakteristik Koloni Bakteri (Putri dkk., 2017)	23
2.6	Morfologi koloni bakteri berdasarkan bentuk, tepian, dan ketinggian (Cappuccino dan Sherman, 2014)	23
2.7	Morfologi sel bakteri (Kayser <i>et al.</i> , 2021)	24
2. 8	Tahap-tahap dalam metode PCR (Gregorson,___)	28
3.1	Titik pengambilan sampel di zona 1 (P1)	38
3.2	Titik pengambilan sampel di zona 2 (P2)	38
3.3	Titik pengambilan sampel di zona (P3)	39
3.4	Aktivitas β -glukosidase pada media Luria Bertani (Gerald dkk., 2019)	43
4.1	Hasil positif dari uji aktivitas enzim β -glukosidase pada isolat A (a) dan isolat F(b)	56
4.2	Visualisasi pita DNA genom	58
4.3	Visualisasi pita DNA hasil <i>sequencing</i> gen 16S rRNA	60

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
Tabel 4.1	Tabel karakterisasi makroskopis bakteri dari ekosistem Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta	50
Tabel 4.2	Tabel karakterisasi mikroskopis bakteri dari ekosistem Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta	54
Tabel 4.3	Hasil pengujian pertumbuhan bakteri di media X-Glc	57
Tabel 4.4	Pengukuran konsentrasi dan kemurnian isolasi DNA genom	59
Tabel 4.5	Hasil BLASTn bakteri penghasil enzim β -glukosidase	61

DAFTAR LAMPIRAN

1. Data sifat kimia dan fisika Gumuk Pasir Parangkusumo, Yogyakarta	73
2. Konsensus isolat A	73
3. Konsensus isolat F	74
4. Hasil BLASTn isolat A	75
5. Hasil BLASTn isolat F	75