

ISOLASI, IDENTIFIKASI, KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL LAKASE DARI ECENG GONDOK (*Eichhornia crassipes*) DAN UJI RESISTENSI PADA KLOORPIRIFOS

IZATU SEPTINAHARIN M



**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University,



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul "Isolasi, Identifikasi, Karakterisasi Bakteri Penghasil Lakase dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dan Uji Resistensi pada Klorpirifos)" adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir laporan akhir ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2026

Izatu Septinaharin M
NIM. P0501222014

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

IZATU SEPTINAHARIN M. Isolasi, Identifikasi, Karakterisasi Bakteri Penghasil Lakase dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dan Uji Resistensi pada Klorpirifos. Dibimbing oleh ANAS MIFTAH FAUZI dan SARJIYA ANTONIUS.

Situ Gunung Putri merupakan salah satu danau perkotaan di Kabupaten Bogor, Indonesia, yang dikelilingi oleh kawasan perkotaan, pertanian, dan industri dengan beragam aktivitas antropogenik. Namun, pertumbuhan eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) yang berlebihan telah menurunkan nilai ekologis dan fungsional danau tersebut. Eceng gondok merupakan sumber biomassa lignoselulosa yang mengandung lignin, yang dapat berfungsi sebagai substrat bagi bakteri penghasil lakase.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil lakase dari sampel akar eceng gondok dan sedimen yang diambil dari Situ Gunung Putri, mengevaluasi aktivitas lakasanya, serta menentukan ketahanannya terhadap klorpirifos. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan sampel yang diambil dari sepuluh petak pengambilan sampel. Skrining bakteri penghasil lakase dilakukan menggunakan media yang mengandung guaiakol. Isolat terpilih diidentifikasi dan dievaluasi aktivitas enzim lakasanya. Isolat yang paling potensial, yang diberi kode EGA4.9, diidentifikasi sebagai *Bacillus subtilis*. Enzim tersebut kemudian dikarakterisasi pada berbagai kondisi pH, suhu, dan konsentrasi inducer CuSO₄. Selain itu, isolat tersebut diuji ketahanannya terhadap klorpirifos.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat EGA4.9 menunjukkan aktivitas lakase yang signifikan. Produksi lakase optimal dicapai pada pH 5, suhu 25°C, konsentrasi CuSO₄ 2 mM, dan masa inkubasi 96 jam. Lebih lanjut, isolat tersebut mempertahankan aktivitas lakase pada rentang nilai pH (5–8) dan suhu (25–50°C) yang luas. Galur ini juga menunjukkan ketahanan terhadap klorpirifos pada konsentrasi 100, 300, 500, 800, dan 1000 ppm. Temuan ini mengindikasikan bahwa *Bacillus subtilis* EGA4.9 memiliki potensi besar untuk aplikasi bioremediasi karena kemampuannya menghasilkan lakase pada berbagai kondisi lingkungan dan resistensinya terhadap konsentrasi klorpirifos yang tinggi. Oleh karena itu, bakteri ini dapat berpotensi pada remediasi klorpirifos sekaligus mendukung pemanfaatan biomassa eceng gondok dan memitigasi masalah terkait eceng gondok di Situ Gunung Putri.

Kata kunci: Bioremediasi, *Bacillus subtilis*, eceng gondok, klorpirifos, lakase



SUMMARY

IZATU SEPTINAHARIN M. Isolation, Identification, and Characterization of Laccase-Producing Bacteria from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and their Resistance to Chlorpyrifos. Supervised by ANAS MIFTAH FAUZI and SARJIYA ANTONIUS

Situ Gunung Putri is one of the urban lakes in Bogor Regency, Indonesia, surrounded by urban, agricultural, and industrial areas with diverse anthropogenic activities. However, the excessive growth of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) has reduced the ecological and functional value of the lake. Water hyacinth is a lignocellulosic biomass source containing lignin, which can serve as a substrate for laccase-producing bacteria.

This study aimed to isolate laccase-producing bacteria from water hyacinth root and sediment samples collected from Situ Gunung Putri, evaluate their laccase activity, and determine their resistance to chlorpyrifos. Bacterial isolation was conducted using samples collected from ten sampling plots. Screening for laccase-producing bacteria was performed using guaiacol-containing media. Selected isolates were identified and evaluated for laccase enzyme activity. The most promising isolate, designated EGA4.9, was identified as *Bacillus subtilis*. The enzyme was further characterized under different pH conditions, temperatures, and CuSO₄ inducer concentrations. In addition, the isolate was tested for its resistance to chlorpyrifos.

The results showed that isolate EGA4.9 exhibited significant laccase activity. Optimal laccase production was achieved at pH 5, a temperature of 25°C, a CuSO₄ concentration of 2 mM, and an incubation period of 96 h. Furthermore, the isolate maintained laccase activity across a broad range of pH values (5–8) and temperatures (25–50°C). The strain also demonstrated resistance to chlorpyrifos at concentrations of 100, 300, 500, 800, and 1000 ppm. These findings indicate that *Bacillus subtilis* EGA4.9 possesses considerable potential for bioremediation applications due to its ability to produce laccase under varying environmental conditions and tolerate high concentrations of chlorpyrifos. This bacterium may therefore potential to chlorpyrifos remediation while simultaneously supporting the utilization of water hyacinth biomass and mitigating water hyacinth-related problems in Situ Gunung Putri.

Keywords: Bioremediation, *Bacillus subtilis*, chlorpyrifos, laccase, water hyacinth



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University,

ISOLASI, IDENTIFIKASI, KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL LAKASE DARI ECENG GONDOK (*Eichhornia crassipes*) DAN UJI RESISTENSI PADA KLORPIRIFOS

IZATU SEPTINAHARIN M

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Bioteknologi

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji pada Ujian Tesis:
Dr. Ir. Mulyorini Rahayuningsih, M.Si

Judul Tesis : Isolasi, Identifikasi, Karakterisasi Bakteri Penghasil Lakase dari
Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dan Uji Resistensi pada
Klorpirifos
Nama : Izatu Septinaharin M
NIM : P0501222014

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng

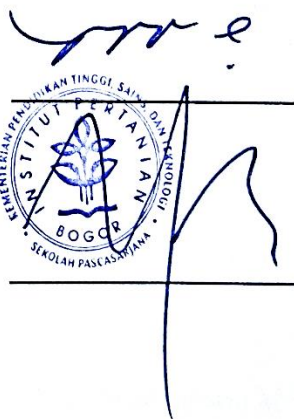


Pembimbing 2:
Dr. rer. nat. Sarjiya Antonius



Diketahui oleh

Ketua Program Studi Bioteknologi:
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si
NIP. 196204191989031001



Dekan Sekolah Pascasarjana:
Prof. Dr. Ir. Yusli Wardiatno, M.Sc
NIP. 196607281991031002

Tanggal Ujian: 14 Agustus 2026

Tanggal Lulus: 03 SEP 2026



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University,

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga penyusunan proposal ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian ialah pemanfaatan bakteri penghasil enzim lakase dengan menguji resistensinya pada insektisida klorpirifos untuk mengurangi dampak pencemaran pestisida, penelitian ini juga dilakukan untuk memanfaatkan tanaman eceng gondok yang tumbuh secara masif dan berdampak buruk pada warga sekitar, hingga penulis membuat penelitian ini dengan judul "Isolasi, Identifikasi, Karakterisasi Bakteri Penghasil Lakase dari Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dan Uji Resistensi pada Klorpirifos".

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng dan Dr. rer. nat. Sarjiya Antonius yang telah membimbing dan banyak memberi saran dalam penyelesaian proposal ini. Karakterisasi aktivitas enzim lakase *Bacillus subtilis* EGA4.9 berdasarkan suhu, (a) Pertumbuhan sel, (b) aktivitas enzim lakase Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Badan Riset dan Inovasi Nasional yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada tim peneliti Riset Mikrobioma Nutrisi Tanaman, Riki Ruhimat M.Si, Tirta Kumala Dewi M.Sc, Nani Mulyani, Dr.rer.nat. Zahra Noviana, M.Si, Entis Sutisna, beserta peneliti dan staf Laboratorium Bakteriologi, Idris M.Si, Rini Handayani M.Si, Ninu Setianingrum, Mulyadi yang telah membantu dan membersamai selama penelitian dilaksanakan. Ungkapan terima kasih juga tidak lupa disampaikan kepada Ayah, Ibu, keluarga besar, dan seluruh rekan di laboratorium bakteriologi, serta rekan dan staf di program studi bioteknologi IPB University yang telah memberikan dukungan, bantuan, doa, dan motivasi kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tesis ini terdapat kekurangan yang harus disempurnakan. Penulis berharap saran, pemikiran, dan gagasan untuk menyempurnakan penelitian ini ke depan. Penulis sampaikan terima kasih dan penghargaan atas saran, pemikiran, dan gagasan untuk penyempurnaan proposal dan penelitian ini.

Bogor, Agustus 2026

Izatu Septinaharin M
NIM. P0501222014



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Eceng Gondok	4
2.2 Enzim Lakase	4
2.3 Potensi Bakteri Penghasil Lakase dalam Bioremediasi Klorpirifos	6
III METODE PENELITIAN	7
3.1 Tempat Penelitian	7
3.2 Alat dan Bahan	7
3.3 Prosedur Penelitian	8
3.3.1 Pengambilan Sampel	8
3.3.2 Kelimpahan Bakteri pada Sampel Akar dan Sedimen Eceng Gondok	9
3.3.3 Seleksi Bakteri Penghasil Lakase Secara Kualitatif	9
3.3.4 Seleksi Bakteri Penghasil Lakase Secara Kuantitatif	10
3.3.5 Karakterisasi Bakteri	11
3.3.6 Aktivitas Hemolitik	12
3.3.7 Aktivitas Hipersensitivitas	12
3.3.8 Identifikasi 16S rRNA	12
3.3.9 Karakterisasi Aktivitas Enzim Lakase	13
3.3.10 Uji Resistensi Klorpirifos	13
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Kelimpahan Bakteri pada Sampel Akar dan Sedimen Eceng Gondok	14
4.2 Seleksi Bakteri Penghasil Lakase Secara Kualitatif	15
4.3 Seleksi Bakteri Penghasil Lakase Secara Kuantitatif	18
4.4 Karakterisasi Bakteri	20
4.5 Aktivitas Hemolitik dan Hipersensitivitas	22
4.6 Identifikasi 16S rRNA	22
4.7 Karakterisasi Aktivitas Enzim Lakase	23
4.8 Uji Resistensi Klorpirifos	28
V SIMPULAN DAN SARAN	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	33



DAFTAR TABEL

1	Seleksi isolat bakteri secara kualitatif pada media bersubstrat guaiakol dengan dan tanpa penambahan induser	16
2	Pengamatan <i>Enzymatic Index</i> (EI) pada tiga isolat terpilih	18
3	Karakterisasi isolat bakteri EGA4.9	22
4	Hasil karakterisasi aktivitas lakase dengan parameter yang berbeda	24
5	Pengamatan pertumbuhan bakteri pada media media minimal M9 cair yang di tambah klorpirifos (CPF)	29

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme reaksi katalitik lakase secara umum	5
2	Skema bakteri mengoksidasi ABTS sebagai substrat	6
3	Diagram alir isolasi, identifikasi, karakterisasi bakteri penghasil lakase untuk mendegradasi klorpirifos	9
4	Lokasi pengambilan sampel di Situ Gunung Putri	10
5	Reaksi oksidasi substrat ABTS oleh lakase	12
6	Kelimpahan populasi bakteri di Situ Gunung Putri, (a) populasi bakteri akar eceng gondok, (b) populasi bakteri dari sedimen	15
7	Isolat terpilih yang menunjukkan adanya aktifitas lakase pada media bersubstrat guaiakol	18
8	Grafik aktivitas enzim lakase isolat EGA 4.9 secara kuantitatif	19
9	Indikator visual aktivitas lakase pada isolat EGA4.9 menggunakan ABTS	20
10	Uji patogenitas (a) aktivitas hemolitik, (b) aktivitas hipersensitivitas	23
11	Pohon filogenetik isolat terpilih EGA4.9 sumber lingkungan	24
12	Grafik pertumbuhan sel dan karakterisasi enzim lakase berdasarkan pH pada strain <i>Bacillus subtilis</i> EGA4.9	25
13	Grafik pertumbuhan sel dan karakterisasi enzim lakase berdasarkan suhu pada strain <i>Bacillus subtilis</i> EGA4.9	26
14	Grafik pertumbuhan sel dan karakterisasi enzim lakase berdasarkan induser pada strain <i>Bacillus subtilis</i> EGA4.9	28
15	TPC bakteri pada media media minimal M9 cair yang di tambah dengan klorpirifos	30



DAFTAR LAMPIRAN

1	Titik lokasi pengambilan sampel di Situ Gunung Putri	48
2	Hasil BLAST sequen DNA isolat EGA4.9 pada NCBI	49
3	Pengamatan aktivitas lakase pada uji kuantitatif dan karakterisasi enzim lakase	49
4	Stok isolat EGA4.9 murni dengan aktivitas lakase di media NA miring dengan substrat guaiakol	50
5	Karakterisasi isolat EGA4.9	50

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.