

SKRINING MIKROORGANISME HALOFILIK DAN HALOTOLERAN PENGHASIL PROTEASE DARI LADANG GARAM LOMBOK DENGAN MEDIA GARAM KROSOK

FIRYA ANDRIANU ALFIA ZAHRA



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@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 SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Skrining Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran Penghasil Protease dari Ladang Garam Lombok dengan Media Garam Krosok” 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 skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor dan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Bogor, Juli 2024

Firya Andrianu Alfia Zahra
G8401201054



@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.

Perpustakaan IPB University

ABSTRAK

FIRYA ANDRIANU ALFIA ZAHRA. Skrining Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran Penghasil Protease dari Ladang Garam Lombok dengan Media Garam Krosok. Dibimbing oleh LAKSMI AMBARSARI dan DIAN ALFIAN NURCAHYANTO

Ladang garam merupakan salah satu lingkungan dengan kondisi garam tinggi, menjadikannya habitat potensial bagi mikroorganisme halofilik dan halotoleran. Mikroorganisme ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim protease yang penting dalam berbagai aplikasi industri, baik industri pangan maupun non pangan. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme halofilik dan halotoleran penghasil protease dari Ladang Garam Lombok menggunakan media garam krosok. Metode penelitian ini meliputi isolasi mikroorganisme menggunakan media selektif dengan berbagai konsentrasi garam, dilanjutkan dengan uji aktivitas protease melalui metode hidrolisis kasein menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA) 2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 29 isolat mampu memproduksi enzim protease, di antaranya sembilan isolat menunjukkan aktivitas protease yang tinggi yaitu isolat 1-1a, 1-3b, 7-5b, 20-1a, 21-2a, 22-1a, 22-2a, 22-3a, dan 12-2b dengan rata-rata indeks proteolitik diatas 1,77 ($IP \geq 1,77$). Identifikasi molekuler pada gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk dalam genus *Planococcus*, *Exiguobacterium*, *Thalassobacillus*, *Halobacillus*, dan *Bacillus*.

Kata Kunci: halofilik, halotoleran, ladang garam, media garam krosok, protease

ABSTRACT

FIRYA ANDRIANU ALFIA ZAHRA. Screening of Halophilic and Halotolerant Microorganisms Producing Protease from Lombok Salt Pans Using Solar Salt Medium. Supervised by LAKSMI AMBARSARI and DIAN ALFIAN NURCAHYANTO

Salt pans are one of the environments with high salt conditions, making them a potential habitat for halophilic and halotolerant microorganisms. These microorganisms have the ability to produce protease enzymes that are important in various industrial applications, both in the food and non-food industries. This study aimed to isolate and identify halophilic and halotolerant microorganisms producing protease from Lombok Salt Pans using Solar Salt Medium (SSM). The research methods included the isolation of microorganisms using selective media with various salt concentrations followed by the testing of protease activity through casein hydrolysis using 2% *Skim Milk Agar* (SMA). The results showed that 29 isolates were able to produce protease, with nine isolates exhibiting high protease activity: isolates 1-1a, 1-3b, 7-5b, 20-1a, 21-2a, 22-1a, 22-2a, 22-3a, and 12-2b with an average proteolytic index above 1.77 ($PI \geq 1.77$). Molecular identification of the 16S rRNA gene indicated that these isolates belong to the genus *Planococcus*, *Exiguobacterium*, *Thalassobacillus*, *Halobacillus*, and *Bacillus*.

Keywords: halophilic, halotolerant, salt pans, protease, solar salt medium



@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.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
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.

SKRINING MIKROORGANISME HALOFILIK DAN HALOTOLERAN PENGHASIL PROTEASE DARI LADANG GARAM LOMBOK DENGAN MEDIA GARAM KROSOK

FIRYA ANDRIANU ALFIA ZAHRA

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@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.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

- 1 Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si.
- 2 Syaefudin, S.Si., M.Si., Ph.D.



Judul Skripsi : Skrining Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran Penghasil
Protease dari Ladang Garam Lombok dengan Media Garam
Krosok

Nama : Firya Andrianu Alfia Zahra
NIM : G8401201054

@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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S.

Pembimbing 2:
Dian Alfian Nurcahyanto, S.Si., M.Si.

Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia:
Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP. 197709152005012002





@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.

Perpustakaan IPB University



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa penulis hanturkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa kita dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang dengan ilmu pengetahuan. Karya ilmiah ini berjudul "Skrining Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran Penghasil Protease dari Ladang Garam Lombok dengan Media Garam Krosok" yang telah dilaksanakan sejak bulan November 2023 hingga bulan Mei 2024. Penyusunan karya ilmiah ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana di Departemen Biokimia.

Penulis menyadari bahwa karya ilmiah ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S. selaku pembimbing utama dan Dian Alfian Nurcahyanto, S.Si., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing dan banyak memberi saran, serta kepada Alm. Ir. Akhmad Endang Zainal Hasan. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada pembimbing akademik dan penguji luar komisi pembimbing, Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si. dan Syaefudin, S.Si, M.Si., Ph.D. yang telah menelaah dan memberikan kritik serta saran kepada penulis. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong yang telah memberikan penulis izin penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada RIIM LPDP Grant, dengan kontrak nomer B-842/II.7.5/FR.06/5/2023;B-2458/III.4/HK/5/2023 atas nama Prof. Dr. Ir. Ekowati Chasanah, M.Sc. selaku Peneliti di Pusat Riset Bioindustri Laut dan Darat BRIN yang telah mendanai penelitian karya ilmiah ini.

Tidak lupa pula, ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada kedua orang tua, Bapak Ung Syukur dan Ibu Imaroh Rina Setyani, kedua adik, Daffa Imam Hasani dan Fabian Umar Hafidz serta seluruh yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Ucapan terima kasih yang terakhir penulis sampaikan kepada Faris Adam, teman-teman Roasting Class, serta teman-teman Hemorrhage (Biokima 57) yang telah menemani dan memberikan dukungan kepada penulis selama ini. Semoga kebaikan yang telah diberikan teman-teman kepada penulis menjadi amal jariyah yang diridhai Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya ilmiah ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis meminta maaf atas kesalahan yang dilakukan penulis. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Firya Andrianu Alfia Zahra



@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.

Perpustakaan 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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

PRAKATA	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Ladang Garam	3
2.2 Mikroorganisme Halofilik	4
2.3 Mikroorganisme Halotoleran	4
2.4 Enzim Protease	5
III METODE	7
3.1 Waktu dan Tempat	7
3.2 Alat dan Bahan	7
3.3 Prosedur Kerja	7
3.4 Analisis Data	11
IV HASIL	12
4.1 Jumlah Isolat Hasil Isolasi dan Purifikasi	12
4.2 Karakteristik Morfologi Isolat	12
4.3 Aktivitas Proteolitik Isolat	13
4.4 Identifikasi Molekuler Isolat Proteolitik Tinggi	15
V PEMBAHASAN	17
5.1 Jumlah Isolat Hasil Isolasi dan Purifikasi	17
5.2 Karakteristik Morfologi Isolat	18
5.3 Aktivitas Proteolitik Isolat	19
5.4 Identifikasi Molekuler Isolat Proteolitik Tinggi	20
VI SIMPULAN DAN SARAN	23
6.1 Simpulan	23
6.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	30
RIWAYAT HIDUP	55



DAFTAR TABEL

1	Daftar sekuens primer untuk amplifikasi 16s rRNA	10
2	Komposisi PCR untuk amplifikasi bakteri 16s rRNA	10
3	Komposisi PCR untuk amplifikasi arkea 16s rRNA	10
4	Program reaksi PCR untuk amplifikasi bakteri 16s rRNA	10
5	Program reaksi PCR untuk amplifikasi arkea 16s rRNA	11
6	Jumlah isolat yang berhasil diisolasi dan dipurifikasi	12
7	Kuantifikasi DNA isolat	15
8	Kuantifikasi DNA isolat (<i>lanjutan</i>)	16
9	Hasil BLAST sekuens DNA	16

DAFTAR GAMBAR

1	Proses penggaraman dengan sistem bertingkat, air laut (3–3,5 °Be), bozem (5–10 °Be), peminihan 1 (8–15 °Be), peminihan 2 (14–19 °Be), peminihan 3 (18–24 °Be), dan kristalisasi (25–30 °Be)	3
2	Zona bening dari isolat positif proteolitik pada media SMA 2%	14
3	Rata-rata indeks proteolitik isolat dari media <i>Tryptic Soy Agar</i> dengan 5% garam.	14
4	Rata-rata indeks proteolitik isolat dari <i>Solar Salt Medium</i> 15%	14
5	Rata-rata indeks proteolitik isolat dari <i>Solar Salt Medium</i> 20%	15
6	Elektroforegram, (1) 12-2b, (2) 1-1a, (3) 1-3b, (4) 20-1a, (5) 21-2a, (6) 22-1a, (7) 22-2a, (8) 22-3a, (9) 7-5b	16

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan Alir Penelitian	31
2	Data Titik Pengambilan Sampel	32
3	Hasil Isolasi Sampel	33
4	Hasil Purifikasi Isolat	35
5	Morfologi Isolat pada Media TSA dengan 5% Garam	39
6	Morfologi Isolat pada SSM 15%	41
7	Morfologi Isolat pada SSM 20%	44
8	Hasil Uji Proteolitik pada Media SMA 2%	47
9	Hasil Pengukuran Indeks Proteolitik	50
10	Kromatogram Hasil Sekuensing Isolat 1-1a	52
11	Konsensus Isolat 1-1a	54