

PENAPISAN MIKROORGANISME HALOFILIK SERTA HALOTOLERAN PENGHASIL PROTEASE DARI LADANG GARAM BIMA DENGAN MEDIA GARAM KROSOK

PUTRI AZZAHARA BALQIS



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



(a) 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 “Penapisan Mikroorganisme Halofilik serta Halotoleran Penghasil Protease dari Ladang Garam Bima 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

Putri Azzahara Balqis
G8401201063



(a) 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.

ABSTRAK

PUTRI AZZAHARA BALQIS. Penapisan Mikroorganisme Halofilik serta Halotoleran Penghasil Protease dari Ladang Garam Bima dengan Media Garam Krosok. Dibimbing oleh LAKSMI AMBARSARI dan DIAN ALFIAN NURCAHYANTO.

Kebutuhan protease di Indonesia semakin meningkat seiring berjalannya waktu, namun masih bergantung pada impor. Keperluan akan protease tahan garam untuk memenuhi industri tersebut, bisa didapatkan dari mikroorganisme ladang garam. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme halofilik dan halotoleran yang diisolasi dari Ladang Garam di daerah Bima menggunakan media artifisial dengan penambahan garam krosok dari Bima untuk melihat potensi mikroorganisme tersebut sebagai penghasil enzim protease. Metode identifikasi mikroorganisme meliputi isolasi, seleksi isolat proteolitik dengan nilai $IP > 1$, pewarnaan Gram, ekstraksi DNA, amplifikasi, dan sekuensing gen 16S rRNA. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 116 isolat halofilik dan 43 isolat halotoleran berhasil diisolasi pada media dengan penambahan 15%, 20%, dan 5% garam krosok Bima. Sebanyak 28 isolat bersifat proteolitik yang ditandai dengan zona bening pada media susu skim 2%. Identifikasi 8 dari 9 isolat proteolitik terpilih berdasarkan gen 16S rRNA memiliki kemiripan 99%-100%. Isolat BM3-4a, BM4-7a, BM4-2a, BM16-2a, BM4-3a, BM4-4a, dan BM7-2b mirip *Halobacillus sp.* dan isolat BM4-1a mirip *Bacillus sp.*

Kata kunci: garam krosok, bakteri halofilik, bakteri halotoleran, protease.

ABSTRACT

PUTRI AZZAHARA BALQIS. Screening of Halophilic and Halotolerant Protease-producing Microorganisms from the Bima Salt Pond with Krosok Salt Media. Supervised by LAKSMI AMBARSARI and DIAN ALFIAN NURCAHYANTO.

The demand for protease in Indonesia is growing steadily, but it was still dependent on imports. The need for salt-resistant protease to fulfill the industry could be obtained from solar salt pond microorganisms. This study aimed to isolate and identify halophilic and halotolerant microorganisms isolated from Salt Ponds in Bima using artificial media with the addition of solar salt from Bima to assess the potential of these microorganisms as protease enzyme producers. Microorganism identification methods included isolation, selection of proteolytic isolates with $IP > 1$ value, Gram staining, DNA extraction, amplification, and 16S rRNA gene sequencing. The results showed that 116 halophilic isolates and 43 halotolerant isolates were successfully isolated on media with the addition of 15%, 20%, and 5% Bima solar salt. A total of 28 isolates were proteolytic characterized by a clear zone on 2% skim milk media. Identification of 8 out of 9 selected proteolytic isolates based on 16S rRNA gene had 99%-100% similarity. Isolates BM3-4a, BM4-7a, BM4-2a, BM16-2a, BM4-3a, BM4-4a, and BM7-2b were similar to *Halobacillus sp.*, and isolate BM4-1a was similar to *Bacillus sp.*

Keywords: solar salt, Halophilic bacteria, halotolerant bacteria, protease.



(a) 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 2024¹
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.

**PENAPISAN MIKROORGANISME HALOFILIK SERTA
HALOTOLERAN PENGHASIL PROTEASE DARI LADANG
GARAM BIMA DENGAN MEDIA GARAM KROSOK**

PUTRI AZZAHARA BALQIS

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**



(a) 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.

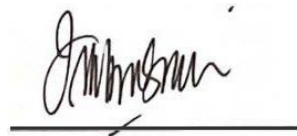
Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

- 1 Dr. Dimas Andrianto, S.Si., M.Si
- 2 Dr. Waras Nurcholis, S.Si, M.Si

Judul Skripsi : Penapisan Mikroorganisme Halofilik serta Halotoleran Penghasil
Protease dari Ladang Garam Bima dengan Media Garam Krosok
Nama : Putri Azzahara Balqis
NIM : G8401201063

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.
19770915 200501 2 002



Tanggal Ujian:
30 Juli 2024

Tanggal Lulus:



(a) 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 dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan dengan judul “Penapisan Mikroorganisme Halofilik serta Halotoleran Penghasil Protease dari Ladang Garam Bima dengan Media Garam Krosok”. Penyelesaian penelitian ini merupakan salah satu syarat yang harus terpenuhi untuk meraih gelar sarjana melakukan penelitian tugas akhir di Departemen Biokimia.

Keberhasilan usulan penelitian ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan semua pihak terkait. Oleh karena itu, penulis berterima kasih kepada Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S. selaku pembimbing utama dan Dian Alfian Nurcahyanto, S.Si., M.Si selaku pembimbing kedua yang telah senantiasa membimbing dan memberi banyak saran selama penyusunan karya ilmiah ini. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada RIIM LPDP Grant, grant number B-842/II.7.5/FR.06/5/2023; B-2458/III.4/HK/5/2023 atas nama Prof. Dr. Ekowati Chasanah. Serta ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada orangtua, seluruh keluarga dan rekan yang telah membantu dan memberikan dukungan serta doa, yang mana tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu. Penulis juga berterima kasih kepada Laboratorium *Indonesian Culture Collection* (InaCC) BRIN, Cibinong atas sarana dan prasana yang telah diberikan selama penelitian berlangsung.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Putri Azzahara Balqis



(a) 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	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
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	5
2.4 Enzim Protease	6
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 Isolasi dan Purifikasi Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran	12
4.2 Penapisan Mikroorganisme Proteolitik Halofilik dan Halotoleran	12
4.3 Pewarnaan Gram Isolat Proteolitik Halofilik dan Halotoleran Terpilih	17
4.4 Ekstraksi DNA Isolat Proteolitik Halofilik dan Halotoleran Terpilih	18
4.5 Amplifikasi Isolat Proteolitik Halofilik dan Halotoleran Terpilih	18
4.6 Identifikasi 16S rRNA Isolat Proteolitik Terpilih	19
V PEMBAHASAN	21
5.1 Isolasi dan Purifikasi Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran	21
5.2 Penapisan Enzim Protease Mikroorganisme Halofilik dan Halotoleran	21
5.3 Pewarnaan Gram Isolat Proteolitik Halofilik dan Halotoleran Terpilih	23
5.4 Ekstraksi DNA Isolat Proteolitik Halofilik dan Halotoleran Terpilih	24
5.5 Amplifikasi Isolat Proteolitik Halofilik dan Halotoleran Terpilih	25
5.6 Identifikasi 16S rRNA Isolat Proteolitik Terpilih	25
VI SIMPULAN DAN SARAN	28
6.1 Simpulan	28
6.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	37
RIWAYAT HIDUP	47

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 TABEL

1	Morfologi isolat mikroorganisme halotoleran yang bersifat proteolitik dari meja kristal ladang garam Bima, NTB	13
2	Morfologi isolat bakteri halofilik yang bersifat proteolitik dari meja kristal ladang garam Bima, NTB	14
3	Hasil Pewarnaan Gram isolat proteolitik halofilik dan halotoleran terpilih	17
4	Hasil identifikasi sekuen gen 16S rRNA isolat proteolitik terpilih	20

DAFTAR GAMBAR

5	Ladang garam Kabupaten Bima, NTB	3
6	Mikroorganisme halofilik <i>Oceanobacillus sp.</i>	4
7	Bakteri halotoleran isolat AB.1.1	5
8	Isolat murni berupa <i>single colony</i> atau koloni tunggal	12
9	Zona bening isolat bakteri proteolitik halotoleran	13
10	Zona bening isolat bakteri proteolitik halofilik	14
11	Grafik Indeks Proteolitik halofilik pada garam krosok 20%.	15
12	Grafik Indeks Proteolitik halofilik pada garam krosok 15%	16
13	Grafik Indeks Proteolitik halotoleran	17
14	Pewarnaan Gram isolat proteolitik halofilik dan halotoleran terpilih dengan perbesaran 100×	18
15	Elektroforegram isolat proteolitik halofilik dan halotoleran terpilih.	19

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	39
2	Isolat Proteolitik Halofilik dan halotoleran terpilih dari ladang garam Bima	40
3	Diameter Koloni dan zona bening isolat proteolitik halofilik terpilih	40
4	Diameter koloni dan zona bening isolat proteolitik halotoleran terpilih	41
5	Kromatogram sekuensing isolat BM2-7a dengan primer Ar109F	42
6	Kromatogram sekuensing isolat BM2-7a dengan primer Ar915R	43
7	Kromatogram sekuensing isolat BM4-4a dengan primer 27F	44
8	Kromatogram sekuensing isolat BM4-4a dengan primer 1492R	45
9	Sekuen 16S rRNA isolat BM4-4a	46