

**EKSPLORASI BAKTERI SELULOLITIK DARI LAHAN  
BEKAS TAMBANG BATU GAMPING TEKNIK REKLAMASI  
*GROOVE PLANTING SYSTEM* PASCA APLIKASI  
*VERMICOMPOSTING***

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**HANA DWI ANDAYANI**

**NPM: 1513200003**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS PGRI RONGGOLAWA  
TUBAN**

**2024**

**EKSPLORASI BAKTERI SELULOLITIK DARI LAHAN  
BEKAS TAMBANG BATU GAMPING TEKNIK REKLAMASI  
*GROOVE PLANTING SYSTEM* PASCA APLIKASI  
*VERMICOMPOSTING***

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**HANA DWI ANDAYANI**

**NPM: 1513200003**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLAWE**

**TUBAN**

**2024**

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi yang berjudul “Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting*” telah diperiksa dan disetujui.

Tuban, 22 Agustus 2024

**Dosen Pembimbing 1**



**Sriwulan, S.Pd., M.Si.  
NIDN. 0711088701**

**Dosen Pembimbing 2**



**Dwi Oktafitria, S.Si., M.Sc.  
NIDN. 0706108602**

## SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Hana Dwi Andayani  
NPM : 1513200003  
Jurusan/Program Studi : Biologi  
Fakultas/Program : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting* adalah benar-benar tulisan saya, dan bukan merupakan plagiasi baik sebagian atau seluruhnya.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini hasil plagiasi, baik sebagian atau seluruhnya, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Tuban, 31 Juli 2024

Yang membuat pernyataan,



Hana Dwi Andayani

**LEMBAR PENGESAHAN**

**Judul : Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting***

**Nama : Hana Dwi Andayani**

**NPM : 1513200003**

Skripsi ini telah diuji dan dinilai oleh Tim Penguji Skripsi Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas PGRI Ronggolawe Tuban pada hari Kamis, 22 Agustus Tahun 2024.

**Disetujui oleh :**

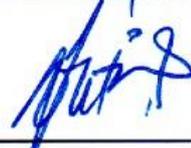
**Dosen Pembimbing 1:**

**Sriwulan, S. Pd., M. Si.**  
**NIDN. 0711088701**



**Dosen Pembimbing 2:**

**Dwi Oktafitria, S. Si., M. Sc.**  
**NIDN. 0706108602**



**Dosen Penguji 1:**

**Annisa Rahmawati, S. Pt., M. Si.**  
**NIDN. 0713108201**



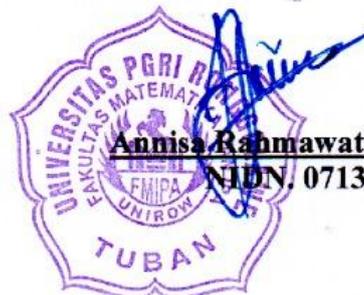
**Dosen Penguji 2:**

**Riska Andriani, S. Si., M. Si.**  
**NIDN. 0716018801**



Mengetahui :

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Annisa Rahmawati, S. Pt., M. Si.**  
**NIDN. 0713108201**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas segala karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada :

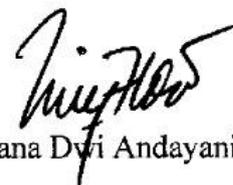
1. Dr. Warli, M.Pd selaku Rektor Universitas PGRI Ronggolawe Tuban.
2. Annisa Rahmawati, S.Pt., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan penguji satu.
3. Riska Andriani, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi yang telah memberikan saran dan pengarahan yang sangat berharga dalam penyusunan proposal ini.
4. Sriwulan, S.Pd., M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan wawasan, saran, pengarahan, serta bimbingan selama pelaksanaan sehingga tersusunnya skripsi ini.
5. Dwi Oktafitria, S.Si., M.Sc. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan wawasan, saran, pengarahan, serta bimbingan selama pelaksanaan sehingga tersusunnya skripsi ini.
6. Agrifa Tarigan, ST. dari PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban yang telah memberikan izin penelitian serta arahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

7. Orang tua serta keluarga yang selalu mendukung, memberikan motivasi, dan doa kepada penulis.
8. Salma Auliya Yoviska, Putri Amifalahiya Iqlima, dan Widyastuti Asy Syaffa yang tergabung dalam SOLAN (Sobat Siwalan) yang selalu mendukung, kebersamai, dan memberikan doa kepada penulis dari awal hingga akhir.
9. Teman-teman Biologi 2020 serta seluruh pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan alam. Akhirnya penulis berharap semoga karya ilmiah yang masih jauh dari kesempurnaan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Tuban, 31 Juli 2024

Penulis,



Hana Dwi Andayani

## MOTTO DAN PERSEMBAHAN

### MOTTO :

Aku membahayakan nyawa ibuku untuk lahir ke dunia, jadi tidak mungkin aku tidak ada artinya. Jalan hidup setiap manusia pasti berbeda, maka aku akan sekuat sesakit menopang diri untuk bisa sampai titik dimana aku bisa merasakan kebahagiaan. Semua doa ibu yang dipanjatkan, akan selalu aku usahakan.

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.” (QS. Al-Baqarah : 286)

Kupersembahkan kepada :

1. Diri Sendiri
2. Ibu dan Ayah
3. Kakak dan keluarga
4. Sahabat tercinta
5. Sobat Siwalan

## SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Hana Dwi Andayani  
NPM : 1513200003  
Jurusan/Program Studi : Biologi  
Fakultas/Program : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan bahwa dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis dengan judul: Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting*, adalah benar-benar tulisan saya, dan saya memberikan kewenangan kepada Universitas PGRI Ronggolawe untuk menyimpan, mengalih-media/format-kan, merawat, dan mempublikasikan skripsi ini untuk kepentingan akademis. Namun hak cipta tetap pada saya sebagai penulis.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Tuban, 31 Juli 2024

Yang membuat pernyataan,

A 1000 Rupiah postage stamp is placed over the signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'SEPULUH RIBU RUPIAH', '1000', and 'METERAL TEMPEL'. The serial number '4E61BALX249510661' is visible at the bottom of the stamp.

Hana Dwi Andayani

## ABSTRAK

Judul : Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting*

Nama : Hana Dwi Andayani

NPM : 1513200003

Dosen Pembimbing 1 : Sriwulan, S.Pd., M.Si

Dosen Pembimbing 2 : Dwi Oktafitria, S.Si., M.Sc.

PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. merupakan industri penghasil semen yang telah melakukan reklamasi. Salah satu teknik reklamasi yang dilakukan adalah *Groove Planting System* (GPS) yang kemudian dimodifikasi dengan aplikasi *vermicomposting*. Aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. telah dilakukan sejak tahun 2022, namun belum diketahui tentang efektivitas dari reklamasi tersebut. Salah satu cara untuk mengetahui keberhasilan dari *vermicomposting* dapat dilihat dari keberadaan mikroorganisme sebagai agen biologis dalam menguraikan bahan organik seperti adanya bakteri selulolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apa saja bakteri selulolitik pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS (*Groove Planting System*) pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban, karakteristik, serta indeks selulolitik dari bakteri selulolitik tersebut. Jenis penelitian ini adalah penelitian observasi. Bakteri selulolitik diisolasi dari tanah bekas tambang batu gamping menggunakan media CMC dengan metode *pour plate*. Karakterisasi dilakukan dengan pengamatan makroskopis (bentuk, elevasi, tepian, dan warna koloni), mikroskopis, dan biokimia (uji katalase dan uji respirasi). Uji aktivitas selulolitik berdasarkan indeks selulolitik (IS) yang dilihat dari zona bening hasil pewarnaan *congo red* 0,1%. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan sembilan isolat bakteri selulolitik yang memiliki kemiripan karakteristik dengan lima genus, yaitu *Bacillus*, *Alteromonas*, *Azotobacter*, *Cellulomonas*, dan *Micrococcus*. Berdasarkan hasil uji selulolitik, enam isolat memiliki indeks selulolitik yang rendah (0,2-0,9), dua isolat memiliki indeks selulolitik sedang (1,04 dan 1,47), dan satu isolat memiliki indeks selulolitik tinggi (4,2) yaitu isolat VC2 yang mempunyai kemiripan dengan genus *Bacillus*.

**Kata Kunci:** bakteri selulolitik, batu gamping, lahan pasca tambang, *vermicomposting*

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL .....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iv
LEMBAR PENGESAHAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
MOTTO DAN PERSEMBAHAN .....	viii
SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN .....	ix
ABSTRAK .....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1.5 Batasan Penelitian .....	7
1.6 Kerangka Berpikir .....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Bakteri Selulolitik .....	10
2.2 Lahan Bekas Tambang Batu Gamping .....	12
2.3 <i>Vermicomposting</i> .....	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Jenis Penelitian.....	15
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
3.3 Objek Penelitian .....	15
3.4 Alat dan Bahan.....	16

3.5 Prosedur Kerja.....	16
3.6 Teknik Pengumpulan Data.....	22
3.7 Analisis Data .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Karakterisasi Bakteri Selulolitik .....	23
4.2 Aktivitas Selulolitik pada Bakteri .....	32
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>35</b>
5.1 Kesimpulan .....	35
5.2 Saran.....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Bakteri Selulolitik yang Didapatkan dari Rhizosfer Tanaman Jati dan Tanaman Nyamplung .....	26
Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Bakteri Selulolitik.....	31
Tabel 4.3 Indeks Selulolitik dari Sembilan Isolat Hasil Isolasi .....	33

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Kerangka Berpikir Penelitian .....	9
Gambar 2.1 Bakteri yang Dapat Mendegradasi Selulosa Kristal dan Bakteri yang Dapat Menghidrolisis Substrat Selulosa Larut tetapi Tidak Memiliki Kemampuan untuk Mendegradasi Selulosa Kristal.....	11
Gambar 2.2 Contoh Bakteri Selulolitik.....	12
Gambar 3.1 Gambar Skematik Titik Pengambilan Sampel pada Setiap Alur, Lokasi Lahan Teknik Reklamasi GPS Pasca Aplikasi <i>Vermicomposting</i> , Lokasi Lahan Reklamasi Bekas Tambang Batu Gamping PT. Semen Indonesia Pabrik Tuban, Peta Provinsi Jawa Timur .....	18
Gambar 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Selulolitik pada Media CMC Selama Inkubasi 48 Jam.....	23
Gambar 4.2 Hasil Pengamatan Mikroskopis (Sifat Gram dan Bentuk Sel) pada Sembilan Isolat dengan Perbesaran Mikroskop 10x40.....	27
Gambar 4.3 Hasil Pengamatan Uji Katalase Bakteri Selulolitik.....	29
Gambar 4.4 Hasil Pengamatan Uji Respirasi Bakteri Selulolitik dan Hasil Pengamatan Uji Respirasi Bakteri Selulolitik yang Diperbesar. ....	30
Gambar 4.5 Hasil Pengukuran Aktivitas Selulolitik dan Hasil Pengukuran Aktivitas Selulolitik yang Diperbesar. ....	32

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi Alat dan Bahan .....	42
Lampiran 2. Dokumentasi Lokasi Pengambilan Sampel .....	45
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian .....	46
Lampiran 4. Dokumentasi Hasil Isolasi Bakteri .....	47
Lampiran 5. Dokumentasi Hasil Uji Katalase.....	48
Lampiran 6. Dokumentasi Hasil Uji Respirasi .....	49
Lampiran 7. Dokumentasi Hasil Pengamatan Mikroskopis.....	50
Lampiran 8. Dokumentasi Hasil Pengukuran Aktivitas Selulolitik.....	51
Lampiran 9. Surat Izin Penelitian.....	52
Lampiran 10. Surat Pemberian Izin Pemakaian Laboratorium Biologi.....	53
Lampiran 11. Surat Keterangan Telah Selesai Melakukan Penelitian.....	55
Lampiran 12. Kartu Bimbingan Skripsi .....	56
Lampiran 13. Daftar Riwayat Hidup.....	60

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Indonesia memiliki banyak potensi sumber daya alam, seperti lahan pertambangan luas yang tersebar di berbagai wilayah Indonesia. Hal tersebut menjadi peluang dalam peningkatan sektor industri di Indonesia dimana sektor industri memiliki peran penting dalam perkembangan dan pembangunan nasional. Adanya kekayaan alam seperti lahan pertambangan tersebut terus dieksplorasi untuk memenuhi kebutuhan manusia hingga saat ini (Munir & Setyowati, 2017).

Salah satu kota industri di Jawa Timur adalah Kabupaten Tuban dengan salah satu industri terbesarnya yaitu industri semen. Hal yang mendasari yaitu Kabupaten Tuban memiliki wilayah pegunungan kapur yang dapat dimanfaatkan untuk pemenuhan bahan baku semen. Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia nomor 27 tahun 1980 yang mengatur tentang penggolongan bahan galian, batu kapur atau batu gamping termasuk bahan galian golongan C yaitu bukan termasuk bahan galian vital dan strategis dimana batu gamping perlu melalui proses pengolahan lebih lanjut sebelum dipasarkan. Oleh karena itu pendirian pabrik di Kabupaten Tuban banyak dilakukan sebagai pusat produksi. Industri semen nasional pertama yang mendirikan pabrik di Kabupaten Tuban yaitu PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk.

PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. termasuk dalam perusahaan BUMN yang bergerak dalam industri semen nasional yang melakukan penambangan batu

gamping ( $\text{CaCO}_3$ ) dengan metode tambang terbuka (*surface mining*). Kegiatan penambangan merupakan aktivitas menggali kemudian mengolah sumber daya alam yang bersifat *non renewable* (Nursanto dkk., 2019). Adanya kegiatan penambangan ini dapat memenuhi kebutuhan manusia, membuka lapangan pekerjaan, dan meningkatkan perekonomian negara. Selain dampak positif, kegiatan penambangan terbuka tentu memiliki dampak negatif seperti banyaknya tanah bagian atas yang terbuka, timbul berbagai macam penyakit yang diakibatkan oleh limbah pertambangan, adanya pencemaran yang menurunkan status biodiversitas flora dan fauna, meningkatnya laju erosi, serta turunnya kualitas lingkungan (Faikar & Chamid, 2020; Algunadi & Astawa, 2016). Maka dari itu pemerintah Indonesia mengeluarkan peraturan mengenai pengelolaan lingkungan pertambangan. Berdasarkan Peraturan Menteri Energi Sumber Daya Mineral (ESDM) Nomor 26 Tahun 2018, reklamasi merupakan salah satu kewajiban yang harus dilakukan oleh pemegang IUP atau IUPK.

Reklamasi erat kaitannya dengan kegiatan pertambangan dan berperan penting dalam kelestarian lahan bekas tambang (Nurtjahyani dkk., 2018). Menurut Peraturan Menteri ESDM, reklamasi bertujuan untuk memulihkan, menata, dan memperbaiki kualitas lingkungan agar berfungsi sebagaimana peruntukannya. Keberhasilan reklamasi lahan bekas tambang sangat bergantung pada kondisi lingkungan di daerah reklamasi. Adapun beberapa tahapan reklamasi seperti contohnya revegetasi tanaman, pemanfaatan mikroorganisme, fitoremediasi, maupun *vermicomposting* yang telah diaplikasikan pada lahan bekas tambang batu gamping di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk.

*Vermicomposting* merupakan proses pengomposan dengan aktivitas cacing tanah maupun mikroorganisme sebagai agen biologis dalam menguraikan bahan organik (Afifah dkk., 2022). Selain dapat mengurangi masalah lingkungan akibat proses pembakaran maupun pengolahan lainnya, *vermicomposting* juga menghasilkan produk berupa pupuk yang disebut *vermicompost*. *Vermicompost* berperan dalam meningkatkan kualitas lahan bekas tambang. Aktivitas cacing tanah sebagai agen biologis pada *vermicomposting* dapat meningkatkan daya dukung lingkungan terhadap aktivitas organisme lain dan juga dapat mempersingkat waktu maupun mengurangi biaya pengomposan (Melati, 2020; Sriwulan dkk., 2022).

Keberhasilan dari teknik reklamasi seperti *vermicomposting* yang dilakukan salah satunya ditentukan dengan kualitas tanah yang dapat diukur berdasarkan parameter fisika, kimia, maupun biologi. Berdasarkan parameter biologi, keberadaan mikroorganisme tanah dapat menjadi penentu keberhasilan reklamasi. Mikroorganisme tanah yang mendukung penyediaan unsur hara salah satunya yaitu bakteri selulolitik (Hidayat & Suryani, 2024).

Bakteri selulolitik dapat mendegradasi selulosa dari serasah yang ada untuk dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi tanaman. Kemampuan degradasi selulosa oleh bakteri selulolitik didukung dengan kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim selulase. Bakteri selulolitik berperan dalam mendegradasi selulosa menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa (Fauziah & Ibrahim, 2020). Pertumbuhan bakteri selulolitik lebih cepat dibandingkan bakteri lainnya. Fauziah & Ibrahim (2020) menyatakan bahwa genus bakteri yang dapat

mendegradasi selulosa yaitu genus *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Neisseria*, *Actinobacillus*, dan *Flavobacterium*. Adanya selulosa pada bahan organik dapat menjadi substrat yang baik untuk pertumbuhan bakteri selulolitik, sehingga bakteri tersebut banyak ditemukan pada kompos yang mengandung selulosa tinggi (Arifin dkk., 2019). Selulosa akan diuraikan menjadi glukosa, karbondioksida, dan hidrogen yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman.

Penelitian terdahulu mengenai bakteri selulolitik di antaranya isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik dari lumpur mangrove pantai Pandaratan di Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara (Ananda dkk., 2023.), skrining bakteri selulolitik asal *vermicomposting* tandan kosong kelapa sawit (Azizah dkk, 2014), eksplorasi bakteri selulolitik dari tanah hutan mangrove Baros, Kretek, Bantul, Yogyakarta (Nurrochman & Rahayu, 2015), skrining bakteri selulolitik asal tanah kebun pisang (*Musa paradisiaca*) (Astriani, 2017). Penelitian terkait eksplorasi bakteri selulolitik dari lahan pasca tambang kapur telah dilakukan oleh Khasanah dkk. (2023). Namun, eksplorasi tersebut dilakukan pada rhizosfer tanaman nyamplung dengan sistem reklamasi GPS (*Groove Planting System*). Sementara, penelitian terkait ekplorasi bakteri selulolitik dari lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* belum pernah dilakukan. Maka dari itu, penelitian tersebut perlu dilakukan agar dapat memberikan informasi terkait isolat bakteri selulolitik yang memiliki potensi sebagai faktor keberhasilan reklamasi dengan aplikasi *vermicomposting* pada lahan bekas tambang batu gamping PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban. Selain itu isolat bakteri selulolitik yang

diperoleh dapat dikembangkan sebagai agen dekomposer untuk pengolahan serasah tanaman yang banyak ditemukan di lahan reklamasi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apa saja bakteri selulolitik yang ditemukan pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban?
2. Bagaimana karakteristik bakteri selulolitik pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban?
3. Berapa indeks selulolitik dari bakteri selulolitik pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui bakteri selulolitik apa saja yang ada pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.
2. Mengetahui karakteristik bakteri selulolitik pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.

3. Mengetahui indeks selulolitik dari bakteri selulolitik pada lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Menambah ilmu pengetahuan tentang bakteri selulolitik pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.
2. Menambah data ilmiah bakteri selulolitik pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.
3. Sebagai bank isolat untuk inventarisasi bakteri selulolitik Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam UNIROW Tuban.
4. Sebagai sumber referensi bagi peneliti selanjutnya mengenai jenis bakteri selulolitik pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting*.
5. Sebagai langkah awal menggali potensi bakteri selulolitik yang ditemukan pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting*.

### 1.5 Batasan Penelitian

Adapun batasan penelitian ini adalah :

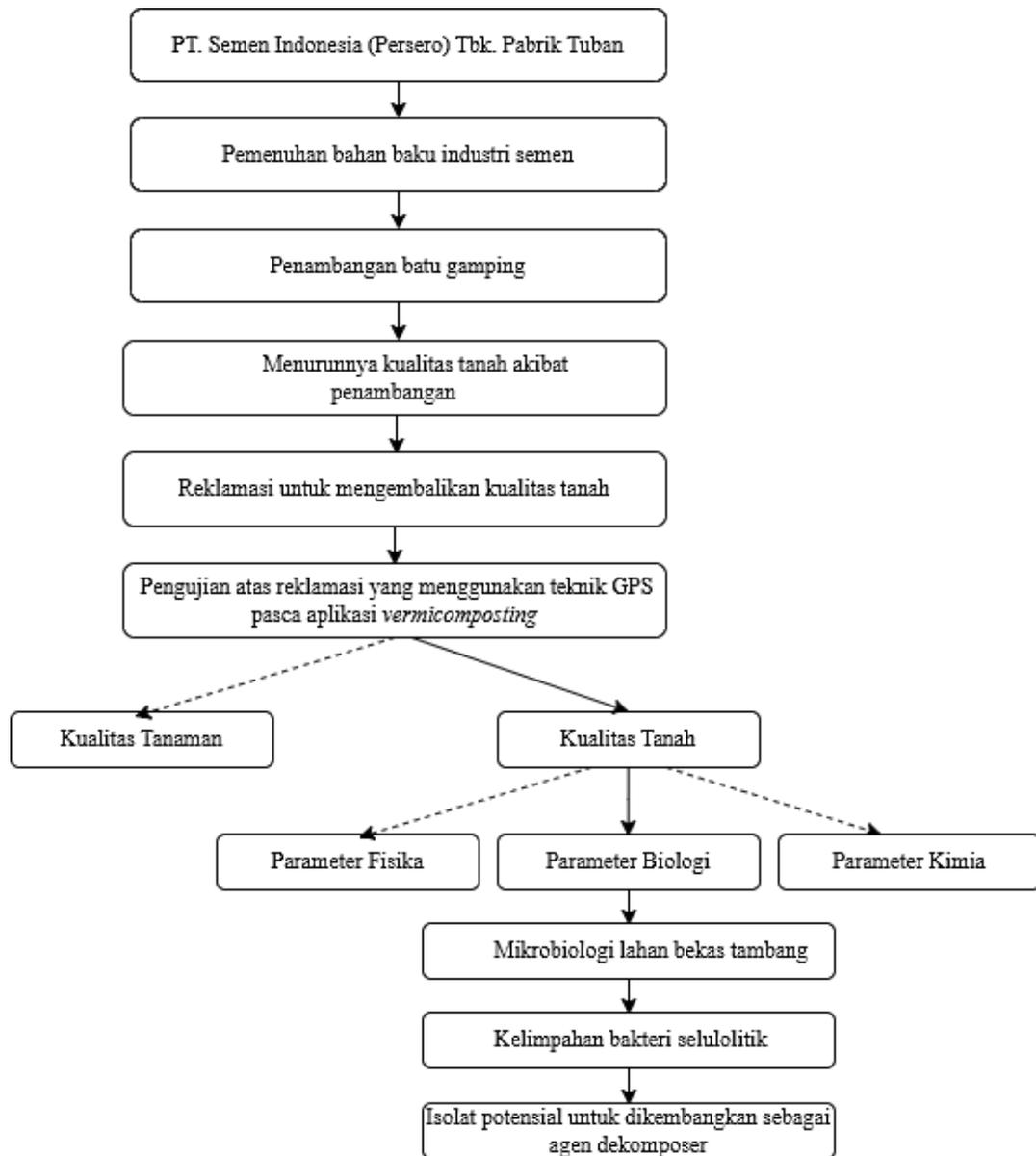
1. Subjek penelitian yaitu tanah dari lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.
2. Objek penelitian yaitu bakteri selulolitik dari tanah di lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.
3. Parameter penelitian yaitu pengamatan bakteri selulolitik secara makroskopis (morfologi koloni berupa bentuk, warna, elevasi, dan tepian), secara mikroskopis (metode pewarnaan gram), dan uji biokimia (uji katalase dan uji respirasi), serta uji aktivitas selulolitik.
4. Sampel tanah berasal dari rhizosfer tanaman jati dan rhizosfer tanaman nyamplung di lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.
5. Karakterisasi dan identifikasi bakteri selulolitik dilakukan hingga tingkat genus.

### 1.6 Kerangka Berpikir

Proses kegiatan pertambangan batu gamping yang dilakukan PT. Semen Indonesia (persero) Tbk. mengakibatkan dampak negatif terhadap lingkungan. Parameter perubahan lingkungan yang dapat diamati salah satunya yaitu kualitas

tanah pada lahan bekas tambang. Lahan yang tidak produktif menyebabkan penurunan kualitas tanah dan jumlah mikroorganisme sehingga diperlukan adanya reklamasi agar lahan dapat dipergunakan kembali.

Reklamasi merupakan kegiatan pemulihan lahan yang dilakukan PT. Semen Indonesia (persero) Tbk. setelah aktivitas pertambangan. Reklamasi dapat dilakukan dengan aplikasi *vermicomposting* yang merupakan proses pengomposan dengan aktivitas cacing tanah maupun mikroorganisme sebagai agen biologis dalam menguraikan bahan organik. Parameter biologi seperti kualitas tanah merupakan salah satu indikator keberhasilan reklamasi. Salah satu indikator keberhasilan reklamasi dapat dilihat dari parameter biologi seperti kualitas tanah, termasuk di dalamnya keberadaan bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik dapat mendegradasi selulosa dari serasah yang ada untuk dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi tanaman. Kerangka berfikir pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.1.



Gambar 1.1 Kerangka Berpikir Penelitian

Keterangan :

--> : parameter yang tidak dilakukan pengamatan

—> : parameter yang dilakukan pengamatan

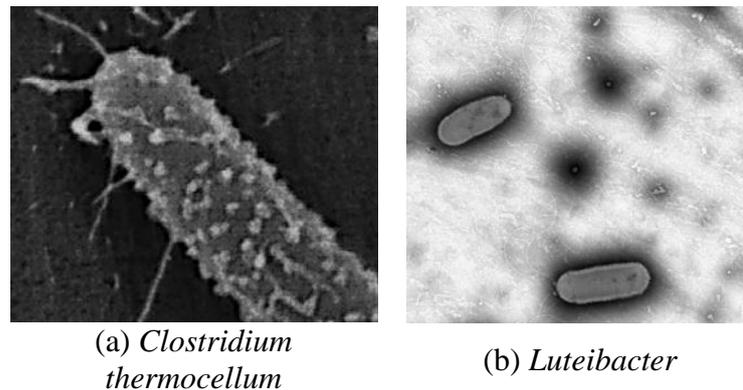
## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bakteri Selulolitik**

Bakteri adalah mikroorganisme yang memiliki sel tunggal dan tidak memiliki membran inti sel. Walaupun berukuran kecil, beberapa bakteri bersifat merugikan, contohnya bakteri yang dapat membusukkan bahan pangan hingga menyebabkan penyakit bagi manusia (Febriza & Adrian, 2021). Di sisi lain, beberapa bakteri juga dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang seperti kesehatan, pangan, pertanian, industri, bioteknologi, maupun lingkungan. Dalam lingkungan, bakteri dapat berperan sebagai pengurai senyawa organik sehingga memudahkan siklus energi dan materi di lingkungan (Bolang, 2015). Terdapat berbagai bakteri yang berperan dalam lingkungan, salah satunya yaitu bakteri selulolitik.

Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang mampu memproduksi enzim selulase dan mendegradasi selulosa menjadi produk sederhana (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017). Terdapat beberapa kelompok bakteri selulolitik yang mampu mendegradasi selulosa kristal (Gambar 2.1a) dan terdapat pula beberapa kelompok bakteri selulolitik yang mampu menghidrolisis zat larut (buatan) substrat selulosa seperti karboksimetil selulosa tetapi tidak mampu mendegradasi kristal selulosa (Gambar 2.1b) (Rettenmaier dkk., 2020). Pertumbuhan bakteri selulolitik yang cepat membuat waktu yang dibutuhkan untuk memproduksi enzim selulase juga lebih cepat.

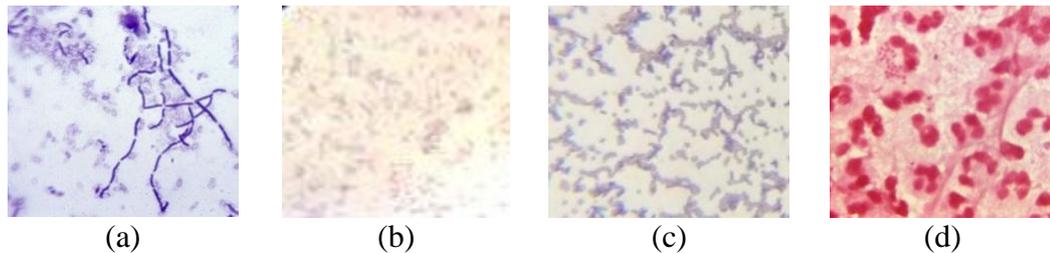


Gambar 2.1 (a) Bakteri yang Dapat Mendegradasi Selulosa Kristal (Ferdinand dkk., 2013), (b) Bakteri yang Dapat Menghidrolisis Substrat Selulosa Larut tetapi Tidak Memiliki Kemampuan untuk Mendegradasi Selulosa Kristal (Friedrich dkk., 2023)

Pada umumnya, bakteri selulolitik dapat ditemukan pada habitat kaya akan selulosa. Selulosa merupakan biopolimer yang melimpah di alam, begitupun dengan lignin dan hemiselulosa pada bahan yang berasal dari kompos maupun tanaman. Selulosa yang terkandung dalam bahan organik merupakan substrat yang baik untuk pertumbuhan bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik banyak ditemukan pada kompos dengan selulosa yang tinggi, selain itu pada tanaman yang telah melapuk, lahan pertanian, hutan, atau pada serasah daun (Arifin dkk., 2019).

Contoh bakteri selulolitik yang melimpah di tanah hutan adalah *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, dan *Stenotrophomonas*. Sementara itu, bakteri selulolitik yang melimpah di tanah pertanian yaitu *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Streptomyces* (Bautista dkk., 2024). Fauziah & Ibrahim (2020) menyatakan ada beberapa genus bakteri yang dapat mendegradasi selulosa seperti

genus *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, dan *Neisseria* seperti pada Gambar 2.2 berikut.



Gambar 2.2 Contoh Bakteri Selulolitik (a) *Bacillus* (Marker, 2015), (b) *Micrococcus* (Alfariza dkk., 2021), (c) *Cellulomonas* (Khasanah dkk., 2023), (d) *Neisseria* (Caldwell, 2024)

## 2.2 Lahan Bekas Tambang Batu Gamping

Lahan bekas tambang memiliki sifat kimia, fisik, dan biologis yang buruk dengan kesuburan lahan yang rendah. Lebih dari 60% aktivitas pertambangan dilakukan secara terbuka (*surface mining*), salah satunya adalah penambangan batu gamping (Erfandi, 2017).

Adanya penambangan membuat morfologi lahan menjadi berubah seperti terbentuknya lubang bekas tambang (*void*). Limbah pertambangan pada permukaan lahan seperti batuan sisa tambang (*overburden*), air asam tambang, dan sisa bahan tambang yang berbentuk pasir (*tailing*) dapat mengganggu pemanfaatan lahan bekas tambang (Erfandi, 2017). Tanah lapisan atas (*top soil*) dan vegetasi yang rusak juga dapat menyebabkan populasi dan aktivitas mikroba menjadi terganggu. Lahan bekas tambang batu gamping seperti yang terdapat di

PT. Semen Indonesia (persero) Tbk. Pabrik Tuban memerlukan upaya pemulihan seperti reklamasi (Afrizal, 2019). Reklamasi pada lahan bekas tambang batu gamping umumnya dilakukan dengan penebaran tanah pucuk, namun keberadaan tanah pucuk semakin menipis (Ferdian, dkk., 2023). Adanya keterbatasan tanah pucuk ini membuat PT. Semen Indonesia (persero) Tbk. Pabrik Tuban mengembangkan reklamasi dengan sistem tanam alur atau *Groove Planting System* (GPS). Teknik GPS ini lebih efektif serta dapat menghemat penggunaan tanah pucuk pada proses reklamasi.

### **2.3 Vermicomposting**

Sistem *composting* banyak digunakan untuk mereduksi sampah *biodegradable* di Indonesia. *Composting* merupakan cara pengolahan limbah organik dengan dekomposisi bahan organik (Rahmawati & Herumurti, 2016). Salah satu kekurangan *composting* yaitu proses pematangan yang memakan waktu lama dan mengandung nutrisi yang rendah. *Composting* memiliki kekurangan yaitu kandungan kompos yang dihasilkan mengandung nutrisi yang rendah dan membutuhkan waktu cukup lama dalam proses pematangannya. Menurut Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan (2021), ada beberapa metode *composting* seperti metode *heap*, metode *bangalore*, metode *berkeley*, metode *indore*, dan metode *vermicomposting*.

*Vermicomposting* merupakan salah satu metode *composting* yang banyak digunakan. *Vermicomposting* merupakan proses biokimia degradasi bahan organik melalui aktivitas cacing tanah dan mikroorganisme (Huang dkk, 2014).

*Vermicomposting* menghasilkan kompos dengan kandungan nutrisi yang lebih baik dibandingkan kompos konvensional. *Vermicomposting* dapat memperbaiki sifat kimia, fisik, dan biologi tanah, jadi penggunaan *vermicomposting* pada tanah dapat memperbaiki kualitas tanah. Kelebihan lain *vermicomposting* adalah tidak berbau, memperbaiki tekstur dan struktur tanah, retensi unsur hara, biaya pengolahan yang rendah, serta tidak menimbulkan polusi (Manaig, 2016). Faktor keberhasilan dari *vermicomposting* antara lain jenis cacing, aktivitas mikroorganisme, pH optimum, dan suhu optimum pertumbuhan mikroorganisme (Cahyanto dkk., 2022). *Vermicomposting* merupakan metode yang efektif dalam upaya reklamasi suatu lahan.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah observasi yang bertujuan untuk mendapatkan bakteri selulolitik dari lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Waktu pelaksanaan penelitian ini yaitu pada bulan Mei-Juli 2024. Pengambilan sampel tanah dilakukan di lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban sedangkan penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas PGRI Ronggolawe Tuban untuk proses isolasi, karakterisasi, dan pengujian aktivitas selulolitik pada bakteri selulolitik.

#### **3.3 Objek Penelitian**

Populasi penelitian ini adalah semua bakteri selulolitik yang diperoleh dari tanah di lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban. Sedangkan sampel dalam penelitian ini adalah isolat bakteri selulolitik yang berhasil diisolasi dari lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik

reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.

### 3.4 Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan saat sampling tanah yaitu sekop, sarung tangan, plastik klip, dan kertas label. Alat yang diperlukan untuk isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik adalah labu erlenmeyer, *beaker glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, pipet tetes, pengaduk, jarum ose, bunsen, aluminium foil, kapas, tisu, korek api, plastik *wrap*, *cover glass*, *object glass*, jangka sorong, termometer, *soil tester*, sarung tangan lateks, timbangan analitik, mikroskop binokuler, *vortex*, *hot plate*, inkubator, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), dan buku *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Seventh Edition*.

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu akuades, spiritus, NaCl 1 M, alkohol 70%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, NaCl 0,9% steril, *congo red* 0,1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, yeast extract, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, agar, CMC (*Carboxymethyl Cellulose*), *Nutrient Broth* (NB), safranin, iodin, *crystal violet*, lugol, dan sampel bakteri selulolitik dari lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.

### 3.5 Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, antara lain :

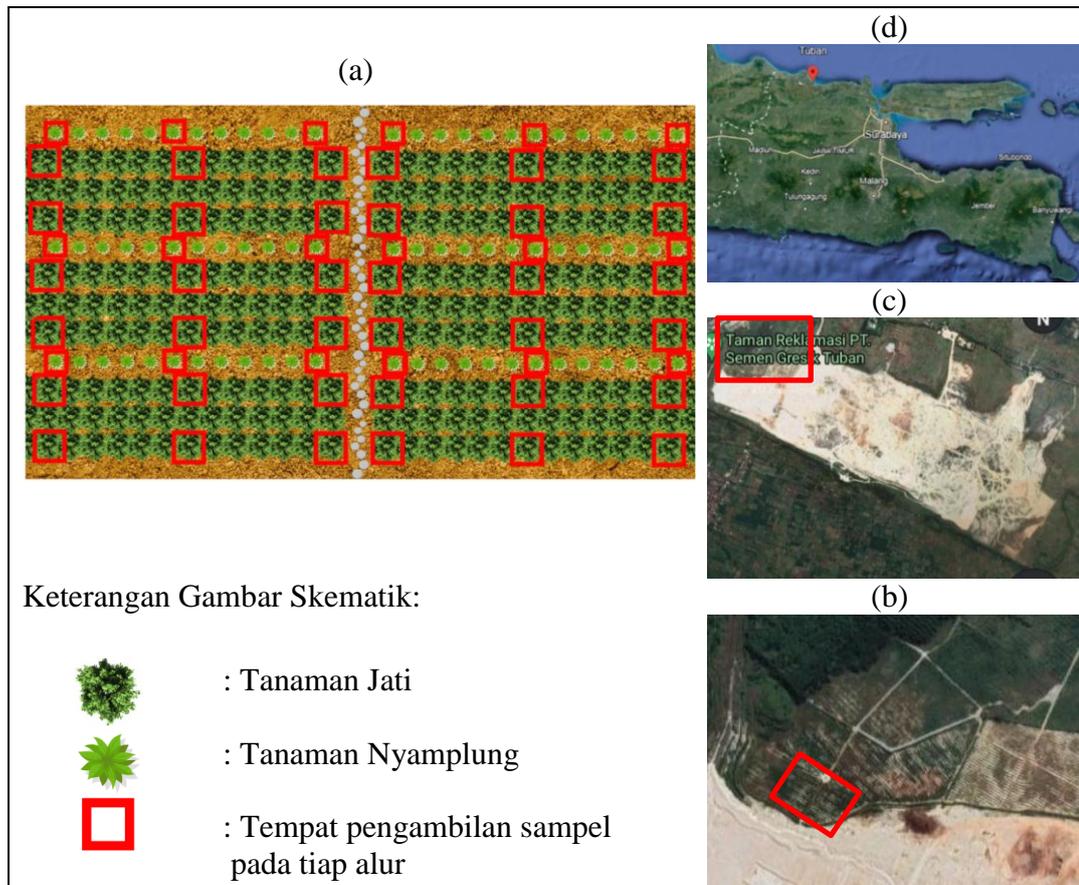
## 1. Tahap persiapan

Tahap persiapan meliputi :

- a. Studi pustaka yang berkaitan dengan isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik.
- b. Survei lapangan untuk memperoleh informasi awal, menentukan lokasi, dan titik pengambilan sampel tanah dari lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting*.
- c. Preparasi dan sterilisasi alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian.

## 2. Pengambilan sampel tanah

Tanah diambil dari rhizosfer tanaman jati dan tanaman nyamplung pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban. Tanah diambil pada tiga titik dalam setiap alur, yaitu pada 12 alur tanaman jati dan pada enam alur tanaman nyamplung. Masing-masing sampel dari rhizosfer tanaman jati dan tanaman nyamplung lalu dikompositkan sehingga diperoleh dua sampel. Tanah diambil menggunakan sekop dengan kedalaman sekitar 0-30 cm kemudian dimasukkan ke plastik klip, diberi label, dan dimasukkan ke dalam *cooler box*. Letak pengambilan sampel pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 (a) Gambar Skematik Titik Pengambilan Sampel pada Setiap Alur, (b) Lokasi Lahan Teknik Reklamasi GPS Pasca Aplikasi *Vermicomposting* (Google Earth, 2024), (c) Lokasi Lahan Reklamasi Bekas Tambang Batu Gamping PT. Semen Indonesia Pabrik Tuban (Google Earth, 2024), (d) Peta Provinsi Jawa Timur (Google Earth, 2024).

### 3. Pembuatan Media CMC

Pembuatan media CMC terdiri dari 15 gr agar, 1 gr  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ , 1,36 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,2 gr  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1 gr yeast ekstrak, 2 gr NaCl, 0,01 gr  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 5 gr CMC dalam 1000 ml aquadest di erlenmeyer. Media dipanaskan diatas *hotplate* hingga mendidih kemudian dihomogenkan. Selanjutnya disterilkan

menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 1 atm.

#### 4. Isolasi Bakteri Selulolitik

Isolasi bakteri dilakukan pada setiap sampel tanah yang diperoleh. Sebanyak 25 gr tanah ditambahkan dalam 225 ml larutan 0,9% NaCl steril, diaduk hingga homogen dan diperoleh larutan pengenceran  $10^{-1}$ . Dilanjutkan pengambilan 1 ml suspensi dari pengenceran  $10^{-1}$  lalu dimasukkan ke larutan 0,9% NaCl steril 9 ml. Tahap ini dilakukan hingga pengenceran  $10^{-5}$ . Pengenceran bertingkat dilakukan untuk mengurangi kepadatan mikroba dalam sampel. Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan metode *pour plate* di tingkat pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  (Ananda dkk., 2023). Isolasi dilakukan dengan mengambil 1 ml suspensi dari setiap pengenceran lalu memasukkan ke dalam cawan petri kemudian dituangkan media CMC secara aseptis dan dilakukan sebanyak dua kali pengulangan (*duplo*). Selanjutnya cawan petri dihomogenkan memutar searah angka delapan. Kemudian media diinkubasi dengan posisi terbalik selama  $\pm 48$  jam dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$  (Fauziah & Ibrahim, 2020).

#### 5. Purifikasi Isolat

Purifikasi dilakukan dengan metode *streak plate* yaitu memindahkan koloni yang berbeda fisik dan terpisah dengan jarum ose pada media CMC padat, kemudian diinkubasi dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Purifikasi dilakukan untuk memperoleh *single colony* sebagai bahan karakterisasi bakteri berupa

pengamatan morfologi koloni (bentuk, warna, tepi, dan elevasi), pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan gram, uji biokimia berupa uji katalase dan uji respirasi, serta uji aktivitas selulolitik.

## 6. Karakterisasi Bakteri Selulolitik

### a. Pengamatan Morfologi Bakteri

1. Pengamatan secara makroskopis yaitu pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi bentuk, warna, tepi, dan elevasi koloni yang tumbuh pada media CMC.
2. Pengamatan secara mikroskopis yaitu pengamatan pada pewarnaan gram. Pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui reaksi gram dan bentuk sel bakteri. Bakteri dikategorikan sebagai gram positif jika selnya berwarna ungu, dan gram negatif jika selnya berwarna merah (Dewi, 2013).

### b. Uji Biokimia

#### 1. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan meneteskan  $H_2O_2$  3% pada *object glass* yang steril. Selanjutnya mengoleskan biakan bakteri pada *object glass* yang telah ditetesi  $H_2O_2$  3% dengan jarum ose. Suspensi secara perlahan dicampur menggunakan jarum ose, reaksi positif uji katalase ditandai oleh terbentuknya gelembung gas.

## 2. Uji Respirasi

Uji respirasi dapat diamati menggunakan media cair *Nutrient Broth* (NB). Isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose secara aseptik lalu diinokulasikan di media NB lalu diinkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam. Kemudian diamati akumulasi pertumbuhan bakteri (Sriwulan, 2014).

### c. Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri selulolitik dilakukan hingga tingkat genus dengan cara mencocokkan hasil karakterisasi dengan buku *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Seventh Edition*.

## 7. Uji Aktivitas Selulolitik

Uji aktivitas bakteri selulolitik dilakukan dengan cara mengambil satu ose bakteri kemudian digoreskan pada media CMC membentuk lingkaran (Ulfa dkk., 2014). Biakan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C kemudian ditetesi larutan *congo red* 0,1% hingga menutupi permukaan media lalu dibilas dengan NaCl 1M. Pembuatan larutan *congo red* 0,1% dilakukan dengan memasukkan 0,1 gr *congo red* dalam akuades 100 ml (Waling dkk., 2021). Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri diukur diameternya dengan jangka sorong kemudian dihitung indeks selulolitik (IS). Kategori nilai IS yaitu kategori rendah ( $\leq 1$ ), sedang (1-2), dan tinggi ( $\geq 2$ ) (Choi dkk., 2005). Menurut Choi dkk. (2005), rumus yang digunakan untuk menghitung IS yaitu:

$$IS = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

### 3.6 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yaitu dengan mengumpulkan data hasil isolasi, karakterisasi, dan pengukuran zona bening dari isolat bakteri selulolitik yang diperoleh dari lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban.

### 3.7 Analisis Data

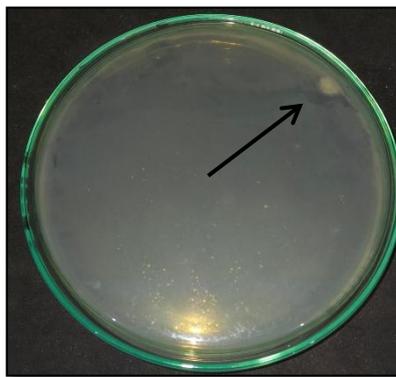
Data hasil isolasi, karakterisasi, dan pengukuran zona bening pada uji aktivitas selulolitik dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel maupun gambar. Data hasil isolasi disajikan dalam bentuk gambar, data karakterisasi bakteri selulolitik disajikan dalam bentuk tabel, data pengukuran zona bening dihitung berdasarkan rumus indeks selulolitik (IS) yang kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Penentuan genus bakteri selulolitik ditentukan dengan membandingkan hasil karakterisasi bakteri selulolitik yang didapat dengan karakteristik bakteri selulolitik pada buku *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Seventh Edition*.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Karakterisasi Bakteri Selulolitik

Bakteri selulolitik diisolasi dari rhizosfer tanaman jati dan tanaman nyamplung pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban. Isolat didapatkan dengan melihat perbedaan morfologi koloni yang tumbuh pada media CMC agar (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Hasil Isolasi Bakteri Selulolitik pada Media CMC Selama Inkubasi 48 Jam (Anak panah menunjukkan salah satu koloni bakteri yang tumbuh pada media CMC)

Bakteri yang tumbuh pada media CMC menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat memanfaatkan selulosa sebagai sumber nutrisi terutama sebagai sumber karbon yang terkandung dalam media CMC. Keberadaan bakteri

selulolitik dalam tanah tentu dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu tanah, pH tanah, dan kelembaban tanah (Wahyuni dkk., 2015).

Rata-rata suhu tanah pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban adalah 35°C. Suhu tanah dapat dipengaruhi oleh keadaan iklim, cuaca, maupun penutupan vegetasi (Riyanto dkk., 2020). Pengukuran suhu tanah pada penelitian ini dilakukan pada siang hari di musim kemarau sehingga suhu tanah cenderung lebih tinggi. Suhu merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap aktivitas selulase, karena berkaitan dengan aktivitas enzim (Marina dkk., 2018). Semakin tinggi suhu maka aktivitas selulase akan meningkat (Alam dkk., 2013). Menurut penelitian Kurniawati dkk. (2019), batas optimum suhu untuk memproduksi selulase adalah 40°C. Umumnya, bakteri selulolitik mampu melakukan degradasi selulosa dengan hasil yang optimal pada suhu 27-36°C (Rudiansyah dkk., 2017). Dengan demikian, suhu tanah pada lokasi pengambilan sampel masih ada dalam rentang suhu untuk pertumbuhan bakteri selulolitik.

Nilai pH pada lokasi penelitian tergolong netral, yaitu 7. Menurut Khairiah dkk. (2013), keasaman pH dalam tanah mampu menghambat aktivitas enzim pada bakteri. Semakin rendah pH maka populasi bakteri juga berkurang (Irfan, 2014). Menurut Wahyuni dkk. (2015), pH optimum pertumbuhan bakteri selulolitik sebesar 5-7. Dengan demikian, pH tanah pada lokasi pengambilan sampel masih ada dalam rentang pH optimum untuk pertumbuhan bakteri selulolitik.

Sementara itu, kelembaban tanah pada lahan reklamasi bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban tergolong kering. Hal ini dapat dipengaruhi oleh suhu tanah, semakin tinggi suhu tanah maka kelembaban tanah semakin rendah.

Banyaknya isolat bakteri yang ditemukan dalam penelitian tentu dipengaruhi oleh lapisan tanah yang diambil, yaitu pada kedalaman 0-30 cm yang merupakan lapisan *top soil* (Nurlaila & Hendri, 2019). Lapisan tanah *top soil* merupakan permukaan tanah yang biasanya mengandung paling banyak unsur hara dan memiliki jumlah mikroorganisme yang lebih banyak dari lapisan tanah lainnya (Apriansah, 2020). Hal ini sesuai dengan pernyataan Irfan (2014) yaitu semakin dalam lapisan tanah maka populasi bakteri semakin berkurang. Selain itu, bakteri selulolitik yang berada pada lapisan tanah *top soil* dapat memperoleh substrat lebih banyak sehingga bakteri yang hidup juga lebih banyak.

Dari hasil isolasi bakteri selulolitik didapatkan sembilan isolat bakteri selulolitik, yaitu tiga isolat bakteri selulolitik dari rhizosfer tanaman jati, dua isolat dari rhizosfer tanaman nyamplung, dan empat isolat dari rhizosfer tanaman jati dan nyamplung. Karakterisasi morfologi sembilan isolat bakteri yang diamati secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia ditunjukkan oleh Tabel 4.1. Hasil pengamatan bakteri selulolitik dari rhizosfer tanaman jati dan tanaman nyamplung kemudian diberi kode VC (*Vermicomposting*).

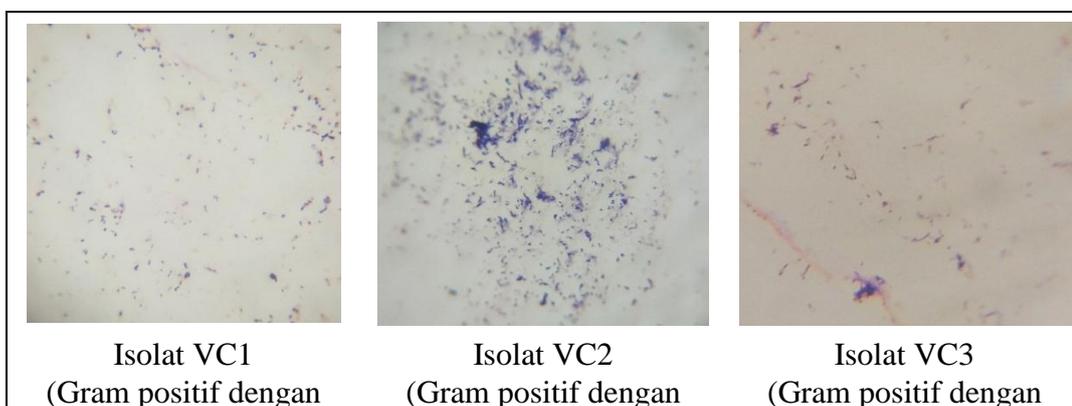
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Bakteri Selulolitik yang Didapatkan dari Rhizosfer Tanaman Jati dan Tanaman Nyamplung

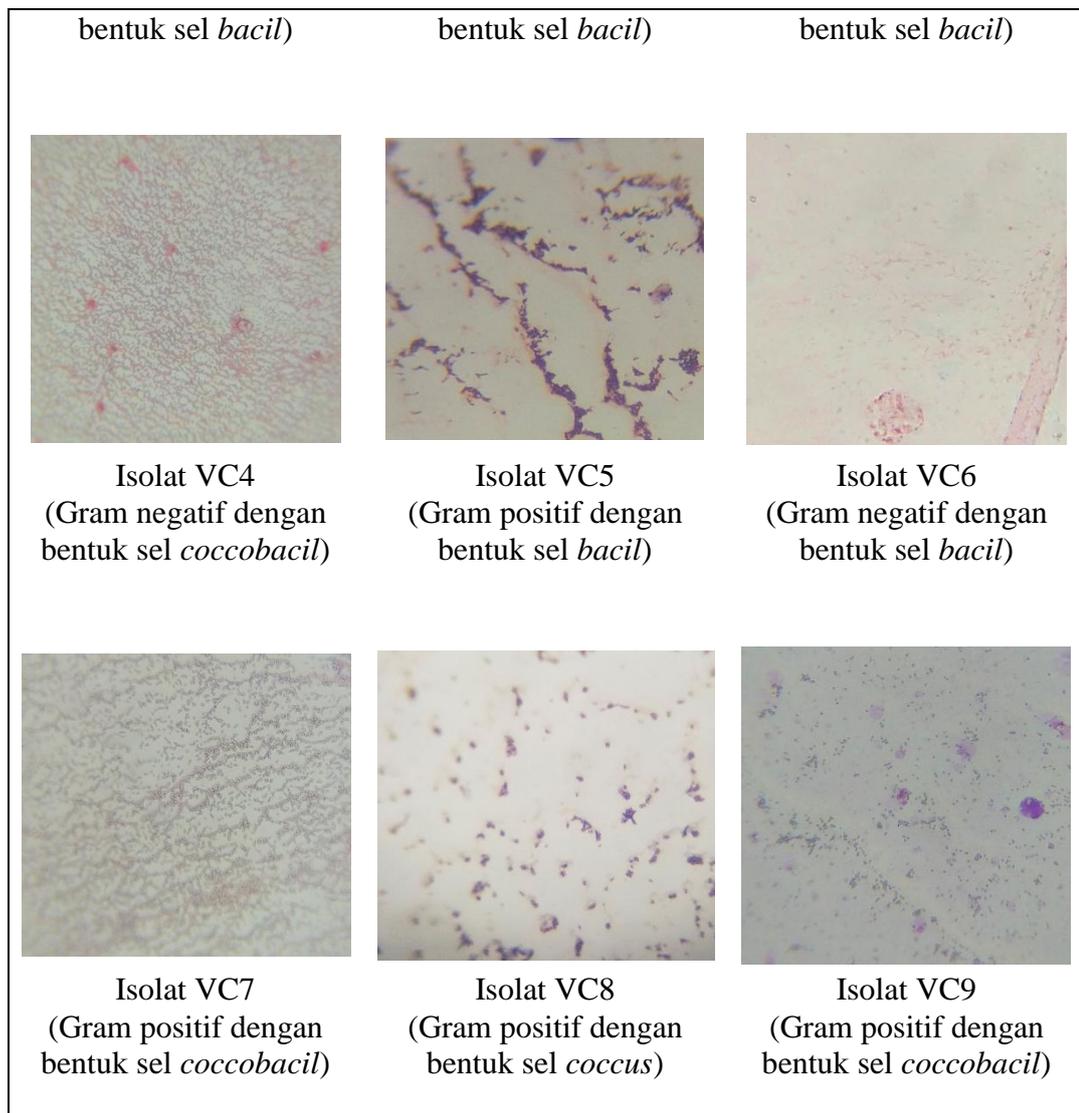
Karakteristik	Kode Isolat									
	VC1	VC2	VC3	VC4	VC5	VC6	VC7	VC8	VC9	
Makroskopis	Bentuk	Bulat	Lonjong	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Tidak beraturan	Bulat	Bulat	Tidak beraturan
	Warna	Putih susu	Putih bening	Putih	Putih	Putih	Putih bening	Kuning	Putih susu	Putih bening
Makroskopis	Tepi Elevasi	Bertitik Datar	Halus Datar	Halus Datar	Bergerigi Datar	Berlekuk Datar	Berkarang Datar	Halus Datar	Halus Datar	Berkarang Datar
	Sifat Gram	+	+	+	-	+	-	+	+	+
Mikroskopis	Bentuk Sel	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Coccobacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Coccobacil</i>	<i>Coccus</i>	<i>Coccobacil</i>
Biokimi	Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Respirasi	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob
Ditemukan pada rhizosfer	Jati	Jati dan Nyamplung	Jati dan Nyamplung	Jati	Jati dan Nyamplung	Jati dan Nyamplung	Jati	Nyamplung	Nyamplung	

Berdasarkan Tabel 4.1, sembilan isolat bakteri selulolitik memiliki bentuk bulat, lonjong, dan tidak beraturan. Warna koloni bakteri terdiri dari putih, putih bening, putih susu, dan kuning. Sedangkan tepi koloni bakteri terdiri dari halus, bergerigi, berlekuk, berkarang, dan bertitik. Seluruh isolat memiliki elevasi datar.

Karakterisasi mikroskopis menunjukkan bahwa isolat VC1, VC2, VC3, VC5, VC7, VC8, dan VC9 merupakan bakteri gram positif, sedangkan VC4 dan VC6 merupakan bakteri gram negatif. Bentuk sel dari isolat VC1, VC2, VC3, VC5, dan VC6 adalah *bacil*. Isolat VC4, VC7, dan VC9 memiliki bentuk sel *coccobacil*. Sedangkan VC8 memiliki bentuk *coccus*.

Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu dikarenakan bakteri gram positif dapat mempertahankan warna kristal violet setelah dibilas dengan alkohol (Nurhidayati dkk., 2015). Sebanyak 50% dinding sel pada bakteri gram positif terdiri atas lapisan peptidoglikan (Putri, 2021). Sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang cenderung tipis dimana akan kehilangan kompleks kristal violet-lugol dan sel menjadi tidak berwarna. Pewarnaan sel menggunakan larutan safranin merah membuat sel bakteri gram negatif menjadi berwarna merah. Hasil pewarnaan gram dapat ditunjukkan pada Gambar 4.2.

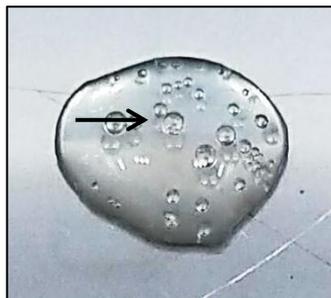




Gambar 4.2. Hasil Pengamatan Mikroskopis (Sifat Gram dan Bentuk Sel) pada Sembilan Isolat dengan Perbesaran Mikroskop 10x40.

Berdasarkan Tabel 4.1, hasil uji katalase menunjukkan reaksi positif pada seluruh isolat yang ditandai dengan adanya gelembung gas setelah penambahan  $H_2O_2$  3% (Antriana, 2014) (Gambar 4.3). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri mampu memproduksi enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Hal ini sesuai dengan pernyataan Arifin dkk.

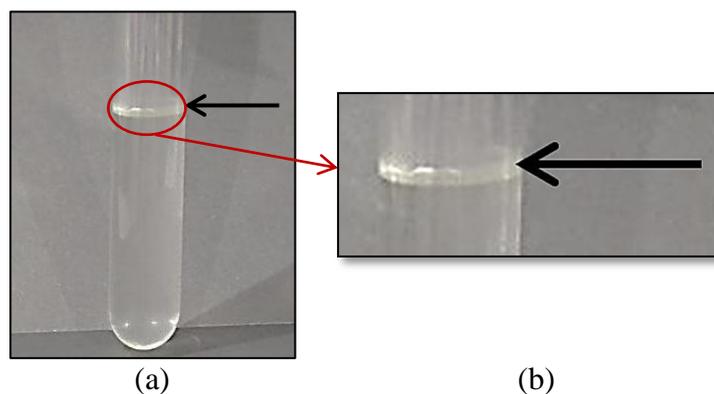
(2019) bahwa adanya gelembung gas karena hidrogen peroksida yang diuraikan oleh enzim katalase.



Gambar 4.3. Hasil Pengamatan Uji Katalase Bakteri Selulolitik (Anak panah menunjukkan gelembung gas yang menandakan reaksi positif dari uji katalase)

Hasil uji berikutnya adalah uji respirasi. Uji respirasi bakteri bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memanfaatkan oksigen di lingkungannya. Menurut kebutuhan oksigennya, bakteri dapat digolongkan menjadi bakteri aerob, aerob obligat, anaerob obligat, anaerob fakultatif, aerotoleran anaerob, capnophiles, dan mikroaerofilik (Tjampakasari & Hanifah, 2023).

Hasil uji respirasi seluruh isolat dapat dilihat pada Tabel 4.1. Tabel tersebut menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri selulolitik merupakan bakteri dengan respirasi aerob. Hal ini ditandai dengan adanya warna keruh pada permukaan media cair NB (*Nutrient Broth*) setelah diinkubasi selama 24 jam (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 (a) Hasil Pengamatan Uji Respirasi Bakteri Selulolitik (Anak panah hitam menunjukkan warna keruh pada permukaan media cair NB yang menandakan respirasi bakteri secara aerob), (b) Hasil Pengamatan Uji Respirasi Bakteri Selulolitik yang Diperbesar.

Hasil uji respirasi aerob pada bakteri selulolitik berkaitan dengan reaksi positif dari uji katalase. Hidrogen peroksida terbentuk pada saat metabolisme aerob, mikroorganisme yang tumbuh di lingkungan aerob dapat menguraikan zat toksik tersebut dengan enzim katalase (Rakhmawati, 2015). Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap bakteri karena dapat menginaktifkan enzim dalam sel (Nurhidayati dkk., 2015).

Bakteri yang telah diamati secara makroskopis, mikroskopis dan biokimia, selanjutnya diidentifikasi menggunakan buku identifikasi *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Seventh Edition* untuk mengetahui genus bakteri selulolitik yang telah diisolasi. Berdasarkan hasil identifikasi *Bergeys*, didapatkan lima genus bakteri yaitu *Bacillus*, *Alteromonas*, *Azotobacter*, *Cellulomonas*, dan *Micrococcus* (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Bakteri Selulolitik

No	Genus	Bentuk Sel	Jenis Gram	Jenis Katalase	Jenis Respirasi	Isolat
1	<i>Bacillus</i>	<i>Bacil</i>	+	+	Aerob	VC1, VC2, VC3, dan VC5
2	<i>Alteromonas</i>	<i>Coccobacil</i>	-	+	Aerob	VC4
3	<i>Azotobacter</i>	<i>Bacil</i>	-	+	Aerob	VC6
4	<i>Celullomonas</i>	<i>Coccobacil</i>	+	+	Aerob	VC7 dan VC9
5	<i>Micrococcus</i>	<i>Coccus</i>	+	+	Aerob	VC8

Isolat VC1, VC2, VC3, dan VC5 memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Bacillus*. *Bacillus* yang memiliki bentuk sel *bacil* juga memiliki aktivitas degradasi selulosa yang tinggi dan mendominasi rhizosfer sebanyak 45% (Breed dkk., 1957; Biswas dkk., 2020). Suhu optimal pertumbuhan *Bacillus* yaitu 28-35°C dengan pH 7-11 (Puspita dkk., 2017; Zahidah & Shovitri, 2013).

Isolat VC4 memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Alteromonas*. Menurut penelitian Supriyati (2009), genus ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 30-35°C dengan pH 6-10. Sedangkan isolat VC6 memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Azotobacter*. Menurut Kaburuan dkk. (2014), genus *Azotobacter* memiliki koloni berwarna putih. Suhu optimal pertumbuhan *Azotobacter* yaitu 20-40°C dengan pH 5-8 (Imron & Purwanti, 2016).

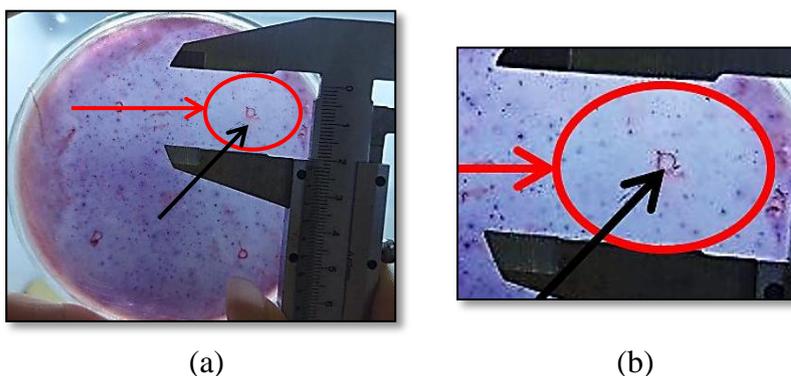
Sementara itu, isolat VC7 dan VC9 memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Celullomonas*. Genus *Celullomonas* tersebar di dalam tanah yang berperan dalam mensekresikan enzim selulase (Karina, 2016). Menurut Pramono dkk. (2021), bakteri genus *Celullomonas* memiliki koloni berwarna kuning. Genus

*Celullomonas* dapat tumbuh pada kisaran suhu 25-35°C dengan pH 5-9 (Yadav dkk., 2023).

Isolat VC8 memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Microccus*. Genus ini juga banyak ditemukan di lapisan akar tanaman (Marista dkk., 2013). *Microccus* dapat tumbuh secara optimum pada suhu 25-37°C. Berdasarkan hasil pengukuran pada lokasi pengambilan sampel, didapatkan rata-rata suhu sebesar 35°C dan pH sebesar 7. Hal tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan seluruh isolat masih dalam rentang suhu dan pH optimum pertumbuhan masing-masing genus yang ditemukan.

#### 4.2 Aktivitas Selulolitik pada Bakteri

Untuk melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi selulosa, perlu dilakukan uji aktivitas selulolitik pada masing-masing isolat. Hasil uji aktivitas selulolitik ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 (a) Hasil Pengukuran Aktivitas Selulolitik (Anak panah merah dan lingkaran merah menunjukkan zona bening yang terbentuk, anak

panah hitam menunjukkan koloni bakteri), (b) Hasil Pengukuran Aktivitas Selulolitik yang Diperbesar.

Isolat merupakan positif bakteri selulolitik jika membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening muncul karena adanya reaksi antara *congo red* dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik dalam selulosa. Selulosa dapat terdegradasi karena adanya aktivitas enzim yang diproduksi oleh bakteri (Nababan dkk, 2019). Pembilasan sisa *congo red* menggunakan NaCl akan melunturkan *congo red* yang mengandung turunan selulase yang terdegradasi seperti selobiosa, selodekstrin, dan glukosa karena *congo red* tidak berikatan kuat sehingga zona bening akan terlihat.

Menurut Murtiyaningsih & Hazmi (2017), media CMC mengandung polisakarida, warna merah setelah pemberian *congo red* 0,1% yang ada di sekitar zona bening merupakan selulosa yang tidak terdegradasi oleh bakteri. Warna kehitaman yang muncul merupakan sisa selulosa yang tidak terdegradasi sehingga membentuk kompleks selulosa-iodin. Hasil uji aktivitas selulolitik menunjukkan bahwa semua isolat bakteri mampu mendegradasi selulosa yang terkandung dalam media CMC (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Indeks Selulolitik dari Sembilan Isolat Hasil Isolasi

Kode Isolat	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Selulolitik	Kategori Indeks Selulolitik*)
VC1	4,4	10,9	1,47	Sedang
<b>VC2</b>	<b>4,2</b>	<b>22,1</b>	<b>4,2</b>	<b>Tinggi</b>
VC3	4,9	7,1	0,4	Rendah
VC4	4,32	8,3	0,9	Rendah
VC5	4,8	9,82	1,04	Sedang
VC6	4,4	5,4	0,2	Rendah

VC7	4,96	5,9	0,18	Rendah
VC8	4,8	6,9	0,4	Rendah
VC9	4,1	5,04	0,2	Rendah

Keterangan\*): Tinggi (nilai  $\geq 2$ ); Sedang (nilai 1-2); Rendah (nilai  $\leq 1$ )

Indeks selulolitik (IS) yang ditemukan termasuk kategori rendah hingga tinggi karena IS bernilai  $\leq 1$  hingga  $\geq 2$ . Isolat dengan kode VC3, VC4, VC6, VC7, VC8, dan VC9 memiliki indeks selulolitik yang rendah karena bernilai  $\leq 1$ . Isolat dengan kode VC1 dan VC5 memiliki indeks selulolitik sedang karena bernilai 1-2. Indeks selulolitik tertinggi yang didapatkan dari penelitian ini mencapai 4,2 pada isolat VC2. IS dikatakan tinggi jika memiliki nilai  $\geq 2$ . Hal ini menunjukkan bahwa isolat VC2 yang ditemukan pada rhizosfer tanaman jati dan tanaman nyamplung merupakan isolat dengan indeks selulolitik tinggi. Isolat VC2 merupakan isolat yang memiliki kemiripan karakteristik dengan genus *Bacillus*. *Bacillus* diduga memiliki kemampuan yang lebih baik dalam mengurai bahan organik dalam tanah.

Isolat bakteri selulolitik menghasilkan diameter zona bening yang berbeda-beda karena disebabkan oleh beberapa faktor, seperti adanya perbedaan ukuran koloni antara satu isolat dengan yang lain. Selain itu, adanya perbedaan pada kemampuan masing-masing isolat dalam menguraikan substrat di media CMC sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya (Batubara dkk., 2021). Semakin besar indeks selulolitik yang terbentuk, maka semakin tinggi aktivitas selulolitik yang dihasilkan oleh bakteri (Razie dkk., 2011). Menurut Alkahfi dkk. (2021), indeks selulolitik yang berbeda dapat disebabkan oleh mekanisme bakteri yang berbeda-beda dalam mendegradasi selulosa pada media CMC.

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian terkait Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Reklamasi *Groove Planting System* Pasca Aplikasi *Vermicomposting*, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat lima genus bakteri selulolitik yang ditemukan, yaitu *Bacillus*, *Alteromonas*, *Azotobacter*, *Cellulomonas*, dan *Micrococcus*.
2. Genus *Bacillus* (4 isolat) memiliki karakteristik gram positif, bentuk sel *bacil*, katalase positif, respirasi aerob; genus *Alteromonas* (1 isolat) memiliki karakteristik gram negatif, bentuk sel *coccobacil*, katalase positif, dan respirasi aerob; genus *Azotobacter* (1 isolat) memiliki karakteristik gram negatif, bentuk sel *bacil*, katalase positif, dan respirasi aerob; genus *Cellulomonas* (2 isolat) memiliki karakteristik gram positif, bentuk sel *coccobacil*, katalase positif, dan respirasi aerob; dan genus *Micrococcus* (1 isolat) memiliki karakteristik bentuk sel *coccus*, gram positif, katalase positif, dan respirasi aerob.
3. Indeks selulolitik dari lahan bekas tambang batu gamping teknik reklamasi GPS pasca aplikasi *vermicomposting* di PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban sebesar 0,2 hingga 4,2 yang terbagi dalam kategori rendah (0,2-0,9) sebanyak 6 isolat (VC3, VC4, VC6, VC7, VC8, dan VC9), kategori sedang (1,04-1,47) sebanyak 2 isolat (VC1 dan VC5), dan kategori tinggi (4,2) yaitu isolat VC2 yang mempunyai kemiripan dengan genus *Bacillus*.

## **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diharapkan adanya penelitian lanjutan untuk identifikasi molekuler dan karakterisasi enzim selulase khususnya pada isolat VC2 agar pengembangan dan pemanfaatan bakteri selulolitik tersebut menjadi lebih maksimal dan dapat dimanfaatkan secara berkelanjutan di masa depan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N., Auvaria, S. W., Nengse, S., Utama, T. T., & Yusrianti, Y. (2022). Studi Komparasi Metode Pengomposan Secara Windrow, Bata Berongga dan Vermikomposting. *Jurnal Kesehatan Lingkungan: Jurnal dan Aplikasi Teknik Kesehatan Lingkungan*, 19(1), 121-128.
- Afrizal I, R. (2019). *Rencana Teknik Reklamasi Pada Lahan Bekas Tambang Block Vi Pt. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik Tuban Jawa Timur*. Universitas Pembangunan Nasional Veteran Yogyakarta.
- Alam, M. S., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. N. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains Dan Matematika*, 21(2), 48–53.
- Alfariza, A., Sriwulan, S., & Purnomo, E. (2021). Angka Lempeng Total Bakteri Tanah Pada Lahan Reklamasi Tambang Batu Kapur. *Prosiding SNasPPM*, 6(1), 366–370.
- Algunadi, I. G., & Astawa, I. B. M. (2016). Analisis Dampak Penambangan Batu Kapur Terhadap Lingkungan Di Kecamatan Nusa Penida. *Jurnal Pendidikan Geografi Undiksha*, 4(1).
- Alkahfi F, Adiyartasa W, Wirawan IGP. (2021) Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Sampah Organik di TPA Suwung Denpasar. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 10(2): 153–160.
- Ananda, D., Rasyidah, R., & Mayasari, U. (2023). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik dari Lumpur Mangrove Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 25(1), 20–27.
- Antriana, N. (2014). Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes spp.*). *Saintifika*, 16(1).
- Apriansah, H. (2020). Kajian Pemindahan Volume Top Soil untuk Lahan Reklamasi Area Final Paringin dengan Luas 1.707,56 Ha di Pt. Adaro Indonesia, Balangan, Kalimantan Selatan. *Skripsi*.
- Arifin, Z., Gunam, I. B. W., Antara, N. S., & Setiyo, Y. (2019). Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa dari Kompos. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri ISSN, 2503*, 488X.
- Astriani, M. (2017). Skrining Bakteri Selulolitik Asal Tanah Kebun Pisang (*Musa paradisiaca*). *Jurnal Biota*, 3(1), 6–10.
- Azizah, S. N., Muzakhar, K., & Arimurti, S. (2014). Skrining Bakteri Selulolitik Asal Vermicomposting Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Berkala Sainstek*, 2(1), 26–30.
- Batubara, U. M., Mardalisa, M., Suparjo, S., Maritsa, H. U., Pujiyanto, E., & Herlini, M. (2021). Isolation and Characterization of Cellulolytic Bacteria Diversity in Peatland Ecosystem and Their Cellulolytic Activities. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 934(1), 12028.
- Bautista-Cruz, A., Aquino-Bolaños, T., Hernández-Canseco, J., & Quiñones-Aguilar, E. E. (2024). Cellulolytic Aerobic Bacteria Isolated from Agricultural and Forest Soils: An Overview. *Biology*, 13(2), 102.
- Biswas, S., Saber, M. Al, Tripty, I. A., Karim, M. A., Islam, M. A., Hasan, M. S.,

- Alam, A. S. M. R. U., Jahid, M. I. K., & Hasan, M. N. (2020). Molecular Characterization of Cellulolytic (Endo-And Exoglucanase) Bacteria from The Largest Mangrove Forest (Sundarbans), Bangladesh. *Annals of Microbiology*, 70, 1–11.
- Bolang, D.T. (2015). *Bakteriologi: Konsep-Konsep Dasar*. Malang: UMM Press.
- Breed, E. S., Murray, E. G. D., & Smith, N. R. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.
- Cahyanto, T., Ulfa, R. A., & Kamelia, S. Q. (2022). Potential of Sewage Sludge from the Integrated Laboratory of UIN Sunan Gunung Djati Bandung as Organic Fertilizers Through Vermicomposting. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(4), 1384-1389.
- Caldwell. (2024). *Public Health Image Library (PHIL)*. (<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=21362>, diakses 25 April 2024).
- Choi, Y.W., Hodgkiss, I.J., Hyde, K.D. (2005). Enzyme Production by Endophytes of *Brucea javanica*. *Journal Agric Tech*, 1,55-66.
- Dewi, A. K. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* Terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(2), 138–150.
- Erfandi, D. (2017). Pengelolaan Lansekap Lahan Bekas Tambang: Pemulihan Lahan dengan Pemanfaatan Sumberdaya Lokal (In-Situ). *Jurnal Sumberdaya Lahan*, 11(2), 55–66.
- Faikar, F. A., & Chamid, C. (2020). Kajian Dampak Kegiatan Industri Pertambangan Batu Gamping di Desa Citatah Kecamatan Cipatat Kabupaten Bandung Barat. *Prosiding Perencanaan Wilayah dan Kota ISSN*, 2460, 6480.
- Fauziah, S. I., & Ibrahim, M. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik pada Tanah Gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya, Kecamatan Pelangiran, Kabupaten Inhil, Riau. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 9(3), 194–203.
- Febriza, M. A., & Adrian, Q. J. (2021). Penerapan AR dalam Media Pembelajaran Klasifikasi Bakteri. *Jurnal Bioeduin*, 11(1), 10–18.
- Ferdian, I., Faizal, M., & Hasanudin, H. (2023). Potensi Fly Ash dan Bottom Ash Sebagai Alternatif Sumber Top Soil pada Lahan Reklamasi Pasca Penambangan Batubara. *Jurnal Penelitian Sains*, 25(1), 81-88.
- Ferdinand, P. H., Borne, R., Trotter, V., Pagès, S., Tardif, C., Fierobe, H. P., & Perret, S. (2013). Are Cellulosome Scaffolding Protein CipC and CBM3-Containing Protein HycP, Involved in Adherence of *Clostridium Cellulolyticum* to Cellulose?. *PLoS One*, 8(7), e69360.
- Friedrich, I., Kuritsyn, A., Hertel, R., & Daniel, R. (2023). *Luteibacter flocculans* sp. nov., Isolated from A Eutrophic Pond and Isolation and Characterization of *Luteibacter* Phage vB\_LflM-Pluto. *Microorganisms*, 11(2), 307.
- Google Earth. 2024. Peta Lokasi Lahan Bekas Tambang Batu Gamping PT. Semen Indonesia Pabrik Tuban. <http://www.earthgoogle.com>. Diakses pada tanggal 15 Agustus 2024.
- Google Earth. 2024. Peta Provinsi Jawa Timur. <http://www.earthgoogle.com>. Diakses pada tanggal 15 Agustus 2024.

- Hidayat, M., & Suryani, P. (2024). Perbaikan Sifat Kimia Tanah Bekas Galian C yang Diberi Biochar Bambu dan Mikroba Selulolitik: Improvement of The Chemical Properties of Exquated Soil with Bamboo Biochar and Cyllostic Microbe. *In Prosiding Seminar Nasional Integrasi Pertanian dan Peternakan*, 2(1), 35-46.
- Huang, K., Li, F., Wei, Y., Fu, X., & Chen, X. (2014). Effects of Earthworms on Physicochemical Properties and Microbial Profiles During Vermicomposting of Fresh Fruit and Vegetable Wastes. *Bioresource Technology*, 170, 45–52.
- Imron, M. F., & Purwanti, I. F. (2016). Uji Kemampuan Bakteri *Azotobacter* S8 dan *Bacillus subtilis* untuk Menyisihkan Trivalent Chromium (Cr<sup>3+</sup>) pada Limbah Cair. *Jurnal Teknik ITS*, 5(1).
- Irfan, M. (2014). Isolasi dan Enumerasi Bakteri Tanah Gambut di Perkebunan Kelapa Sawit PT. Tambang Hijau Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. *Jurnal Agroteknologi*, 5(1), 1–8.
- Kaburuan, R., Hapsah, H., & Gusmawartati, G. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen Non-Simbiotik Tanah Gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu. *Jurnal Agroteknologi*, 5(1), 35–39.
- Karina, A. I. (2016). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen, Pelarut Fosfat, dan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Bekas Tanaman Bawang Merah (Allium cepa L.) yang Diberi Biofertilizer*. Universitas Airlangga.
- Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Perkebunan. (2021). *Jenis-Jenis Metode Pembuatan Kompos*. Jakarta.
- Khairani, K., Aini, F., & Riany, H. (2019). Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Rizosfer Tanaman Sawit Jambi. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 12(2), 198–206.
- Khairiah, E., Khotimah, S., & Mulyadi, A. (2013). Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Tanah Gambut di Desa Parit Banjar Kabupaten Pontianak. *Protobiont*, 2(2).
- Khasanah, N. U., Ardianita, N., Azizah, A. I. N., Sriwulan. (2023). Eksplorasi dan Analisis Potensi Bakteri Selulolitik Rizosfer Tanaman Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) Lahan Pasca Tambang Batu Gamping dalam Mendegradasi Selulosa.
- Kurniawati, L., Kusdiyantini, E., & Wijanarka, W. (2019). Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Serratia marcescens*. *Jurnal Akademika Biologi*, 8(1), 1-9.
- Manai Elena, M. (2016). Vermicomposting Efficiency and Quality of Vermicompost with Different Bedding Materials and Worm Food Sources as Substrate. *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences*. ISSN, 2320, 6063.
- Marina, M., Lambui, O., & Suwastika, I. N. (2018). Karakterisasi Selulase Asal Bakteri Tanah Danau Kalimpa'a Sulawesi Tengah. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 7(2).
- Marista, E., Khotimah, S., & Linda, R. (2013). Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (*Musa paradisiaca* var. *nipah*) di Kota Singkawang. *Protobiont*, 2(2).

- Marker, K. (2015). *Microbial Interactions Yield Therapeutic Options*. (<https://www.labroots.com/trending/health-andmedicine/1509/microbialinteractions-yield-therapeutic-options>, diakses 25 April 2024).
- Melati, I. (2020). Teknik Bioremediasi: Keuntungan, Keterbatasan, dan Prospek Riset. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi, Teknologi dan Kependidikan*, 8(1).
- Munir, M., & Setyowati, R. R. D. N. (2017). Kajian Reklamasi Lahan Pasca Tambang di Jambi, Bangka, dan Kalimantan Selatan. *KLOROFIL: Jurnal Ilmu Biologi dan Terapan*, 1(1), 11–16.
- Murtiyaningsih, H., & Hazmi, M. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 15(2).
- Nababan, M., Gunam, I. B. W., & Wijaya, I. M. M. (2019). Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri ISSN, 2503, 488X*.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, F., & Ghazali, M. (2015). Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus alvarezii* (Doty) bergejala penyakit ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 1(2).
- Nurlaila, N., & Hendri, H. (2019). Komposisi Media Tanam pada Pembibitan Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*). *Jurnal Agriment*, 4(01), 1-5.
- Nurrochman, F., & Rahayu, T. (2015). *Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Baros, Kretek, Bantul, Yogyakarta*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nursanto, E., Jamal, F. I., & Amri, N. A. (2019). Analisis Produksi Pada Kemajuan Tambang Menggunakan Metode Fotogrametri UAV (Unmanned Aerial Vehicle) di Kuari Batu Gamping PT Semen Indonesia (Persero) Pabrik Tuban Jawa Timur. *Jurnal Teknologi Pertambangan*, 4(2), 187–195.
- Nurtjahyani, S. D., Oktafitria, D., Sriwulan, S., Ashuri, N. M., Cintamulya, I., & Purnomo, E. (2018). Identifikasi dan Karakterisasi Keanekaragaman Mikoriza pada Lahan Reklamasi Bekas Penambangan Batu Kapur di Kabupaten Tuban. *Prosiding Seminar Nasional Hayati*, 6, 293–299.
- Permen ESDM. (2014). Pelaksanaan Reklamasi dan Pasca tambang Pada Kegiatan Usaha Pertambangan Mineral dan Batubara No. 7 Tahun 2014.
- Pramono, H., Mariana, A., Ryandini, D., & Suidiana, E. (2021). Diversity of Cellulolytic Bacteria Isolated from Coastal Mangrove Sediment in Logending Beach, Kebumen, Indonesia. *Biodiversitas: Journal of Biological Diversity*, 22(4).
- Puspita, F., Ali, M., & Pratama, R. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* Sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Agroteknologi Tropika*, 6(2), 44–49.
- Putri, M. H. (2021). *Mikrobiologi Keperawatan Gigi*. Penerbit NEM.
- Rahmawati, E., & Herumurti, W. (2016). Vermikompos Sampah Kebun dengan Menggunakan Cacing Tanah *Eudrilus eugeneae* dan *Eisenia fetida*. *Jurnal Teknik ITS*, 5(1).
- Razie F, Iswandi A, Sutandi A, Gunarto L, Sugiyanta. (2011). Aktivitas Enzim

- Selulase Mikroba yang Diisolasi dari Jerami Padi di Persawahan Pasang Surut di Kalimantan Selatan. *Jurnal Tanah Lingkungan*, 13(2): 43–48.
- Rakhmawati, D. (2015). Remediasi Limbah Proses Pewarna Naptol Jeans Dengan Sistem Lumpur Aktif Menggunakan Bakteri Indigenus. *Doctoral dissertation*. UAJY.
- Rettenmaier, R., Lo, Y. K., Schmidt, L., Munk, B., Lagkouvardos, I., Neuhaus, K., Schwarz, W., Liebl, W., & Zverlov, V. (2020). A Novel Primer Mixture for GH48 Genes: Quantification and Identification of Truly Cellulolytic Bacteria in Biogas Fermenters. *Microorganisms*, 8(9), 1297.
- Riyanto, R., Saputra, A., & Arifin, Z. (2020). Pola Prilaku Keberadaan Semut Famili Formicidae pada Tepian Sungai Musi Gandus Kota Palembang Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(1), 116-124.
- Rudiansyah, Dharma, Rahmawati. (2017). Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Peniti, Kecamatan Segedong, Kabupaten Mempawah. *Protobiont*, 6(3).
- Sriwulan. (2014). *Pedoman Praktikum Mikrobiologi*. Universitas PGRI Ronggolawe.
- Sriwulan, S., Oktafitria, D., Nurtjahyani, S. D., Arifin, A. Z., Purnomo, E., & Tarigan, A. (2022). Rekayasa Vermikomposting pada Lahan Reklamasi Tambang Batu Gamping dengan Teknik Tanam Groove Planting System (GPS) Untuk Pengayaan Organisme Tanah.
- Supriyati, D. (2009). *Stappia aggregata* G1 dan *Alteromonas Sp.* G2 Bakteri Pendegradasi Phenantrene yang Diisolasi dari Lingkungan Laut. *Berita Biologi*, 9(6), 665-672.
- Tjampakasari, C. R., & Hanifah, N. (2023). Kultivasi dan Identifikasi Bakteri Anaerob *Bacteroides Fragilis*. *MAHESA: Malahayati Health Student Journal*, 3(11), 3717–3729.
- Ulfa, A., Khotimah, S., & Linda, R. (2014). Kemampuan Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Protobiont*, 3(2).
- Wahyuni, D., Khotimah, S., & Linda, R. (2015). Eksplorasi Bakteri Selulolitik Pada Tingkat Kematangan Gambut yang Berbeda di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Protobiont*, 4(1), 69–76.
- Waling, N. A., Sritamin, M., & Wijaya, I. N. (2021). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik pada Buah Kopi Arabika (Coffea arabica L.)*. Nandur.
- Yadav, M., Kumar, T., Maurya, R., Pandey, R., & Chauhan, N. S. (2023). Characterization of *Cellulomonas sp.* HM71 as Potential Probiotic Strain For Human Health. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1082674.
- Zahidah, D., & Shovitri, M. (2013). Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 2(1), E12–E15.

**LAMPIRAN-LAMPIRAN**

## Lampiran 1. Dokumentasi Alat dan Bahan



Nutrient Broth



Yeast Extract



NaCl 1M



Magnesium Sulfat



Congo Red

 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 

Amonium Sulfat



Dikalium Fosfat

 $\text{H}_2\text{O}_2$ 

Agar Powder



Sodium Chloride



Kristal Violet



Lugol



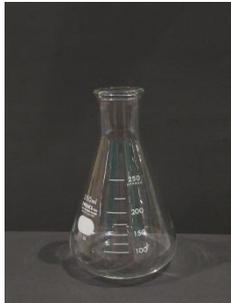
Aceton Alkohol



Safranin



CMC Teknis

*(Lanjutan)*

Erlenmeyer

*Beaker glass*

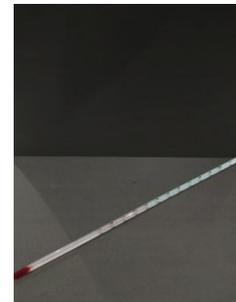
Gelas Ukur



Cawan Petri

Tabung Reaksi &  
Rak

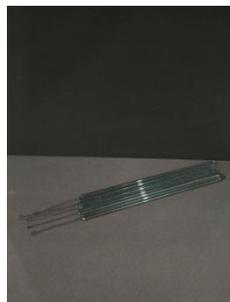
Spiritus

*Soil Tester*

Termometer



Pengaduk



Jarum Ose



Pipet Tetes



Jangka Sorong

*Object Glass**Cover Glass*Sarung Tangan  
LateksSarung Tangan  
Kain

(Lanjutan)



Kapas



Tisu



Ziplock



Kertas Coklat



Kertas label



Sekop



Cling wrap



Aluminium foil



Timbangan Analitik



Hot Plate



Vortex



Inkubator



LAF



Autoclave



Mikroskop



## Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

Pengambilan  
SampelPengukuran pH &  
kelembaban tanahPengompositan  
SampelPembuatan Media  
CMCPreparasi Alat &  
BahanSterilisasi Alat &  
BahanPengenceran  
Bertingkat

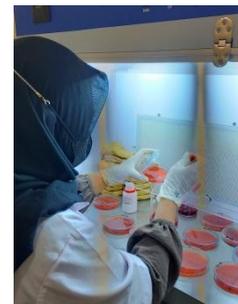
Isolasi Bakteri



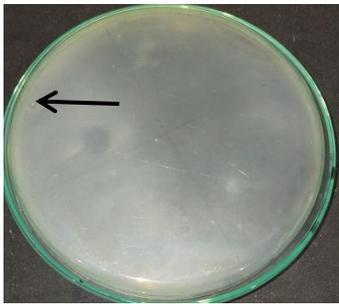
Purifikasi Isolat



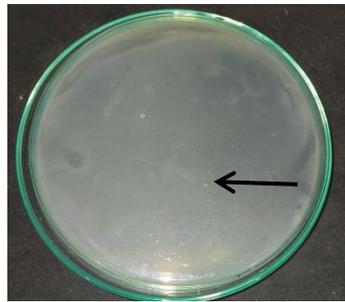
Pewarnaan Gram

Pengamatan  
MikroskopisUji Aktivitas  
Selulolitik

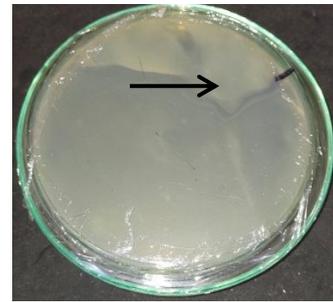
## Lampiran 4. Dokumentasi Hasil Isolasi Bakteri



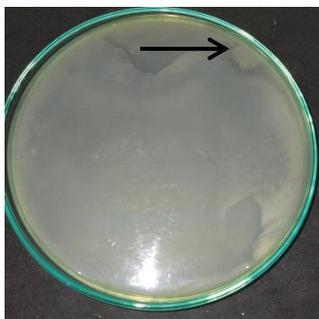
Isolat VC1



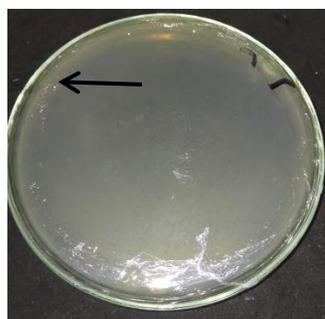
Isolat VC2



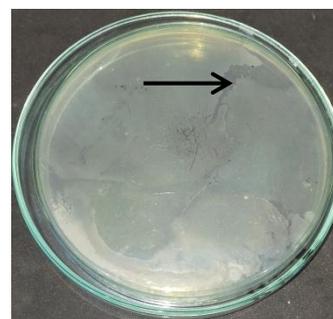
Isolat VC3



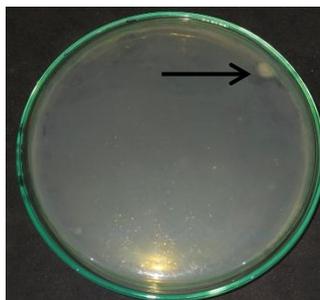
Isolat VC4



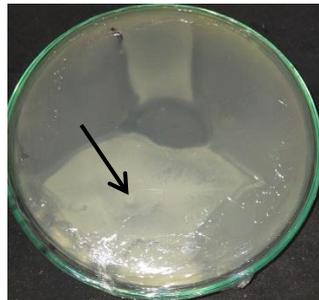
Isolat VC5



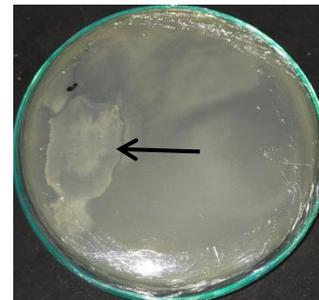
Isolat VC6



Isolat VC7



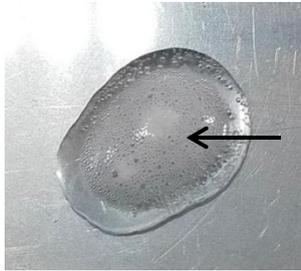
Isolat VC8



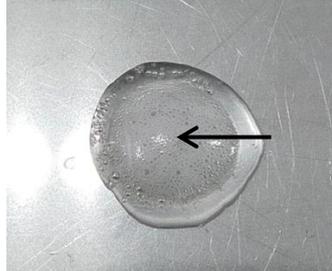
Isolat VC9

Keterangan : anak panah menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh pada media CMC.

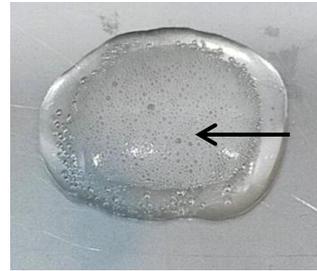
## Lampiran 5. Dokumentasi Hasil Uji Katalase



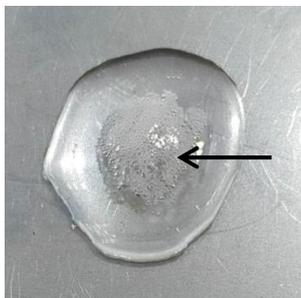
Isolat VC1



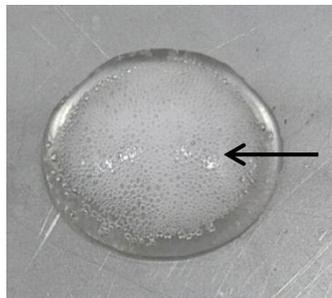
Isolat VC2



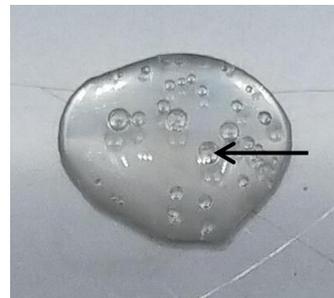
Isolat VC3



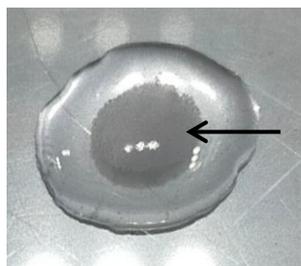
Isolat VC4



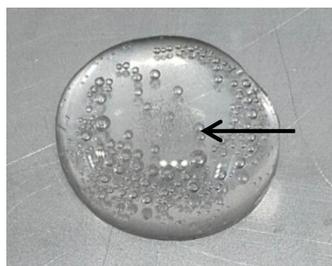
Isolat VC5



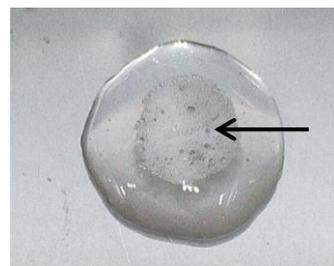
Isolat VC6



Isolat VC7



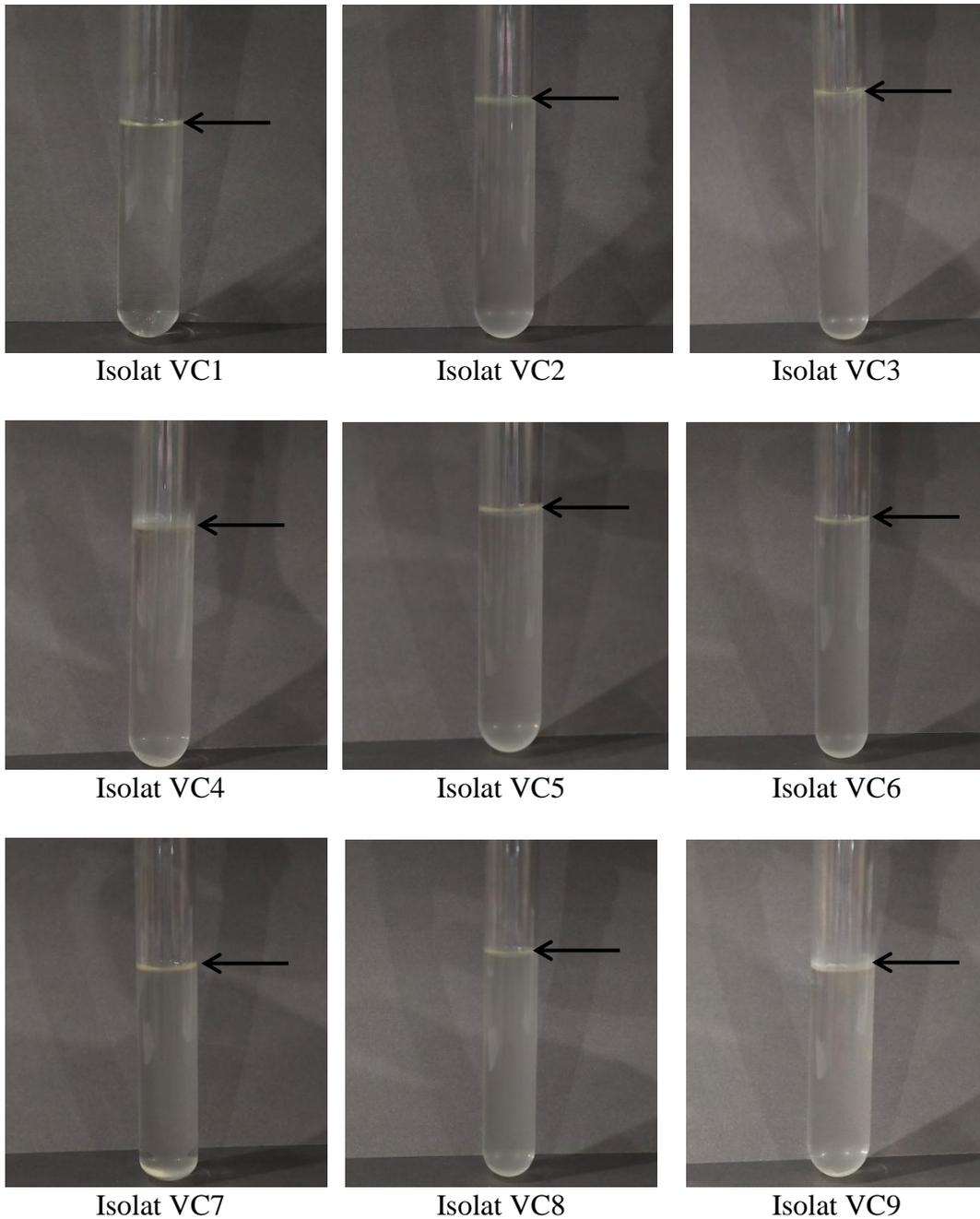
Isolat VC8



Isolat VC9

Keterangan : anak panah menunjukkan gelembung gas yang menandakan reaksi positif dari uji katalase.

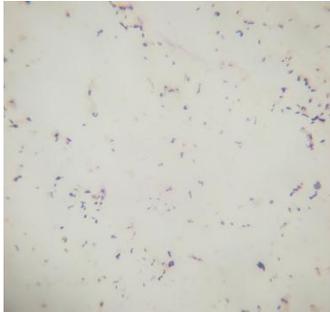
## Lampiran 6. Dokumentasi Hasil Uji Respirasi



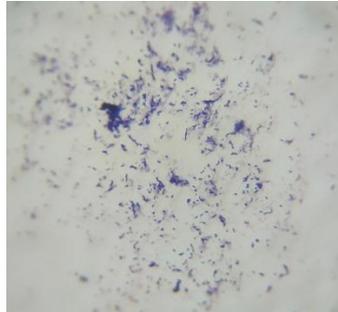
Keterangan : anak panah menunjukkan warna keruh pada permukaan media cair

NB yang menandakan respirasi bakteri secara aerob.

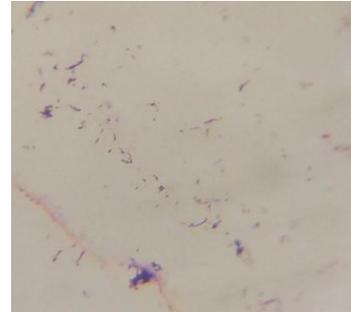
## Lampiran 7. Dokumentasi Hasil Pengamatan Mikroskopis



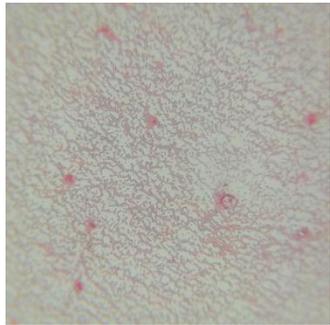
Isolat VC1  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *bacil*)



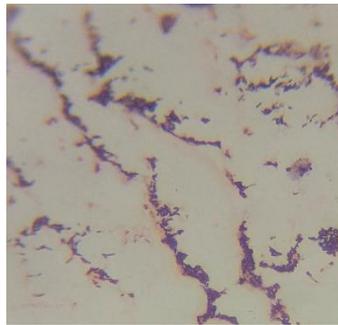
Isolat VC2  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *bacil*)



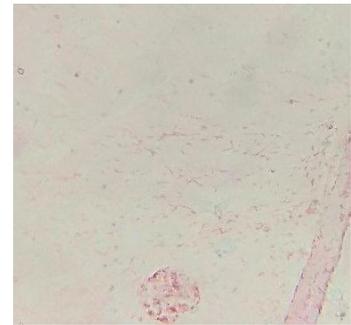
Isolat VC3  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *bacil*)



Isolat VC4  
(Gram negatif dengan  
bentuk sel *coccobacil*)



Isolat VC5  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *bacil*)



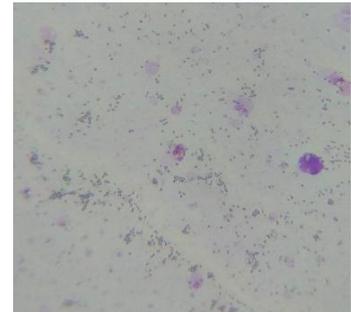
Isolat VC6  
(Gram negatif dengan  
bentuk sel *bacil*)



Isolat VC7  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *coccobacil*)

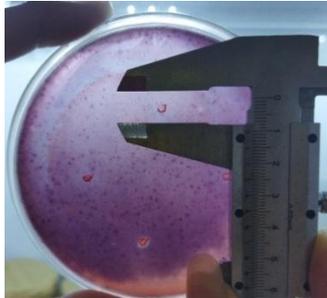


Isolat VC8  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *coccus*)

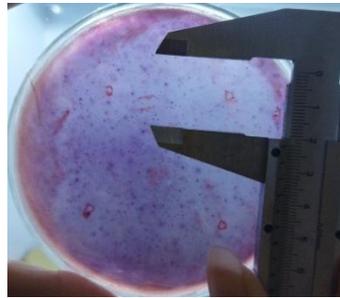


Isolat VC9  
(Gram positif dengan  
bentuk sel *coccobacil*)

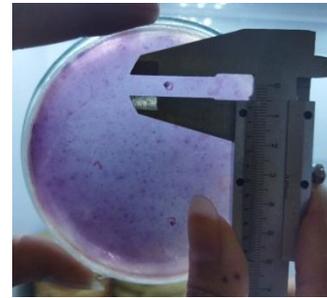
## Lampiran 8. Dokumentasi Hasil Pengukuran Aktivitas Selulolitik



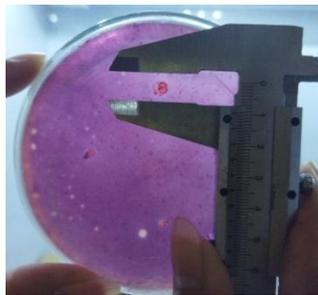
Isolat VC1



Isolat VC2



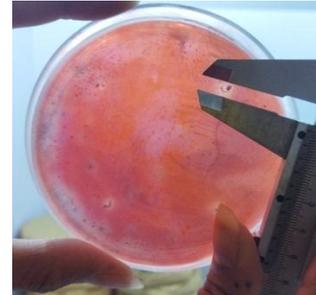
Isolat VC3



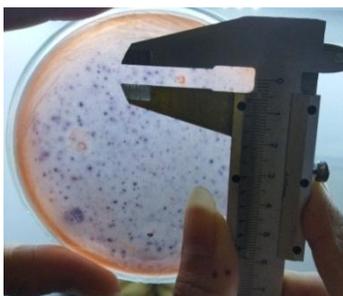
Isolat VC4



Isolat VC5



Isolat VC6



Isolat VC7



Isolat VC8



Isolat VC9

Keterangan: Ujung jangka sorong menunjukkan diameter zona bening setelah uji aktivitas selulolitik.

## Lampiran 9. Surat Izin Penelitian



**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLAWE  
(UNIROW) TUBAN  
SK MENDIKNAS NO. 08/D/O/2007**

**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN**

1. Pendidikan Pancasila & Kewarganegaraan (S.1)
2. Pendidikan Ekonomi (S.1)
3. Pendidikan Biologi (S.1)
4. Pendidikan Matematika (S.1)
5. Pendidikan Bahasa Indonesia (S.1)
6. Pendidikan Bahasa Inggris (S.1)
7. Pendidikan Guru Pendidikan Anak Usia Dini (S.1)
8. Pendidikan Guru Sekolah Dasar (S.1)

**FAKULTAS ILMU SOSIAL DAN**

- ILMU POLITIK**
1. Ilmu Politik (S.1)
  2. Ilmu Komunikasi (S.1)

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN IPA**

1. Biologi (S.1)
2. Matematika (S.1)

**FAKULTAS TEKNIK**

1. Teknik Industri (S.1)
2. Teknik Informatika

**FAKULTAS PERIKANAN DAN**

- KELAUTAN**
1. Ilmu Kelautan (S.1)
  2. Ilmu Perikanan (S.1)

Alamat: Jl. Manunggal 61 Tuban Telp (0356) 322233 Fax. (0356) 331578 Website: www.unirow.ac.id Email: prospective@unirow.ac.id

Nomor : **1886/071073/KM/2024**  
Lampiran :  
Perihal : **Permohonan Izin Penelitian**

Tuban, 24 Juli 2024

Kepada Yth. : **PT. Semen Indonesia (Persero) Tbk. Pabrik  
Tuban**  
di  
Tempat

Sehubungan dengan kegiatan mahasiswa Universitas PGRI Ronggolawe (UNIROW) Tuban dalam rangka penulisan skripsi, mohon dengan hormat Saudara memberi izin dan bantuan seperlunya kepada mahasiswa di bawah ini :

Nama : Hana Dwi Andayani  
Tempat, Tanggal Lahir : Tuban, 03-06-2000  
NPM : 1513200003  
Fakultas / Prodi : FMIPA / Biologi (S1)  
Angkatan : 2020  
Alamat : Jl. Mojopahit Gang Barokah, Karang, Kec. Semanding, Kab. Tuban.

untuk mengadakan penelitian di lembaga/perusahaan yang saudara pimpin dengan judul :  
**EKSPLORASI BAKTERI SELULOLITIK DARI LAHAN BEKAS TAMBANG BATU GAMPING TEKNIK GROOVE PLANTING SYSTEM PASCA APLIKASI VERMICOMPOSTING**

Dengan ketentuan bahwa hasil penelitian/pendataan yang dilakukan semata-mata untuk kepentingan dan pengembangan kegiatan keilmuan.

Demikian atas kebijaksanaan dan perkenan saudara, kami sampaikan terima kasih.

  
 an. Rektor  
 Wakil Rektor I,  
 Anggra Kalista, S.T., M.T.  
 NIDN. 0702108403

Tembusan disampaikan Kepada Yth. :

1. Rektor (Sebagai Laporan)
2. Ka. Lemlit UNIROW Tuban
3. Mahasiswa yang bersangkutan

## Lampiran 10. Surat Pemberian Izin Pemakaian Laboratorium Biologi



**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLAWÉ**  
**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN**  
**LABORATORIUM PENDIDIKAN BIOLOGI**

Alamat : Jl. Manunggal 61 Telp (0356) 322233 Fax (0356) 331578 Website: www.unirow.ac.id Email: prospective@unirow.ac.id

---

No : 04/Lab. Pend. Biologi/V/2024

Lamp. : 1

Perihal : Pemberian Izin Pemakaian Laboratorium Biologi

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ifa Seftia Rakhma Widiyanti, S.Pd., M.Pd.  
NIDN : 0716098901  
Jabatan : Kepala Laboratorium  
Unit Kerja : Pendidikan Biologi Universitas PGRI Ronggolawe

Dengan ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa :

Berdasarkan surat permohonan izin peminjaman tempat yang kami terima dari Ketua Program Studi Biologi pada tanggal 17 Mei 2024 dengan nomor 281/071073/BIO/UM/V/2024, dengan ini kami menyatakan bahwa kami bersedia memberikan izin peminjaman Laboratorium Biologi untuk kegiatan penelitian skripsi dengan judul "*Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Groove Planting System Pasca Aplikasi Vermicomposting*" yang akan dilaksanakan pada bulan **Mei-Juli 2024** atas nama **Hana Dwi Andayani (1513200003)**.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya dan apabila ada kekeliruan dikemudian hari, maka akan dibetulkan.

Tuban, 24 Mei 2024

Kepala Laboratorium Pend. Biologi



Ifa Seftia Rakhma W., S.Pd., M.Pd.  
NIDN. 0716098901

*(Lanjutan)*



**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLawe  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
LABORATORIUM PENDIDIKAN BIOLOGI**

Alamat : Jl. Manunggal 61 Telp (0356) 322233 Fax (0356) 331578 Website: [www.unirow.ac.id](http://www.unirow.ac.id) Email: [prospective@unirow.ac.id](mailto:prospective@unirow.ac.id)

---

**LAMPIRAN**

Adapun ketentuan yang harus dipatuhi selama menggunakan **Laboratorium Biologi** adalah sebagai berikut:

1. Menjaga kebersihan dan ketertiban tempat selama kegiatan berlangsung.
2. Tidak melakukan kegiatan yang melanggar hukum dan norma yang berlaku.
3. Bertanggung jawab jika terjadi kerusakan pada fasilitas dan bahan yang digunakan selama kegiatan berlangsung.

## Lampiran 11. Surat Keterangan Telah Selesai Melakukan Penelitian



**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLawe**  
**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN**  
**LABORATORIUM PENDIDIKAN BIOLOGI**

Alamat : Jl. Mamanggal 61 Telp (0356) 322233 Fax (0356) 331578 Website: www.unirow.ac.id Email: prospective@unirow.ac.id

**SURAT KETERANGAN**

Nomor: 03/Lab. Pend. Biologi/VII/2024

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama	: Ifa Seftia Rakhma Widiyanti, S.Pd., M.Pd.
NIDN	: 0716098901
Jabatan	: Kepala Laboratorium
Unit Kerja	: Pendidikan Biologi Universitas PGRI Ronggolawe

Dengan ini menerangkan dengan sebenarnya bahwa :

Nama	: Hana Dwi Andayani
NPM	: 1513200003
Program Studi	: Biologi

Telah melaksanakan kegiatan penelitian di Laboratorium Biologi untuk skripsi dengan judul ***“Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas Tambang Batu Gamping Teknik Groove Planting System Pasca Aplikasi Vermicomposting”*** yang dilaksanakan pada bulan **Mei-Juli 2024**

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya dan apabila ada kekeliruan dikemudian hari, maka akan dibetulkan.

Tuban, 30 Juli 2024

Kepala Laboratorium Pend. Biologi



*Ifa Seftia Rakhma W.*  
Ifa Seftia Rakhma W., S.Pd., M.Pd.  
 NIDN. 0716098901

## Lampiran 12. Kartu Bimbingan Skripsi



**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLawe TUBAN**  
 Jl. Manunggal 61 Tuban Telp. (0356)322233 Fax. (0356)331578  
 Website: www.unirow.ac.id Email: prospective@unirow.ac.id.

**KARTU BIMBINGAN SKRIPSI**

Nama Mahasiswa : Hana Dwi Andayani  
 NPM : 1513200003  
 Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
 Prodi : Biologi  
 Judul Skripsi : Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas  
 Tambang Batu Gamping Teknik *Groove  
 Planting System* Pasca Aplikasi  
*Vermicomposting*

Waktu Pelaksanaan Penelitian : Mei-Juli 2024  
 Nama Dosen Pembimbing I : Sriwulan, S.Pd., M.Si.  
 Nama Dosen Pembimbing II : Dwi Oktafitria, S.Si., M.Sc.

Tanggal	Keterangan	Paraf Pembimbing
18 Maret 2024	Pengajuan Judul	
20 Maret 2024	Revisi Judul Proposal (redaksi kalimat)	
22 Maret 2024	Bimbingan latar belakang, rumusan masalah, tujuan.	
25 Maret 2024	Revisi latar belakang, rumusan masalah, tujuan.	
27 Maret 2024	Bimbingan kerangka berpikir	
30 Maret 2024	Revisi kerangka berpikir	
1 April 2024	Bimbingan tinjauan pustaka	
5 April 2024	Revisi tinjauan pustaka (penambahan gambar dan referensi)	
18 April 2024	Bimbingan metode penelitian	
20 April 2024	Revisi metode penelitian (penambahan gambar titik pengambilan sampel)	
24 April 2024	Revisi metode penelitian (penambahan contoh tabel hasil pengumpulan data)	

(Lanjutan)

27 April 2024	Bimbingan abstrak	9.
29 April 2024	Revisi abstrak	9.
30 April 2024	Finalisasi proposal skripsi	9.
3 Mei 2024	Bimbingan pengambilan sampel penelitian	9.
13 Mei 2024	Bimbingan mengenai bahan pembuatan media.	9.
23 Mei 2024	Bimbingan prosedur penelitian (isolasi dan purifikasi)	9.
29 Mei 2024	Bimbingan prosedur penelitian (pewarnaan gram)	9.
5 Juni 2024	Bimbingan prosedur penelitian (uji katalase dan uji respirasi)	9.
16 Juni 2024	Bimbingan prosedur penelitian (uji aktivitas selulolitik)	9.
18 Juli 2024	Bimbingan Hasil	9.
22 Juli 2024	Revisi Hasil	9.
24 Juli 2024	Bimbingan pembahasan, Bab V, dan abstrak	9.
29 Juli 2024	Revisi pembahasan, Bab V, dan abstrak	9.

Tuban, 31 Juli 2024

Mengetahui,

Kaprosdi



Riska Andriani, S.Si., M.Si  
NIDN. 0716018801

Dosen Pembimbing 1

Sriwulan, S.Pd., M.Si.  
NIDN. 0711088701

(Lanjutan)



**UNIVERSITAS PGRI RONGGOLawe TUBAN**  
 Jl. Manunggal 61 Tuban Telp. (0356)322233 Fax. (0356)331578  
 Website: www.unirow.ac.id Email: prospective@unirow.ac.id

### KARTU BIMBINGAN SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Hana Dwi Andayani  
 NPM : 1513200003  
 Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
 Prodi : Biologi  
 Judul Skripsi : Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Lahan Bekas  
 Tambang Batu Gamping Teknik *Groove  
 Planting System* Pasca Aplikasi  
*Vermicomposting*

Waktu Pelaksanaan Penelitian : Mei-Juli 2024  
 Nama Dosen Pembimbing I : Sriwulan, S.Pd., M.Si.  
 Nama Dosen Pembimbing II : Dwi Oktafitria, S.Si., M.Sc.

Tanggal	Keterangan	Paraf Pembimbing
18 Maret 2024	Pengajuan judul	
20 Maret 2024	Revisi judul proposal (redaksi kalimat)	
22 Maret 2024	Bimbingan latar belakang, rumusan masalah, tujuan.	
25 Maret 2024	Revisi latar belakang, rumusan masalah, tujuan.	
27 Maret 2024	Bimbingan kerangka berpikir	
30 Maret 2024	Revisi kerangka berpikir.	
1 April 2024	Bimbingan tinjauan pustaka	
5 April 2024	Revisi tinjauan pustaka (penambahan gambar dan referensi)	
18 April 2024	Bimbingan metode penelitian	
20 April 2024	Revisi metode penelitian (penambahan gambar titik pengambilan sampel)	
24 April 2024	Revisi metode penelitian (penambahan contoh tabel hasil pengumpulan data)	

(Lanjutan)

27 April 2024	Bimbingan abstrak	
29 April 2024	Revisi abstrak	
30 April 2024	Finalisasi proposal skripsi	
3 Mei 2024	Bimbingan pengambilan sampel penelitian	
13 Mei 2024	Bimbingan mengenai bahan pembuatan media.	
23 Mei 2024	Bimbingan prosedur penelitian (isolasi dan purifikasi)	
28 Mei 2024	Bimbingan prosedur penelitian (pewarnaan gram)	
5 Juni 2024	Bimbingan prosedur penelitian (uji katalase dan uji respirasi)	
16 Juni 2024	Bimbingan prosedur penelitian (uji aktivitas selulo litik)	
18 Juli 2024	Bimbingan hasil	
22 Juli 2024	Revisi hasil	
24 Juli 2024	Bimbingan pembahasan, Bab I, dan abstrak	
29 Juli 2024	Revisi pembahasan, Bab I, dan abstrak	

Tuban, 31 Juli 2024

Mengetahui,

Kaprosdi



Dosen Pembimbing 2

Dw/Oktafitria, S.Si., M.Sc.  
NIDN. 0711088701

## Lampiran 13. Daftar Riwayat Hidup

**DAFTAR RIWAYAT HIDUP****A. Identitas Penulis**

Nama Lengkap : Hana Dwi Andayani  
 NPM : 1513200003  
 Alamat : Jl. Mojopahit Gg. Barokah,  
 Kelurahan Karang,  
 Kecamatan Semanding,  
 Kabupaten Tuban.  
 Tempat, Tanggal Lahir : Tuban, 3 Juni 2000  
 Nama Orang Tua :  
 a. Ayah : Djoko Mulyono  
 b. Ibu : Trimurni  
 Judul Skripsi :Eksplorasi Bakteri Selulolitik  
 dari Lahan Bekas Tambang  
 Batu Gamping Teknik  
 Reklamasi *Groove Planting*  
*System* Pasca Aplikasi  
*Vermicomposting*

**B. Riwayat Pendidikan**

Tahun Lulus	Jenjang	Nama Sekolah
2013	SD	SDN Kebonsari 1 Tuban
2016	SMP	SMPN 1 Tuban
2019	SMA	SMAN 1 Tuban

**C. Pengalaman Penelitian**

No.	Tahun	Judul	Peran/Posisi
1	2021	<i>Optimization of the Utilization of 3B Bakersiracang as an Alternative Natural Purifier of Batik Color Waste</i>	Anggota Keempat
2	2022	Potensi Sabut Siwalan ( <i>Borassus flabellifer</i> ) dan Ekstrak Serai ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) sebagai Air Freshener dalam Mengurangi Tingkat Stress di Masa Pandemi	Anggota Kedua
3	2022	Angka Lempeng Total Bakteri Ikan Kuniran Dan Ikan Tongkol Asap Di Pasar Baru Tuban	Anggota ketiga
4	2023	Analisis Potensi Mesocarp Siwalan	Ketua Riset

		<i>(Borassus flabellifer)</i> Sebagai Gula Rendah Kalori	
5	2023	Potensi <i>Air Freshener</i> Berbasis Ekstrak Sabut Siwalan ( <i>Borassus flabellifer</i> ) dan Serai ( <i>Cymbopogon citratus</i> ) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Udara	Ketua Riset
6	2023	GFCC ( <i>Glacilaria Floating Cage Culture</i> ) sebagai Dasar Pengembangan Biofuel pada Lahan Pasca Tambang Tanah Liat	Anggota Riset
7	2023	Produksi Biourin Sapi dengan Penambahan Akar Tanaman Leguminosa sebagai Pupuk Organik Ramah Lingkungan di Kabupaten Tuban	Anggota Riset
8	2024	<i>Analysis of the potential of Sendang Silowo in Mandirejo Village, Merakurak District, Tuban Regency as Aquatic Ecotourism</i>	Ketua Riset

#### D. Pengalaman Publikasi dan Seminar Ilmiah

No.	Tahun	Nama Kegiatan	Judul
1	2021	<i>International Conference in Education, Science and Technology (ICONEST)</i>	<i>Optimization of the Utilization of 3B Bukersirancang as an Alternative Natural Purifier of Batik Color Waste</i>
2	2022	<i>Biology Natural Resources Journal</i>	Angka Lempeng Total Bakteri Ikan Kuniran Dan Ikan Tongkol Asap Di Pasar Baru Tuban
3	2024	<i>Biology, Medicine, &amp; Natural Product Chemistry</i>	<i>Antibacterial Potential of Freshener Water Based on Siwalan Coir Extract (Borassus flabellifer) and Lemongrass (Cymbopogon citratus) Against Airborne Bacteria</i>
4	2024	<i>Journal of Natural Sciences and Learning</i>	<i>Analysis of the potential of Sendang Silowo in Mandirejo Village, Merakurak District, Tuban Regency as Aquatic Ecotourism</i>

**E. Pengalaman Kegiatan Kemahasiswaan**

No.	Tahun	Nama Kegiatan	Peran/Posisi
1	2020-2021	Himpunan Mahasiswa Biologi Ronggolawe (HIMBIOR)	Anggota
2	2021-2022	Himpunan Mahasiswa Biologi Ronggolawe (HIMBIOR)	Sekretaris Umum
3	2020	Temu Akrab HIMBIOR	Peserta
4	2021	MUMAS dan LDKM HIMBIOR 2021	Panitia
5	2022	MUMAS dan LDKM HIMBIOR 2022	Panitia
6	2022	RAKORDA Daerah Surabaya IKAHIMBI Wilker 5 Jawa 3 (Rapat Koordinasi Daerah)	Panitia
7	2022-2023	Himpunan Mahasiswa Biologi Ronggolawe (HIMBIOR)	Anggota Departemen Kaderisasi
8	2023	Himpunan Mahasiswa Biologi Ronggolawe (HIMBIOR)	Anggota Departemen Litbang

**F. Pengalaman Pelatihan/Workshop**

No.	Tahun	Nama Pelatihan/Workshop	Tempat
1	2021	Pendampingan Penyusunan Proposal Penelitian dengan Tema Penyusunan Road Map Penelitian untuk Menghasilkan Proposal yang Lolos Hibah	Universitas PGRI Ronggolawe
2	2021	Pelatihan HKI	Bappeda Kab. Tuban

**G. Prestasi**

No.	Tahun	Nama Kegiatan	Posisi
1	2021	Tuban Berinovasi (TUBERNOVA) oleh BAPPEDA Kabupaten Tuban	Finalis 10 besar
2	2022	Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Bidang PKM-RE oleh Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Belmawa)	Peraih Pendanaan
3	2022	PKM-K PORSENASMA IV oleh PB PGRI Pusat	Peraih Juara II
4	2023	Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Bidang PKM-RE oleh Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Belmawa)	Peraih Pendanaan

5	2023	Duta Kampus Universitas PGRI Ronggolawe oleh BEM UNIROW	Peraih Juara II
6	2023	Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Bidang PKM-AI oleh Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Belmawa)	Peraih Insentif
7	2023	PKM-AI PT PGRI Se-Indonesia SKIM Saintek Bidang Penerapan IPTEK dan TTG oleh PB PGRI Pusat	Peraih Juara I
8	2024	Esai International Students' Creativity Competition	Peraih Juara I
9	2024	Pemuda Pelopor oleh Dinas Kebudayaan Pemuda dan Olahraga serta Pariwisata Kabupaten Tuban	Finalis
10	2024	Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Bidang PKM-AI oleh Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan (Belmawa)	Peraih Insentif

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apalagi di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenar-benarnya untuk memenuhi salah satu kelengkapan laporan skripsi.

Tuban, 31 Juli 2024



Hana Dwi Andayani