

## **Isolasi, Karakterisasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim Termostabil Air Panas Kerinci**

**Priya Tri Nanda<sup>1</sup>, Sinta Anggraini Siregar<sup>1</sup>, Rifky Kurniawan<sup>1</sup>, Hairuidin<sup>1</sup>, Meriyanti<sup>1</sup>, Yatno<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Mahasiswa Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi

<sup>2</sup> Dosen Prodi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Jambi

Jl. Jambi-Ma. Bulian KM 15 Mendalo Darat Jambi 36361

email: [priyatrinda30@gmail.com](mailto:priyatrinda30@gmail.com)

### **ABSTRAK**

*Telah diisolasi 3 isolat bakteri termofilik yang berpotensi dalam menghasilkan enzim termostabil dari sumber air panas Sungai Tutung Kabupaten Kerinci. Ketiga isolat bakteri tersebut memiliki karakteristik dengan bentuk bulat, ukuran sedang, warna kuning, permukaan cembung, tepi utuh dan gram negatif dengan bentuk basil. Bakteri termofilik berpotensi dalam menghasilkan enzim amilase dan katalase termostabil.*

**Kata kunci:** Bakteri termofilik, Enzim, Termostabil.

### **PENDAHULUAN**

Enzim menjadi raja pada industri saat ini dan di prediksi akan semakin meningkat pada masa yang akan datang karena melalui penggunaannya, energi dapat dihemat dan ramah lingkungan. Saat ini penggunaan enzim dalam industri makanan dan minuman, industri tekstil, industri kulit dan kertas di Indonesia semakin meningkat (Santoso dkk., 2010). Pada industri, reaksi suhu tinggi sangat diminati karena dapat meminimalkan resiko kontaminasi, meningkatkan laju transfer massa, dan dapat menggeser kesetimbangan kearah pembentukan produk. Oleh karena itu, aplikasi enzim didalam industri bioteknologi semakin menuntut enzim yang bersifat tahan terhadap lingkungan ekstrem. Karena faktor utama yang dapat merusak enzim adalah suhu maka diperlukan suatu enzim yang bersifat termostabil.

Meskipun untuk produksi skala kecil, enzim biasa dapat digunakan, namun dengan menggunakan enzim termostabil kekhawatiran bahwa enzim dapat terdenaturasi pada suhu tinggi selama proses produksi dapat teratasi. Mikroorganisme termofilik dapat menjadi pilihan yang baik sebagai sumber enzim termostabil. Mikroorganisme termofilik mampu hidup secara optimal di atas suhu 40°C karena banyaknya asam amino dengan atom sulfur yang disebut sistein pada protein tersebut mampu membentuk ikatan disulfida. Campbell (2010) dan Ngili (2009) menyatakan bahwa enzim yang memiliki ikatan disulfida dalam jumlah besar akan meningkatkan kemampuan enzim tersebut mempertahankan konformasi dan aktivitas katalitiknya pada suhu lingkungan yang sangat tinggi. Tidak banyak tempat dimuka bumi yang mampu menyediakan habitat bagi bakteri termofilik. Beberapa diantaranya adalah sumber air panas, kawah gunung berapi dan celah hidrotermal kedalaman laut.

Di kabupaten Kerinci, Provinsi Jambi terdapat beberapa sumber mata air panas, salah satunya adalah sumber mata air panas Sungai Tutung. Belum pernah ada penelitian yang dilakukan di kawasan sumber air panas ini sehingga diperlukan penelitian untuk mengisolasi bakteri termofilik penghasil enzim termostabil pada air panas Sungai Tutung. Ditemukan bakteri termofilik yang berpotensi sebagai penghasil enzim termostabil diharapkan dapat meningkatkan potensi daerah Sungai Tutung Kabupaten Kerinci Provinsi Jambi dan dapat menjadi salah satu sumber air panas yang menjadi habitat bakteri termofilik penghasil enzim termostabil.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Medium nutrient agar, Kristal violet, Garam iodine, Aseton, Etanol 95%, Larutan Safranin, Larutan pati 1% (v/v), Larutan NaOH, Susu skim, Larutan HCl, Larutan hydrogen peroksida.

Peralatan yang digunakan antara lain: Botol sampel, Kotak pendingin, Kertas pH, pH meter, Termometer, Jarum ose, Batang L, Cawan petri, Pipet tetes, Tabung reaksi, Erlenmeyer, Rak tabung reaksi, Inkubator, Mikroskop, Kertas saring, Bunsen, *Water bath*.

### **Pengambilan Sampel**

Sampel air panas diambil dari sumber mata air panas sungai tutung, kabupaten Kerinci, masing-masing pada titik yang berbeda. Sebelum sampel air diambil, terlebih dahulu dilakukan pengukuran parameter fisika dan kimia di lapangan kerja. Selanjutnya sampel air di bawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi, untuk dilakukan isolasi.

### **Isolasi Bakteri Termofilik**

Bakteri yang terdapat pada sampel air panas diinokulasi pada media NA (ekstrak yeast 5 g, tripton 5 g, NaCl 5 g, tepung agar 5 g dalam 1 liter aquadest). Dilakukan pengenceran terhadap sampel air hingga konsentrasi menjadi  $10^{-2}$ . Kemudian sampel diinokulasi dengan metode agar tuang, diambil sebanyak 1 ml untuk diinokulasi pada media NA dalam cawan petri secara aseptik kemudian diinkubasi pada suhu  $55^{\circ}\text{C}$  di dalam inkubator selama 2 x 24 jam. Selanjutnya, dilakukan proses Pemurnian, Karakterisasi dan uji potensi.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada Penelitian ini, sampel yang digunakan berasal dari sumber air panas Sungai Tutung Kabupaten Kerinci yang memiliki suhu  $65^{\circ}\text{C}$  sampai  $70^{\circ}\text{C}$  dengan pH 8, tidak berwarna, berbau belerang, terdapat banyak pepohonan sehingga substrat yang

diperlukan oleh mikroba yang berada disana cukup banyak. Bakteri akan memanfaatkan senyawa anorganik seperti H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>, atau H<sub>2</sub>S sebagai donor elektron untuk mereduksi CO<sub>2</sub> menjadi komponen karbon sebagai sumber energi.

Bakteri yang dapat hidup pada suhu diatas 40°C merupakan jenis bakteri termofilik. Bakteri termofilik adalah bakteri yang dapat hidup pada suhu antara 40-70°C. Pada suhu diatas 50°C, oksigen masih dapat terlarut dengan baik sehingga kemungkinan besar bakteri di dalamnya merupakan bakteri aerob (Edwards, 1990).

Sari (2012) menyatakan sumber air panas yang bersifat basa memiliki kandungan mineral yang tinggi yang memungkinkan mikroorganisme termofilik untuk bertahan hidup. Ketahanan mikroba pada suhu yang tinggi disebabkan karena bakteri termofilik memiliki struktur protein yang berbedadari mikroba mesofil sehingga mampu bertahan pada suhu yang ekstrim. Keberadaankomponen biotik mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme termofilik. Dirnawan dkk (2000) melaporkan bahwa dedaunan yang gugur, ranting dahan, bijirerumpunan, serbuk sari, dan bangkai serangga yang terdapat disekitar sumber air panas merupakan bahan organik yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme yang hidup dalam sumber air panas tersebut.

Sampel kemudian ditumbuhkan pada media padat NAdan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 55°C. Setelah dilakukan isolasi maka diperoleh 3 isolat bakteri.



**Gambar 1.** 3 Isolat yang diperoleh

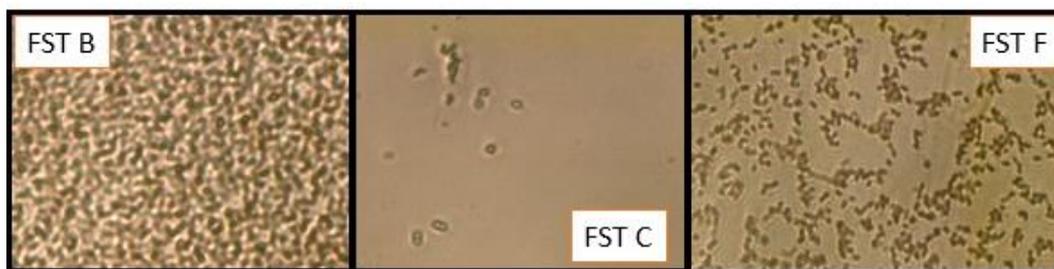
**Karakteristik Bakteri**

Isolat bakteri selanjutnya dikarakterisasi yang meliputi Bentuk, Ukuran, Warna, Permukaan, Tepi dan Pewarnaan gram. Hasil dari karakterisasi bakteri termofilik dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Karakteristik bakteri termofilik

Kode isolate	Morfologi					Pewarnaan gram	
	Bentuk	Ukuran	Warna	Permukaan	Tepi	Gram	Bentuk sel
FST B	Bulat	Sedang	Kuning	Cembung	Utuh	Negatif	Basil
FST C	Bulat	Sedang	Kuning	Cembung	Utuh	Negatif	Basil
FST F	Bulat	Sedang	Kuning	Cembung	Utuh	Negatif	Basil

Dari tabel di atas dapat dilihat bahwa ketiga isolat memiliki karakteristik dengan bentuk bulat, ukuran sedang, warna kuning, permukaan cembung, dan tepi utuh.



**Gambar 2.** Hasil pewarnaan gram bakteri

Hasil pewarnaan Gram untuk isolat B, C dan D menunjukkan bentuk sel batang (basil) berwarna merah. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa isolat merupakan bakteri Gram negatif.

Dari hasil diatas dapat dilihat bahwa bakteri termofilik yang diperoleh memiliki karakteristik yang sama. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diperoleh merupakan satu spesies, Walaupun untuk memastikan hal tersebut masih perlu dilakukan tahap uji fisiologi dan molekuler hingga dapat diketahui spesies dari bakteri tersebut.

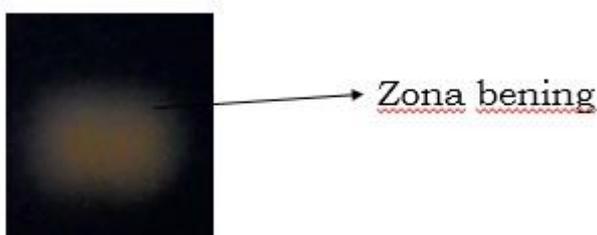
#### **Uji Potensi Bakteri Termofilik sebagai Penghasil Enzim Termostabil**

Uji potensi yang diujikan pada penelitian ini adalah uji bakteri termofilik sebagai penghasil enzim Amylase, protease dan katalase. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Uji potensi bakteri termofilik sebagai penghasil enzim termostabil

Kode isolat	Amylase	Protease	Katalase
FST B	+	-	+
FST C	+	-	+
FST F	+	-	+

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa bakteri termofilik yang diperoleh pada penelitian ini dapat menghasilkan enzim amilase dan katalase.



**Gambar 3.** Zona bening pada uji amilase

Dari gambar 3 terlihat bahwa uji dikatakan positif sebagai penghasil amilase apabila isolat membentuk zona bening setelah dilakukan penetesan iodine pada medium agar pati. Daerah di luar zona bening terlihat berwarna biru tua setelah diberi larutan iodine. Terbentuknya warna biru tua akibat adanya reaksi antara larutan iodine dengan pati yang tidak dihidrolisis. Zona bening tidak ikut terwarnai oleh larutan iodine karena pada zona tersebut pati sudah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana

seperti disakarida atau monosakarida. Dalam hal ini, pati dimanfaatkan sebagai sumber karbon untuk sumber energi bagi bakteri termofilik, dan hasil perombakan pati akibat aktivitas amilase ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling bakteri termofilik.

Pada uji katalase, uji dikatakan positif apabila terdapat gelembung udara pada kaca objek. Gelembung udara yang muncul adalah gelembung oksigen, berdasarkan reaksi:



Katalase merupakan enzim yang mengkatalisapenguraian hidrogen peroksida menjadi  $\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{O}_2$ . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994).

Dari penjabaran diatas dapat dilihat bahwa sumber di air panas Sungai Tutung Kabupaten Kerinci terdapat bakteri termofilik yang sangat berpotensi untuk dikembangkan dalam menghasilkan enzim termostabil, yang mana nantinya dapat diaplikasikan dalam bidang bioteknologi ataupun industri.

## **KESIMPULAN**

1. Bakteri yang diperoleh dari sumber air panas Sungai Tutung merupakan bakteri termofilik yang dapat hidup pada suhu  $55^\circ\text{C}$ .
2. Bakteri termofilik yang diperoleh memiliki karakteristik dengan bentuk bulat, ukuran sedang, warna kuning, permukaan cembung, tepi utuh dan gram negatif dengan bentuk basil.
3. Bakteri termofilik berpotensi dalam menghasilkan enzim amilase dan katalase termostabil.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas bantuan dana untuk penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa tahun anggaran 2016.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Campbell. 2010. *Biologi Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Dirnawan, H., A. Suwanto. T. Purwaria. 2000. Eksplorasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Hidrolitik Ekstraseluler dari Sumber Air Panas Gunung Pancar. *Jurnal Hayati*. Vol. 7 (2): 52-55.
- Edwards, C. 1990. *Microbiology of Extreme Environment*. Open University pr. Buckingham.
- Lay, W.B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Ngili, Y. 2009. *Biokimia Struktur dan Fungsi Biomolekul*. Graha Ilmu. Yogyakarta.

- Santoso, A.T., I. Kemala. R. Silaba. 2010. *Studi Persepsi Masyarakat terhadap Peran Enzim dalam Pembuatan Susu Terfermentasi*. Universitas Medan Press. Medan.
- Sari, U. M. 2012. *Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik Sumber Air Panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi*. Universitas Andalas. Padang.