

Isolasi dan Penapisan Bakteri Termofilik Pemecah Amilum dan Protein dari Sumber Air Panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan

Isolation and Screening of Amylolytic and Proteolytic Thermophilic Bacteria from Way Panas Hot Spring, Kalianda, South Lampung

Laras Mahestri^{1*}, Esti Harpeni¹, Agus Setyawan¹

¹Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

*email: larasmahestri29@gmail.com

Abstrak

Diterima
31 Agustus 2021

Disetujui
27 September 2021

Telah dilakukan pengamatan aktivitas amilolitik dan proteolitik dari bakteri termofilik dari sumber air panas Way Panas, Kalianda, Lampung Selatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menapisan bakteri termofilik penghasil enzim amilase dan protease serta potensinya di perikanan. Sebanyak 8 isolat bakteri diuji dari sumber air panas air panas Way Panas, Kalianda. Masing-masing dikultur pada media selektif untuk produksi amilase dan protease. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 4 isolat bakteri mampu menghidrolisis pati (A.WP.50.1, A.WP.50.1, A.WP.50.3, dan A.WP.50.4) dan tidak ada isolat bakteri yang memiliki aktivitas hidrolisis terhadap protein. Aktivitas amilolitik tertinggi didapat oleh isolat bakteri A.WP.50.4. Berdasarkan fenotipe, uji biokimia, dan sekuensing 16S rDNA, isolat bakteri A.WP.50.4 memiliki kemiripan yang tinggi dan teridentifikasi sebagai *Bacillus cereus*.

Kata kunci: Bakteri termofilik, isolasi, enzim amilase, hidrolisis, *Bacillus cereus*

Abstract

Amylolytic and proteolytic activity from thermophilic bacteria have been observed from the Way Panas hot springs, Kalianda, South Lampung. This study aims to isolate and screen amylase and protease enzyme-producing thermophilic bacteria and their potential in fisheries. A total of 8 bacterial isolates were examined from the Way Panas hot spring, Kalianda. Each was cultured on selective medium for amylase and protease production. The results showed that 4 bacterial isolates were able to hydrolyze starch (A.WP.50.1, A.WP.50.1, A.WP.50.3, and A.WP.50.4) were able hydrolyze starch and no bacterial isolates had hydrolysis activity against protein. The highest activity of amylolytic was achieved by A.WP.50.4 bacteria isolate. Based on the phenotype, biochemistry assay, and 16s rDNA sequencing, the A.WP.50.4 bacteria isolate have high similarity and identified as *Bacillus cereus*.

Keyword: Thermophilic bacteria, isolation, amylase enzyme, hydrolysis, *Bacillus cereus*

1. Pendahuluan

Salah satu provinsi di Pulau Sumatera yang banyak ditemui sumber air panas yaitu Provinsi Lampung. Beberapa gunung aktif ditemui di Lampung dan diantaranya dapat ditemukan sumber mata air panas alami, seperti mata air panas Way Belerang yang berada dekat dengan Gunung Berapi Rajabasa. Selain itu juga didekat dekat gunung Rajabasa dapat ditemukan sumber air panas di pantai seperti sumber air panas Way Panas. Ketika air laut surut memudahkan akses menuju sumber air panas di Way Panas. Walaupun berada di pantai akan tetapi air yang keluar dari celah bebatuan merupakan air tawar. Sumber air panas merupakan media pertumbuhan yang cocok bagi bakteri termofilik. Bakteri termofilik merupakan kelompok bakteri yang memiliki kondisi pertumbuhan optimum pada suhu tinggi (Nam, 2004). Bakteri termofilik dapat ditemukan pada berbagai tempat di alam, seperti di sumber-sumber air panas, daerah aktifitas gunung berapi, maupun di dasar laut yang memiliki sumber mata air panas (Sianturi, 2008).

Bakteri termofilik merupakan mikroba yang potensial memproduksi enzim yang stabil terhadap panas. Bakteri termofilik adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu tinggi berkisar antara 45-70 °C. Bakteri ini sebagian besar tumbuh dan hidup pada daerah bersuhu tinggi, seperti sumber air panas, kawah gunung berapi, dan tempat pengomposan. Keuntungan dari bakteri ini adalah memiliki protein yang dapat bekerja pada kondisi lingkungan dengan suhu tinggi dimana protein/enzim lain dapat mengalami denaturasi (Sugiyono *et al.*, 2004). Brock (1986) berpendapat bahwa terdapat 3 faktor yang dapat menyebabkan bakteri termofilik mampu hidup pada suhu tinggi yaitu, memiliki kandungan enzim dan protein yang stabil terhadap panas, memiliki membran termostabil yang akan memproduksi lemak dimana lemak tersebut memiliki titik cair yang lebih tinggi apabila temperatur lingkungannya naik, dan yang terakhir yaitu mampu mensintesis molekul stabil, seperti enzim yang mampu mengkatalis reaksi biokimia pada suhu tinggi serta lebih stabil dibandingkan pada enzim yang berasal dari bakteri mesofilik.

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang baik dalam memproduksi enzim termostabil, dimana enzim tersebut tahan terhadap suhu tinggi. Keuntungan dari dilakukannya isolasi enzim termostabil pada industri pakan ikan yang pada umumnya menggunakan suhu tinggi yaitu, meningkatkan kecepatan reaksi, mengurangi kemungkinan kontaminasi, lebih stabil pada penyimpanan yang lebih lama. Beberapa keuntungan ini membuat enzim amilase termostabil menjadi menguntungkan untuk dikembangkan secara lebih lanjut.

2. Bahan dan Metode

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-April 2020. Dilaksanakan di 2 tempat, pengambilan sampel dilaksanakan di Sumber Air Panas Way Panas yang terletak di Jl. Pratu M Amin, Lingkungan V Kalianda Bawah, Lampung Selatan, isolasi dan *screening* bakteri termofilik penghasil enzim amilase dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, sampel air panas dari sumber air panas Way Panas, media NA Oxoid, *Agar powder bacteriological*, aquades, spritus, larutan iodine, kristal violet, lugol, larutan safranin, larutan H₂O₂, *methyl red*, parafin cair, *yeast ekstrak agar*, pepton, MgSO₄.7H₂O, NaCl, CaCl₂.2H₂O, Pati, susu skim, alkohol.

2.3. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi dan eksperimen yaitu dengan cara mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Way Panas, Kalianda Lampung Selatan

2.4. Prosedur Penelitian

2.4.1. Pengambilan Sampel

Sampel diambil menggunakan botol pada titik pertama di lokasi sumber air panas sebanyak 100 mL pada kedalaman 25 cm dan dimasukkan kedalam termos air panas agar suhunya terjaga kemudian ditutup rapat dan diberi label.

2.4.2. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Amilase dan Protease

Isolasi bakteri dilakukan dengan cara menuangkan medium NA yang telah steril ke dalam cawan petri steril. Setelah medium padat sebanyak 0,1 mL sampel air panas diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian disebar dengan *drill glass* pada permukaan agar, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 dan 50°C. Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil satu ose tiap koloni bakteri yang tumbuh berbeda pada medium NA sebelumnya dan diinokulasikan dengan ose ke tiap cawan petri lain yang pada medium NA.

Isolat diinokulasi pada medium selektif bakteri penghasil amilase dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 dan 50 °C. Isolat bakteri yang tumbuh pada pati selanjutnya ditetesi dengan larutan iodine untuk menyeleksi bakteri yang menghasilkan amilase. Isolat yang menghasilkan amilase ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri. Diameter zona bening bakteri yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong. Isolat diinokulasi pada medium selektif bakteri penghasil protease dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 dan 50 °C. Indikasi isolat bakteri yang menghasilkan protease dan mampu mendegradasi protein (kasein) dengan baik ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Selanjutnya zona bening diukur diameternya untuk menentukan indeks proteolitik dari masing-masing isolat tersebut.

2.4.3. Pemurnian Isolat Bakteri Terpilih

Pada tahap pemurnian dimulai dengan memilih koloni-koloni yang berbeda sehingga didapatkan koloni tunggal (isolat murni). Mensterilkan jarum ose bulat, lalu disentuhkan pada permukaan koloni bakteri kemudian diinokulasikan pada permukaan medium NA dengan metode gores untuk mendapatkan koloni yang terpisah, ini dilakukan beberapa kali sehingga didapatkan koloni yang benar-benar murni. Diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 48 jam (Hardiningsih, 2006). Dikarenakan sampel merupakan bakteri yang berasal dari air panas maka sampel tersebut diinkubasi pada suhu 50 °C dan 37°C.

2.4.4. Identifikasi Isolat Bakteri

a) Identifikasi Morfologi

Karakteristik bakteri secara morfologi dapat diamati menggunakan mata telanjang (makroskopis). Identifikasi karakteristik dari koloni bakteri meliputi: bentuk koloni, motilitas, pertumbuhan pada media miring (Susanti *et al.*, 2014).

b) Uji Pewarnaan Gram

Pengamatan morfologi koloni dilakukan dengan teknik Pewarnaan Gram. Pertama-tama ulasan bakteri dibuat pada gelas objek dan dilakukan fiksasi. Sebanyak 2-3 tetes gram A (kristal violet) ditetaskan pada koloni bakteri, diamkan selama 60 detik. Kemudian preparat dicuci dengan menggunakan air mengalir lalu dikeringanginkan. Sebanyak 2-3 tetes gram B (larutan lugol) ditetaskan di atas preparat dan dibiarkan selama 60 detik. Preparat dicuci dengan air mengalir kemudian dikering anginkan. Preparat kemudian ditetesi 2-3 tetes larutan alkohol-aseton dan dibiarkan selama 60 detik selanjutnya dicuci kembali dan dikeringanginkan. Preparat ditetesi dengan larutan safranin sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 60 detik, kemudian dicuci dan dikeringanginkan. Setelah itu diamati di bawah mikroskop.

c) Uji Katalase

Uji Katalase digunakan untuk memecah hidrogen peroksida yang terbentuk dari proses respirasi aerob dan bersifat toksik terhadap bakteri, menjadi dihidrogen oksida (H_2O) dan oksigen (O_2). Uji Katalase dilakukan dengan meneteskan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% pada gelas obyek yang bersih. Biakan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hidrogen peroksida. Suspensi dicampur secara perlahan, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung udara.

d) Uji MIO

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri untuk bergerak (Cowan dan Steel, 1974). Isolat diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasi pada media SIM tegak dengan cara ditusuk, kemudian diinkubasi pada suhu 37 dan 50 °C selama 48 jam. Apabila terdapat tanda rambatan-rambatan pada sekitar tusukan jarum ose dalam media maka hasilnya positif (motil). Apabila tidak ada tanda rambatan-rambatan maka hasilnya negatif (non motil).

e) Uji O/F

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme untuk menggunakan karbohidrat dengan cara fermentasi atau oksidasi (Cowan dan Steel, 1974). Dua medium O/F dalam tabung reaksi disediakan selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri ke medium. Pada medium yang telah diinokulasikan bakteri ditambahkan parafin cair steril setebal 1 cm pada salah satu tabung reaksi. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 18-24 jam. Pengamatan dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi dalam medium. Bakteri bersifat fermentatif jika kedua medium yang diinokulasi berubah warna menjadi kuning. Bakteri bersifat oksidatif jika tabung terbuka berwarna kuning, sedangkan yang ditutup parafin warnanya tetap.

f) Identifikasi Bakteri Secara Molekuler

Identifikasi bakteri secara molekuler dilakukan dengan cara mengirim sampel isolat terpilih penghasil enzim amilase ke PT. INDOLAB UTAMA Cengkareng- Jakarta Barat. Identifikasi molekuler bakteri menggunakan teknik sekuensing dengan melakukan perbandingan dengan database nukleotida menggunakan program *Basic local Alignment Search Tool* (BLAST) secara online melalui situs www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/. Hasil analisis

molekuler menunjukkan nama spesies bakteri dan tingkat kesamaan urutan nukleotida dari rRNA isolat dengan urutan nukleotida dari spesies bakteri yang sesuai dalam database *Gene Bank*

2.5. Analisis Data

Data yang dihasilkan dari pengamatan morfologi dan biokimiawi dijelaskan secara deskriptif. Analisis data sekuensing 16S rDNA dilakukan dengan mencocokkan dengan data di *Gene Bank* www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ yang akan menunjukkan kekerabatan spesies tersebut secara genetik (*Phylogenetic Tree*).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Kualitas Air

Berdasarkan hasil penelitian, suhu air di Sumber air panas Way Panas berkisar antara 55-65°C, salinitas 0 ppt, dengan tingkat derajat keasaman sebesar 5,5 (Gambar 1).



Gambar 1. pH air di sumber air panas Way Panas

Berdasarkan hasil penelitian di atas, pengambilan sampel air panas dilakukan di sumber air panas Way Panas yang terletak di Jl. Pratu M Amin, Lingkungan V Kalianda Bawah, Lampung Selatan suhu air panas di sumber air tersebut berkisar antara 55-65 °C dengan pH air sebesar 5,5. Hidayat (2006) mengemukakan bahwa mikroorganisme termofil dapat hidup di wilayah dengan rentang suhu 40-75 °C dengan suhu optimumnya 55-60 °C. Hassan *et al.* (2011) yang melakukan penelitian serupa terhadap bakteri *Bacillus* yang berasal dari sumber air panas Karachi Pakistan, dengan memiliki kondisi optimum untuk menghasilkan enzim α -amilase yaitu pada suhu 80 °C dengan pH 5.

3.2. Isolasi Bakteri Termofilik

Pelaksanaan penelitian ini menggunakan 2 perlakuan yaitu isolasi pada suhu 37 dan 50 °C dengan 3 kali ulangan. Tabel hasil dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Jumlah Isolat Bakteri

No.	Sampel	Jumlah Isolat
1.	WP.37.1	5 Isolat
2.	WP.37.2	11 Isolat
3.	WP.37.3	9 Isolat
4.	WP.37.4	6 Isolat
5.	WP.50.1	8 Isolat
6.	WP.50.2	4 Isolat
7.	WP.50.3	7 Isolat
8.	WP.50.4	4 Isolat
Total		54 Isolat

3.3. Seleksi Isolat Penghasil Enzim Amilase

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 4 isolat yang dapat menghasilkan enzim amilase yang berasal dari isolat yang diinkubasi pada suhu 50 °C. isolat A.WP.50.4 merupakan isolat dengan diameter zona hambat dan diameter koloni terbesar (Gambar. 2) Data jumlah isolat yang dapat memecah pati dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Ukuran zona hambat isolat A.WP.50.4

Tabel 2. Isolasi bakteri penghasil enzim amilase

No.	Isolat	Diameter Koloni	Diameter Zona Hambat
1.	A.WP.37.1	-	-
2.	A.WP.37.2	-	-
3.	A.WP.37.3	-	-
4.	A.WP.37.4	-	-
5.	A.WP.50.1	5,39 mm	10,34 mm
6.	A.WP.50.2	5,26 mm	9,74 mm
7.	A.WP.50.3	5,63 mm	9,10 mm
8.	A.WP.50.4	6,96 mm	11,83 mm

Berdasarkan data diatas, Isolat mampu menghasilkan zona hambat dimana hal tersebut merupakan indikasi dari isolat tersebut mampu menghasilkan enzim amilase, amilase termostabil memiliki aplikasi komersil dalam proses perombakan pati, makanan dan produksi gula (Leveque *et al.*, 2000). Produksi amilase yang bersifat termostabil berasal dari mikroorganisme termofilik, keuntungan dari penggunaan mikroorganisme termofilik yaitu untuk memperoleh enzim amilase dengan karakteristik protein yang tahan panas.

3.4. Identifikasi Morfologi, Biokimia dan Molekuler Isolat Bakteri

Isolat bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase diidentifikasi secara konvensional dengan mengacu pada Cowan and Steels “*Manual for the Identification of medical Bacteria*” (1974). Isolat yang berasal dari sampel A.WP.50.4 merupakan isolat dengan zona hambat terbesar yang dapat menghasilkan enzim amilase diidentifikasi sebagai genus *Bacillus* karena memiliki koloni berbentuk filamentous, motil (dapat bergerak), bersifat Oksidatif dan hasil uji katalase positif (Tabel 3 dan Gambar. 3)

Tabel 3. Identifikasi Morfologi dan Biokimia Isolat A.WP.50.4

No.	Karakteristik	A.WP.50.4	<i>Bacillus</i>
1.	Bentuk Koloni	Filamentous	Filamentous
2.	Gram	Positif	Positif
3.	Motilitas	Motil	Motil
4.	Katalase	Positif	Positif
5.	Oksidatif/Fermentatif	Oksidatif	Oksidatif



Gambar 3. Hasil identifikasi biokimia

Keterangan : a. Uji pewarnaan gram, b. Uji MIO, c. Uji Katalase

Berdasarkan Tabel 3. Isolat A.WP.50.4 memiliki bentuk koloni filamentous, dimana koloni tersebut memiliki bentuk yang tipis dan menyebar, isolat A.WP.50.4 merupakan bakteri gram positif ditandai dengan hasil pewarnaan gram menjadi biru keunguan, bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal. Pada bakteri gram positif tidak memiliki struktur sel peptidoglikan yang tebal akan tetapi pada bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang banyak mengandung lipid (Devita, 2016). Hasil uji katalase positif ditandai adanya gelembung udara pada isolat A.WP.50.4, hal tersebut dikarenakan hidrogen peroksida mampu terdekomposisi oleh enzim katalase yang diperoleh dari mikroorganisme (Suhartanti *et al.*, 2010). Hidrogen Peroksida (H_2O_2) memiliki sifat toksis terhadap sel bakteri, hal ini dikarenakan hidrogen peroksida dapat menonaktifkan enzim dalam sel dan berbahaya bagi organisme tersebut. Uji katalase perlu dilaksanakan untuk mengetahui bagaimana sifat dari bakteri terhadap kebutuhan oksigen (Yulvizar, 2013). Uji MIO dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam melakukan pergerakan (Motilitas). Isolat A.WP.50.4 bersifat motil, hal tersebut ditandai adanya warna keruh pada sekitar tusukan dan tumbuh menyebar. Pergerakan suatu bakteri dapat terjadi karena bakteri tersebut memiliki *flagella* (alat gerak) yang merupakan struktur utama diluar sel (Dwijoseputro, 2010). Berdasarkan hasil diatas, isolat A.WP.50.4 diidentifikasi sebagai genus *Bacillus* karena memiliki koloni berbentuk filamentous, motil (dapat bergerak), bersifat Oksidatif dan hasil uji katalase positif (Maudy *et al.*, 2019).

Identifikasi secara molekuler dilakukan pada isolat bakteri yang dapat menghasilkan zona hambat terbesar yaitu isolat A.WP.50.4, identifikasi molekuler dilakukan dengan cara mengirim sampel bakteri terpilih ke PT.

INDOLAB UTAMA. Hasil analisa PCR-16S rDNA isolat yang diperoleh dengan kode A.WP.50.4 berupa sekuens nukleotida dalam format FASTA (Gambar 4).

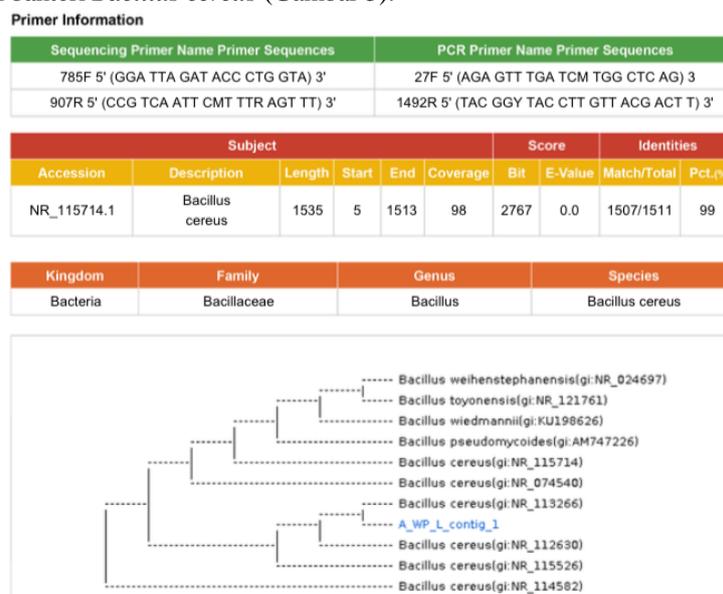
```

1   AAACGG TCGCGT CTCCCA GCGGGA GTGCTT AATGCG TTAACT TCAGCA
61  AACCGT CTAACA CTTAGC ACTCAT CGTTTA CGGCGT GGACTA CCAGGG
121 TTTGCT CCCCAC GCTTTC GCGCCT CAGTGT CAGTTA CAGACC AGAAAG
181 CTGGTG TTCCTC CATATC TCTACG CATTTC ACCGCT ACACAT GGAATT
241 TCTGCA CTCAAG TCTCCC AGTTTC CAATGA CCCTCC ACGGTT GAGCCG
301 TCAGAC TTAAGA AACCCAC CTGCGC GCGCTT TACGCC CAATAA TTCGGG
361 ACCTAC GTATTA CCGCGG CTGCTG GCACGT AGTTAG CCGTGG CTTTCT
421 TCAAGG TGCCAG CTTATT CAACTA GCACTT GTTCTT CCCTAA CAACAG
481 CGAAAG CGAAAG CCTTCA TCACTC ACGCGG CGTTGC TCCGTC AACTCT
541 GAAGAT TCCCTA CTGCTG CCTCCC GTAGGA GTCTGG GCCGTG TCTCAG
601 CGATCA CCCTCT CAGGTC GGCTAC GCATCG TTGCC TGGTGA GCCGTT
661 AGCTAA TGCGAC GCGGGT CCATCC ATAAGT GACAGC CGAAGC CGCCTT
721 GTTCAA AATGTT ATCCGG TATTAG CCCCAG TCGAAC TTTCCC GGAGTT
781 TGGGCA GGTTAC CCACGT GTTACT CACCCG TCCGCC GCTAAC TTCATA
841 TAATCC ATTCGC TCGACT TGCATG TATTAG GCACGC CGCCAG CGTTCA
901 AATCAA ACTATA AAATCT TGTTTT CTCTCC CTTTCC TTTCTT TTTTCC
961 TTCTTT CTCTCT TTTTCT TTTGTT TTCTCT CTTTTT TCTTGT TTTGTT
1021 TGTTTG TTGCTT TTTTTT TTTTGT TTTTGT TTCGCT CCCTTG TTTTGG
1081 TGTGCT CTCGCT TTTGTT CTTTTT TTCTCT GTTGTG CTTGCC TGTTTT
1141 TGCTTT CGTTGT TTTGTC TCGTCG TGCCGT CTTCTC GTCTCT CGGGTC
1201 GTCTGG CTTTGC GGTGTT CTCTCT GTGTTT TCTCGG TGGTGT GTTCGT
1261 TCTTTT TCGCTG CGCTTT CTCTTC TTGTTG CTTTGT GGCTGC GCGCTC
1321 TGGTTT TTGTTG CGTTCG TCTTTG TTCTCT CTTTGT TTTTGT TTTTCT
1381 TTGTTT TCTTTT CTCTTT GTGGTT GTGTTT TTCGTG TCTGTT GTTTTG
1441 GTTGTG TTGTTT GTGTTT TTGTTT TTGTTG TCGGTT TCTGCG TCACCG
1501 TGTGTC TGGTGT GGCCGT CTGTTG TCTTGG CTGGGC CGTGCC GTCTTT
1561 CTCTCT TTGCTC TTTTGC CCGTTG TCTCGT GTTGTC GT
    
```

Gambar 4. Sekuens 16S rDNA isolat Bakteri dalam Format FASTA

Format FASTA memuat sebuah baris definisi dan karakter dari sekuens yang dapat digunakan sebagai input bagi sebuah variasi dari program-program analisis. Hal inilah yang dimanfaatkan untuk memperoleh informasi jenis mikroba yang memiliki tingkat kesamaan tertinggi dengan sampel mikroba melalui input format FASTA tersebut sebagai *query* dalam BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) pada GenBank NCBI. Selain itu, sekuens dalam format FASTA tersebut juga akan memudahkan pemindahan text antar-platform penyunting sekuens DNA ke pencari sekuens database GenBank pada NCBI.

Berdasarkan hasil uji molekuler yang telah dilakukan di PT. INDOLAB UTAMA, hasil analisis BLAST Menunjukkan nama bakteri dan tingkat kesamaan urutan nukleotida dari rDNA isolate dengan urutan nukleotida dari spesies bakteri yang sesuai dalam database GeneBank. Berdasarkan hasil analisis BLAST yang diperoleh, isolat A.WP.50.4 memiliki nilai skor sebesar 2767 dengan match/total sebesar 1507/1511 dengan presentase 99% yang merupakan bakteri *Bacillus cereus* (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil Analisis 16S rDNA dan Pohon Filogenetik

Pelaksanaan identifikasi bakteri secara molekuler yang dilakukan di PT. INDOLAB UTAMA diketahui bahwa isolat bakteri A.WP.50.4 merupakan spesies bakteri *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* yang diperoleh dari

sumber air panas Way Panas berasal dari isolat A.WP.50.4, maka bakteri tersebut diberi nama *Bacillus cereus*.WP. 50.4. Klasifikasi bakteri *Bacillus cereus* menurut Todar (2008) adalah sebagai berikut: Kingdom Bakteria, Divisi Firmicutes, Kelas Bacilli, Ordo Bacillales, Family Bacillaceae, Genus Bacillus, Spesies *Bacillus cereus*

Pada umumnya bakteri *Bacillus cereus* berbentuk batang, yang merupakan bakteri Gram positif (Bottone, 2010). *Bacillus cereus* memiliki flagel peritrikus. Organisme ini dapat bertahan hidup dalam berbagai suhu yaitu 10-50°C. Beberapa jenis bakteri dari genus *Bacillus* mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. *Bacillus cereus* membentuk endospora, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik serta bersifat katalase positif (Pelczar *et al.*, 1976). Ernawati (2015) telah melakukan penelitian tentang bakteri potensial probiotik dari ikan gurami (*Ospironemus gouramy*) dalam menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Dalam penelitian tersebut, bakteri *Bacillus cereus* yang diaplikasikan dalam bentuk probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Feliatra (2012) mengatakan bahwa bakteri *Bacillus cereus* memberikan respon positif yaitu terbentuknya hambatan pada pertumbuhan bakteri *Aeromonas* sp. dan *vibrio* sp. respon terlihat dengan terbentuknya zona yang terputus oleh adanya pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*.

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang dapat hidup di habitat dengan suhu tinggi, dimana bakteri termofilik tersebut merupakan bakteri penghasil enzim termostabil. Enzim termostabil memiliki kelebihan diantaranya yaitu, stabil selama proses penyimpanan, reaksi berangsung pada suhu tinggi sehingga mengurangi kontaminasi oleh bakteri mesofilik, tahan terhadap pelarut dan senyawa denaturan, pada suhu tinggi proses fermentasi menjadi lebih cepat dikarenakan reaksi enzim termostabil akan meingkat (Leveque *et al.*, 2000). Dalam bidang perikanan pembuatan pakan melalui proses pemanasan sehingga apabila penambahan enzim dilakukan saat proses pembuatan pakan ikan maka enzim tersebut dapat mengalami denaturasi. Sehingga saat ini penambahan enzim pada pakan ikan hanya dapat diaplikasikan menggunakan teknik spray atau *re-pelleting* sehingga tidak memerlukan proses pemanasan pada suhu tinggi. Berbeda dengan enzim yang dihasilkan dari bakteri termofilik, enzim tersebut tahan terhadap suhu tinggi sehingga dipercaya bahwa enzim termostabil tersebut tidak terdenaturasi ketika dilakukan penambahan enzim saat pembuatan pakan ikan akan tetapi penelitian tentang manfaat dari penambahan enzim termostabil yang berasal dari bakteri *Bacillus cereus*. WP.50.4 belum pernah dilakukan sehingga manfaatnya belum dapat diketahui dengan pasti.

Teknologi fermentasi telah berkembang dengan pesat. Berbagai mikroorganisme baik telah dikembangkan sehingga dapat digunakan langsung oleh petani. Penambahan bakteri *Bacillus cereus* belum pernah dilakukan, akan tetapi untuk bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* sudah pernah dilakukan. *Bacillus amyloliquefaciens*, merupakan mikroorganisme yang dapat meningkatkan kandungan asam amino pada bahan yang difermentasi. Manfaat dari produk fermentasi telah dilaporkan dapat meningkatkan kandungan protein (Guntoro, 2008). Produk fermentasi dapat meningkatkan kandungan protein dari bahan yang berasal dari biomassa. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, bakteri *Bacillus cereus*.WP.50.4 mampu menghasilkan enzim amilase, amilase termostabil memiliki aplikasi komersil dalam proses perombakan pati, makanan dan produksi gula (Leveque *et al.* 2000). Produksi amilase yang bersifat termostabil berasal dari mikroorganisme termofilik, keuntungan dari penggunaan mikroorganisme termofilik yaitu untuk memperoleh enzim amilase dengan karakteristik protein yang tahan panas. Sankar *et al* (2014) mengatakan bahwa penambahan enzim amilase ke dalam pakan ikan dalam bentuk produk fermentasi dapat meningkatkan kemampuan ikan dalam mencerna dan memanfaatkan nutrisi pakan. Bakteri *Bacillus cereus*. WP.50.4 dipercaya dapat memfermentasi karbohidrat (glukosa dan manosa). Penambahan enzim amilase dalam pakan dapat membantu dapat mempercepat proses pencernaan sehingga nutrisi dapat mencukupi untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan, oleh karena itu manfaat bakteri termofilik penghasil enzim amilase seperti penambahan enzim maupun probiotik pada pakan ikan menjadi penting untuk dikaji lebih lanjut.

4. Kesimpulan

Berdasarkan isolasi, uji biokimia dan morfologi, uji Molekuler 16S rDNA yang telah dilakukan diperoleh 1 isolat bakteri yang memiliki aktivitas sebagai pemecah amilum dan diidentifikasi sebagai *Bacillus cereus*.WP.50.4. Potensi dari bakteri *Bacillus cereus* penghasil enzim amilase dapat dimanfaatkan untuk ditambahkan ke pakan ikan, sebagai kandidat probiotik dan juga dapat digunakan untuk memfermentasi pakan.

5. Saran

Adapun saran yang dapat diberikan yaitu perlu dilakukan uji lanjut tentang manfaat dan potensi dari bakteri *Bacillus cereus*.A.WP.50.4 penghasil enzim amilase.

6. Referensi

Bottone E.J. 2010. *Bacillus cereus*, A Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(2): 382–398.

- Brock T.D. 1986. *Thermophiles: General, Molecular*, 2nd Applied Microbiology. A Willey Interscience Publication. 583 hlm.
- Cowan S.T., dan K.J. Steel. 1974. *Manual for The Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press. New York.
- Devita, F. 2016. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik pada Cairan Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes Spp.*) sebagai Agen Biokontrol. *Skripsi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Dwidjoseputro. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djembatan: Jakarta
- Guntoro, S. 2008. *Membuat pakan ternak dari limbah perkebunan*. Jakarta. Agromedia Pustaka
- Hardiningsih, R. 2006. *Isolation and Resistance Test of Several Isolates of Lactobacillus in Low pH*. Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16002.
- Hidayat (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: C.V Andi Offset.
- Leveque, E., S. Janecek, B. Haye, dan A. Belarbi. 2000. Thermophilic Archaeal Amylolytic Enzymes. *Enzymes dan Microbial Technology*, 26: 3-14.
- Maudy, R.N., E. Zulaikha, dan M. Shovitri. 2019. Karakter Isolat Bakteri P1 dari Rhizosfer Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 8(2): 2337-3520
- Nam. 2004. Galaktosidase gene of *Thermus thermophilus* KNOUC 112 isolated from hot springs of a volcano area in New Zealand: identification of bacteria, cloning, & expression of the gene in *Escherichia coli*. *J Anim Sci*, 17: 1591-1598.
- Pelczar, Michael P dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar-Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press
- Sankar, H.H.S., J. Jose, R. Varadarajan, S.V. Bhanub, S. Joy, dan B. Philip. 2014. Functional zonation of different digestive enzymes in *Europlus suratensis* and *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 4(5):110.
- Sianturi, D.C. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara. *Tesis*. USU Medan.
- Sugiyono, L., A.J. Rosita, dan R.A. Sabe. 2004. Penapisan dan Karakteristik Protease Bakteri Termofilik Asal Mata Air Laut Panas Poso sulawesi Tengah. *Jurnal Penelitian Sains*, 3: 49-55.
- Suhartanti, M, S.P. Ria, dan A.L.N. Aminin. 2010. Studi Filogeni dan Uji Potensi Enzim Ekstraseluler (amilase, β -galaktosidase, protease, katalase) Isolat Alicyclobacillus sp. Gedong Songo. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 13(3) :80-87
- Todar, K. 2008. *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal* disease. Rinneka Cipta. Jakarta
- Yulvizar, C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*, 6 (2) : 1-7.