

Penapisan Bakteri Thermo-Amilolitik Dari Sumber Air Panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi

The screening of thermo-amylolytic bacteria from Sungai Medang Hot Spring, Kerinci, Jambi

Devi Syafriyani^{*}), Anthoni Agustien dan Periadnadi

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis Padang – 25163

^{*}Koresponden: syafriyanidevi@gmail.com

Abstract

This study aimed to observe the ability of isolated bacteria from Sungai Medang hot spring in producing amylase and to determine the activity and characteristic of isolated amylolytic bacteria which gave the highest amylolytic index. The water samples were collected by using purposive sampling based on different level of temperatures. This study has successfully collected 48 bacterial isolated from the hot spring. To find the highest amylolytic activity, we tested ten isolated bacteria which have high amylolytic indices. We found that MV_{2.7} isolated from 74⁰C of hot spring gave the highest amylolytic activity. The isolated bacteria was positive proteolytic, cellulolytic and negative lipolytic. The isolated bacteria showed higher and more spesific activity on rice starch rather than corn and sago starch

Keywords: Screening, thermophilic, amylolytic, activity

Pendahuluan

Enzim termostabil merupakan biokatalis yang sangat efektif digunakan dalam proses reaksi yang menggunakan temperatur tinggi. Saat ini, beberapa bidang industri terutama pangan, deterjen, kesehatan, serta bidang penelitian mulai banyak bergantung pada kebutuhan terhadap enzim-enzim termostabil. Salah satu sumber yang cukup potensial adalah bakteri termofilik yang hidup pada sumber air panas (Mulyani *et al.*, 2004).

Daniel (2001) berhasil mengisolasi 86 bakteri termofilik penghasil amilase dengan suhu pertumbuhan optimum 40-70C dan pH pertumbuhan optimum 7 dari sumber air panas Rimbo Panti. Agustien (2005) berhasil mengisolasi 12 bakteri termofilik penghasil amilase dengan suhu pertumbuhan optimum 60C dan pH pertumbuhan optimum 6 dari sumber air panas Rimbo Panti dan Kili-Kili Sumbar.

Sumber air panas Sungai Medang merupakan salah satu sumber air panas yang berada di daerah Kerinci yang

berlokasi di Sungai Medang, Kecamatan Air Hangat Timur Desa Sungai Situtung. Berdasarkan survei yang telah dilakukan, sumber air panas tersebut mempunyai suhu 500C-780C dan pH 8,41-8,75 dan disekelilingnya terdapat berbagai vegetasi seperti lumut, rumput-rumputan, sisa organisme yang telah mati seperti daun-daun, ranting-ranting kayu, serangga yang telah mati dan batu-batuan. Berdasarkan hal di atas, maka dilakukan penapisan bakteri thermo-amilolitik dari sumber air panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas sungai Medang sebagai penghasil amilase dan mengetahui aktivitas dan karakter dari isolat bakteri amilolitik dari sumber air panas Sungai Medang yang mempunyai Indeks Amilolitik tertinggi.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda eksperimental dengan beberapa tahapan yaitu isolasi bakteri dari 5 kolam sumber air

panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi dan selanjutnya dilakukan penapisan bakteri yang bersifat amilolitik. Kemudian dilakukan karakterisasi secara parsial terhadap isolat yang memiliki indeks amilolitik paling tinggi.

Isolasi Bakteri Termofilik

Sampel diteteskan ke dalam medium NA cair, kemudian diinkubasi pada suhu tumbuh 50°C selama 24 - 48 jam. Koloni-koloni bakteri yang tumbuh diinokulasikan kembali ke cawan petri yang berisi medium NA dengan menggunakan metode kuadran, sampai terlihat koloni-koloni tunggal yang tumbuh (Atlas, 1997).

Penapisan bakteri

Penapisan bakteri termofilik dilakukan menurut modifikasi dari Rahmanta, 2003 *cit* Margaretha, 2003. Isolat bakteri ditumbuhkan pada media seleksi dengan penambahan 1% pati. Kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 24 jam, setelah itu ditetesi lugol. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri diukur diameternya dengan *caliper*.

Produksi dan isolasi enzim

Pembuatan medium basal dengan penambahan 3g K₂HPO₄, 3g KH₂PO₄, 5g MgSO₄/MgCl₂, pati 1% dan aquadest dicukupkan hingga 1000 ml. Satu ose inokulum diinokulasi ke dalam 25 ml medium basal, diagitasi selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 50°C. Setelah 24 jam disentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit, supernatan yang terbentuk kemudian diisolasi untuk kemudian diuji aktivitasnya (Agustien, 2010).

Uji aktivitas amylase

Uji dilakukan terhadap 10 isolat dengan indeks amilolitik paling tinggi, ditentukan berdasarkan metode Darwis dan Sukara, 1990 *cit* Hayati, 1998 dengan cara membuat larutan pati 1% yang diinkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit, lalu masukkan larutan kasar enzim dan diinkubasi. Selanjutnya ditambahkan pereaksi Somogy-Nelson dan dipanaskan. Selanjutnya

didinginkan dan kemudian ditambahkan pereaksi arsenomolibdat dan air suling. Setelah itu ditentukan serapan cahaya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Untuk blanko caranya sama, hanya saja pada blanko ekstrak kasar enzim dinonaktifkan dengan TCA, Selanjutnya absorbansi dikonversi ke dalam kurva standar glukosa.

Uji Spesifitas Substrat Pati Isolat MV_{2.7}

Dilakukan dengan menggunakan berbagai substrat penghasil enzim amilase yang berbeda, selanjutnya ditentukan aktivitas enzim dengan metoda Darwis *et al.*, 1990 *cit* Hayati, 1998.

Uji Enzimatis Isolat MV_{2.7}

Isolat diinokulasikan ke dalam masing-masing medium hidrolisa, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu optimum. Koloni bakteri yang membentuk zona bening menandakan bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan enzim (Lay, 1994).

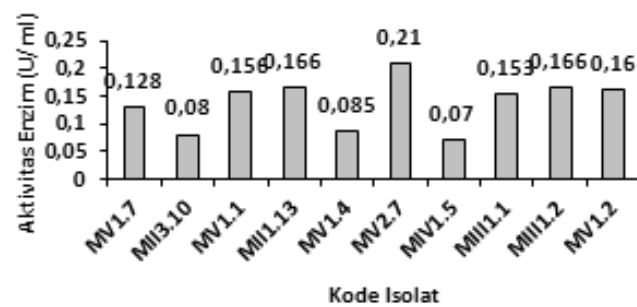
Hasil dan Pembahasan

Pengambilan isolat bakteri dari sumber air panas dilakukan pada 5 kolam dengan 9 titik pengambilan yang terdiri dari kolam I didapat 12 isolat dengan suhu 60-78°C dan pH 8,45-8,53. Pada penapisan yang telah dilakukan didapatkan 48 isolat bakteri yang berindikasi mempunyai kemampuan menghasilkan enzim amilase dengan diameter indeks amilolitik berkisar antara 0,17-18,27 mm. Isolat yang memiliki indeks amilolitik tertinggi terdapat pada isolat MV1.7 dan indeks amilolitik yang terendah terdapat pada isolat MV1.10 (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa isolat MV1.7 memiliki kemampuan yang besar untuk mendegradasi amilum jika dibandingkan dengan isolat lainnya (Ginting, 2009).

Pada pengujian aktivitas enzim amilase, isolat MV2.7 memiliki nilai aktivitas enzim tertinggi yaitu 5,63 u/ml, sedangkan isolat yang memiliki indeks amilolitik tertinggi yaitu MV1.7 memiliki nilai aktivitas enzim 3,19 u/ml (Gambar 1).

Tabel 1. Rata-rata IA dari Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Amilase

| No | Lokasi | Suhu | pH | Kode Isolat | Diameter (mm) | | Indeks Amilolitik |
|----|---------------------|-------------------|-------|---------------------|---------------|--------------------|-------------------|
| | | | | | Koloni | Zona bening | |
| 1 | I | 60 ⁰ C | 8,53 | MI _{2,3} | 5,60 | 10,70 | 0,91 |
| 2 | | | | MI _{2,4} | 7,95 | 14,20 | 0,79 |
| 3 | II | 77 ⁰ C | 8,71 | MII _{2,1} | 1,00 | 4,00 | 3,00 |
| 4 | | 50 ⁰ C | 8,62 | MII _{2,2} | 4,45 | 6,52 | 2,07 |
| 5 | | | | MII _{1,2} | 3,27 | 6,27 | 0,92 |
| 6 | | | | MII _{1,10} | 1,00 | 6,00 | 5,00 |
| 7 | | | | MII _{1,11} | 3,42 | 12,65 | 2,70 |
| 8 | | | | MII _{1,13} | 1,01 | 12,01 | 11,00 |
| 9 | | | | MII _{1,18} | 2,10 | 2,70 | 0,29 |
| 10 | | | | MII _{1,16} | 13,55 | 18,10 | 0,34 |
| 11 | | | | 70 ⁰ C | 8,57 | MII _{3,1} | 1,10 |
| 12 | MII _{3,16} | 14,57 | 25,37 | 0,74 | | | |
| 13 | MII _{3,21} | 3,30 | 6,70 | 1,03 | | | |
| 14 | MII _{3,23} | 6,63 | 9,76 | 0,47 | | | |
| 15 | MII _{3,10} | 1,20 | 22,50 | 17,75 | | | |
| 16 | MII _{3,3} | 9,85 | 12,40 | 0,26 | | | |
| 17 | MII _{3,4} | 6,40 | 10,80 | 0,69 | | | |
| 18 | III | 50 ⁰ C | 8,57 | MIII _{1,1} | 1,45 | 5,65 | 4,70 |
| 19 | | | | MIII _{1,2} | 1,32 | 6,28 | 5,76 |
| 20 | IV | 70 ⁰ C | 8,54 | MIV _{1,1} | 1,00 | 5,00 | 4,00 |
| 21 | | | | MIV _{1,2} | 1,95 | 3,50 | 0,79 |
| 22 | | | | MIV _{1,3} | 1,60 | 7,65 | 3,78 |
| 23 | | | | MIV _{1,4} | 16,30 | 19,27 | 0,18 |
| 24 | | | | MIV _{1,5} | 1,37 | 10,80 | 6,88 |
| 25 | | | | MIV _{1,6} | 2,15 | 14,20 | 5,60 |
| 26 | | | | MIV _{1,7} | 3,00 | 12,00 | 3,00 |
| 27 | | | | MIV _{1,8} | 1,70 | 6,30 | 2,71 |
| 28 | | | | MIV _{1,9} | 4,80 | 12,80 | 1,66 |
| 29 | V | 74 ⁰ C | 8,55 | MV _{1,1} | 2,07 | 36,30 | 16,54 |
| 30 | | | | MV _{1,2} | 1,00 | 8,00 | 7,00 |
| 31 | | | | MV _{1,3} | 4,45 | 5,27 | 2,18 |
| 32 | | | | MV _{1,4} | 1,57 | 14,97 | 8,54 |
| 33 | | | | MV _{1,5} | 4,00 | 11,00 | 1,75 |
| 34 | | | | MV _{1,6} | 4,65 | 17,55 | 2,77 |
| 35 | | | | MV _{1,7} | 1,20 | 45,92 | 18,27 |
| 36 | | | | MV _{1,8} | 4,45 | 5,27 | 0,18 |
| 37 | | | | MV _{1,9} | 5,47 | 11,95 | 1,18 |
| 38 | | | | MV _{1,10} | 8,97 | 10,47 | 0,17 |
| 39 | V | 74 ⁰ C | 8,59 | MV _{2,1} | 2,95 | 7,45 | 1,52 |
| 40 | | | | MV _{2,2} | 1,60 | 12,60 | 6,88 |
| 41 | | | | MV _{2,3} | 1,60 | 5,10 | 2,19 |
| 42 | | | | MV _{2,4} | 1,10 | 4,40 | 3,00 |
| 43 | | | | MV _{2,5} | 1,90 | 3,65 | 0,92 |
| 44 | | | | MV _{2,6} | 1,30 | 4,20 | 2,23 |
| 45 | | | | MV _{2,7} | 1,05 | 9,90 | 8,42 |
| 46 | | | | MV _{2,8} | 9,40 | 13,40 | 0,43 |
| 47 | | | | MV _{2,9} | 2,20 | 10,65 | 3,84 |
| 48 | | | | MV _{2,10} | 1,00 | 3,00 | 2,00 |

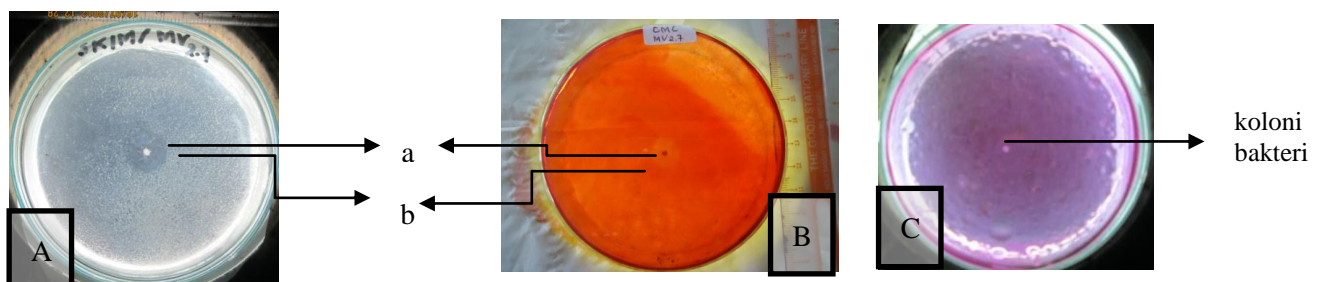


Gambar 1. Nilai aktivitas enzim beberapa isolate bakteri termo-amilolitik dari sumber air panas Sungai Medang, Kerinci.

Tabel 2. Uji enzimatik bakteri isolate MV2.7 terhadap aktifitas enzim protease, selulase dan lipase

| No | Uji enzimatik | Hasil |
|----|---------------|-------|
| 1 | Protease | + |
| 2 | Selulase | + |
| 3 | Lipase | - |

Ket. (+) penghasil enzim dan (-) tidak penghasil enzim



Gambar 2. Uji enzimatik bakteri isolate MV2.7, zona bening pada isolat MV2.7, (A) media Skim agar dan (B) CMC agar dan (C) media Rhodamin B agar (a. koloni bakteri dan b. zona bening)

Ward (1985) mengindikasikan bahwa tidak terdapat korelasi yang baik antara zona bening yang terbentuk di sekitar koloni pada media padat dengan kemampuan yang dihasilkan organisme tersebut.

Tabel 2 menunjukkan hasil uji spesifikasi dari tiga substrat pati yang berbeda yaitu pati beras, pati jagung dan pati sagu. Hasilnya menunjukkan nilai aktivitas enzim yang berbeda.

Nilai aktivitas enzim tertinggi yaitu 0,65 U/ml didapatkan pada pati beras, sedangkan pati jagung yaitu 0,65 U/ml dan pati sagu yaitu 0,42 U/ml. Hal ini dikarenakan adanya kandungan nutrisi pada setiap pati berbeda-beda. Menurut Simanjuntak (2006), komposisi unsur nutrisi beras terdiri dari karbohidrat 767 g, protein 75 g, lemak 18 g, air 130 g, Fe 14 mg, Ca 150 mg, thiamin 3,30 mg, niasin 46 mg dan riboflavin 4,5 mg. Sedangkan

komposisi unsur nutrisi dari jagung dan sagu memiliki unsur nutrisi yang lebih kecil dari beras.

Uji enzimatis isolat MV2.7 menghasilkan beberapa enzim bernilai positif yaitu pada uji protease dan selulase (Gambar 2 dan Tabel 2), yang artinya bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk melakukan proses pemecahan senyawa organik yang kompleks menjadi senyawa yang sederhana. Sedangkan untuk uji lipase bernilai negatif, hal ini dikarenakan bakteri tidak mampu memecah lipid menjadi gliserol sehingga tidak terdapat zona bening pada media. Menurut Hou and Johnston (1992) *cit* Tika *et al.*, (2007) bahwa bakteri penghasil lipase yang baik dapat dilihat dari kekuatan pendaran dan diameter zona pendaran yang dihasilkan. Makin besar diameter pendaran maka semakin banyak enzim lipase yang diekspresi oleh bakteri termofilik.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Empat puluh delapan isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Sungai Medang memiliki kemampuan menghidrolisis pati yang dapat diindikasikan menghasilkan enzim amilase.
2. Isolat MV2.7 yang memiliki aktivitas amilase tertinggi yaitu 5,63 u/ml, bersifat proteolitik, selulolitik, serta tumbuh baik pada medium spesifik pati jagung dan pati beras.

Ucapan Terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr. Erizal Mukhtar, Dr.phil.nat. Nurmiati, Dr. Fuji Astuti dan Dr. Zozy Aneloi Noli M.P yang telah memberikan masukan dalam penulisan artikel ini. Terimakasih juga ditujukan kepada camat Kecamatan Air Hangat Timur atas izin yang diberikan pada pengambilan sampel di sumber air panas Sungai Medang.

Daftar Pustaka

- Agustien, A. 2005. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase Termotabil dari Bakteri Isolate Sumbar*. 4: 18 (Abstr.).
- Agustien, A. 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. UNPAD PRESS. Bandung.
- Atlas, R.M. 1997. *Microbiology Fundamentals and Application*. Macmillan Publishing Company . New York.
- Daniel, R. 2001. *Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amylase Pada Sumber Air Panas Rimbo Panti*. [Skripsi]. Universitas Andalas. Padang.
- Ginting, J. 2009. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Enzim Amylase Kasar Termofilik Dari Sumber Air Panas Semangat Gunung Kabupaten Karo, Sumatera Utara*. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hayati, A. 1998. *Uji Aktifitas Enzim Amilolitik Beberapa Isolat Bakteri Sumber Air Panas*. [Skripsi]. Universitas Andalas. Padang.
- Margaretha, M. 2003. *Penapisan dan Karakterisasi Sejumlah Isolat Bakteri Termofilik Amilolitik*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Simanjuntak, D. 2006. Pemanfaatan Komoditas Non Beras Diversifikasi Pangan Sumber Kalori. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian* 4(1): 45-54.
- Tika, I.N. Redhana, I.W. Ristiatri, P.I. 2007. *Isolasi Enzim Lipase Termotabil dari Bakteri Termofiik Isolat Air Panas Banyuwedang Kecamatan Gerogak, Buleleng Bali*. *Akta Kimindo* 2(2): 109-112.
- Ward.O.P. 1985. Proteinase. In: Fogarty W.M. (ed.), *Microbial and Enzyme Biotechnology*. Appl Science. New York. P: 251-290.

- Pohan, R.S. 1998. Uji Aktivitas dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Protease dari Sumber Air Panas. [Skripsi]. Universitas Andalas. Padang.
- Prasetyo, H. 2006. Kandungan Selenium Total dalam Bakteri Termofilik Terseleksi dari Sumber Air Panas. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Simanjuntak, D. 2006. Pemanfaatan Komoditas Non Beras Diversifikasi Pangan Sumber Kalori. *Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian* 4(1): 45-54.
- Tika, I.N. Redhana, I.W. Ristiatri Putru Ni. 2007. Isolasi Enzim Lipase Termostabil dari Bakteri Termofilik Isolat Air Panas Banyuwedang Kecamatan Gerogak, Buleleng Bali. *Akta Kimindo* 2(2):109-112.
- Ward.O.P. 1985. Proteinase. In: Fogarty W.M. (ed.), *Microbial and Enzyme Biotechnology*. Appl Science. New York. P: 251-290.