

ARTIKEL ILMIAH

**UJI POTENSI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL ENZIM
PROTEASE DARI SUMBER AIR PANAS DESA AIR PANAS
SUNGAI ABU KERINCI SEBAGAI MATERI MATA
KULIAH MIKROBIOLOGI TERAPAN**

SKRIPSI



**OLEH
IKTIARA LITRINOPIZA
NIM A1C416029**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JAMBI
MARET 2021**

**UJI POTENSI BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL ENZIM
PROTEASE DARI SUMBER AIR PANAS DESA AIR PANAS
SUNGAI ABU KERINCI SEBAGAI MATERI MATA
KULIAH MIKROBIOLOGI TERAPAN**

Oleh:

Iktiara Litrinopiza¹⁾, Retni S. Budiarti²⁾, Harlis³⁾

¹⁾ Mahasiswa Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP Universitas Jambi

²⁾ Dosen Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP Universitas Jambi

Email: taraiktiara@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya potensi bakteri termofilik dari sumber air panas sebagai penghasil enzim protease yang banyak dimanfaatkan dalam ilmu bioteknologi seperti dalam bidang industri, baik industri pangan ataupun nonpangan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Dasar dan Terpadu Universitas Jambi pada bulan Juli – Agustus 2020. Penelitian ini menggunakan jenis dan pendekatan deskriptif kualitatif. Media yang digunakan untuk bakteri termofilik yaitu Skim Milk Agar dan dilakukan inkubasi pada suhu 50° selama 48 jam sehingga diketahui nilai Indeks Proteolitik (IP) melalui pengukuran diameter zona bening dan koloni bakteri. Metode Inokulasi yang digunakan yaitu Spot Inoculation. Parameter yang diamati yaitu nilai Indeks Proteolitik (IP). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 6 isolat bakteri termofilik yang diujikan terdapat 5 isolat membentuk zona bening yang berasal dari genus *Pseudomonas* dan *Vibrio*. Nilai IP tertinggi diperoleh dari isolat *Pseudomonas* S4 yaitu sebesar 0,62 dan terendah dari isolat S3 dan S5 dari genus *Pseudomonas* yaitu 0,04. Dari 6 isolat juga terdapat 1 isolat yang tidak membentuk zona bening hingga akhir masa inkubasi yaitu isolat *Pseudomonas* S6. Hasil penelitian ini akan dijadikan sebagai bahan materi tambahan Mikrobiologi Terapan dalam bentuk buku saku agar mahasiswa mendapatkan informasi tambahan. Dari hasil penelitian ini diketahui bahwa setelah dilakukan uji potensi terhadap isolat bakteri Sumber Air Panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci dan dilakukan pengukuran nilai IP, hanya didapatkan nilai IP tertinggi dari genus *Pseudomonas* S4 sebesar 0,62 sehingga dapat diindikasikan yaitu dapat berpotensi menghasilkan enzim protease namun memiliki nilai yang termasuk kategori rendah. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan agar penelitian selanjutnya melakukan uji potensi dalam menghasilkan enzim termostabil lain yang dapat diaplikasikan dalam bioteknologi.

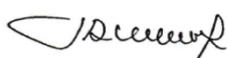
Keywords: Protease, Bakteri Termofilik, *Pseudomonas*, *Vibrio*.

Jambi, Maret 2021

Mengetahui dan Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II



Retni S. Budiarti, S.Pd., M.Si.
NIP. 196909171994032003



Dra. Harlis, M. Si.
NIP. 196211041991022001

Potential Test of Protease Enzyme-Producing Thermophilic Bacteria from Hot Springs in Sungai Abu Kerinci Hot Spring Village as Applied Microbiology Subjects

ABSTRACT

This study aims to determine whether or not there is the potential for thermophilic bacteria from hot springs to produced protease enzymes which were widely used in biotechnology, such as in industry, both the food and non-food industries. The research was carried out at the Basic and Integrated Laboratory of Jambi University in July - August 2020. This research used a qualitative descriptive tyoe. The medium used for thermophilic bacteria was Skim Milk Agar and incubated at 50 ° for 48 hours so that the Proteolytic Index (IP) value was known by measuring the diameter of the clear zone and bacterial colonies. The inoculation method used is Spot Inoculation. The parameters observed were the Proteolytic Index (IP) value. The results showed that of the 6 thermophilic bacterial isolates tested, 5 isolates formed a clear zone from the genus *Pseudomonas* and *Vibrio*. The highest IP value was obtained from *Pseudomonas* S4 isolates, namely 0.62 and the lowest from S3 and S5 isolates from the genus *Pseudomonas*, namely 0.04. Of the 6 isolates, there was also 1 isolate that did not form a clear zone until the end of the incubation period, namely *Pseudomonas* S6 isolate. The results of this study be used as additional material for Applied Microbiology in the form of a pocket book so that students get additional information. From the results of this study it was known that after a potential test was carried out on the bacterial isolate of Hot Spring in the village of Air Panas Sungai Abu Kerinci and the measurement of the IP value, only the highest IP value was obtained from the genus *Pseudomonas* S4 of 0.62 so that it can be indicated that it cac potentially produce protease enzymes. but had a value that is included in the low category. Based on the research that has been done, it is suggested that further research should carry out potential tests in produced other thermostable enzymes that can be applied in biotechnology.

Keywords: Protease, Thermophilic Bacteria, *Pseudomonas*, *Vibrio*.

PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu bioteknologi pada bidang industry semakin meningkat dari waktu ke waktu. Perkembangan yang meningkat pesat pada bidang industri salah satunya yaitu proses pengolahan. Salah satu hal yang disorot dalam perkembangan tersebut yaitu penggunaan enzim. Enzim yang digunakan dalam proses pengolahan yaitu enzim yang tahan pada suhu tinggi atau termostabil. Terdapat beberapa jenis enzim yang berperan dalam bidang industri. Salah satu jenis enzim yang digunakan dalam bidang industry yaitu protease. Susanti dan Fidia (2017: 114) mengungkapkan bahwa protease adalah salah satu dari tiga kelompok terbesar dari enzim industri dan mencapai sekitar 59% dari total penjualan di seluruh dunia dari enzim yang lainnya. Enzim protease ini dapat diperoleh dari hewan, tanaman dan mikroorganismenya, akan tetapi protease yang diisolasi dari mikroorganismenya dapat dianggap lebih menguntungkan dibanding pada tanaman dan hewan, karena dapat diproduksi dalam jumlah besar dan waktu yang relatif singkat.

Protease adalah salah satu dari kelompok enzim yang paling penting dalam dunia industri yang diperdagangkan secara komersial. Enzim ini 99% didapat dari negara lain atau dengan kata lain mengimpor. Kebutuhan enzim di

Indonesia terus meningkat setiap tahunnya, yaitu 9,1% per tahun (BPPT, 2014:1). Oleh karena itu perlu usaha sendiri untuk memproduksi enzim tersebut. Salah satu usaha yang dapat dilakukan untuk memproduksi enzim protease tersebut yaitu melalui bakteri termofilik.

Bakteri termofilik dipilih yang mempunyai kemampuan tahan terhadap suhu yang tinggi. Bakteri termofilik tersebut dapat diperoleh pada lingkungan yang ekstrim seperti di sumber air panas. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Edlin, dkk (2014) dari sumber air panas Semurup Kerinci Jambi, diperoleh 7 isolat protease alkali termofilik. Penelitian yang dilakukan oleh Rusdwitarsari dan Prima (2014) dari sumber air panas Singgahan Tuban, diperoleh 27 isolat dari 75 isolat yang memiliki potensi sebagai penghasil protease, serta penelitian yang dilakukan oleh Muharni, dkk (2013) dari sumber air panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan, diperoleh 4 isolat yang mampu menghasilkan protease. Bakteri yang tahan panas akan memberikan keuntungan yaitu dapat menghindarkan terjadinya denaturasi atau kerusakan sel, karena bakteri termofilik memiliki protein yang tahan terhadap proses serta bersifat stabil pada kondisi suhu yang tinggi.

Hasil penelitian tersebut juga mengungkapkan bahwa Indonesia

memiliki potensi adanya bakteri termofilik, salah satunya sumber air panas di Desa Air Panas Sungai Abu, Kerinci, Jambi. Sebelumnya telah dilakukan isolasi dan identifikasi oleh Weni Cahyati. Isolat tersebut akan dilakukan uji potensi sebagai penghasil enzim protease.

Sumber air panas di Desa Air Panas Sungai Abu, Kerinci, Jambi ini telah dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri termofilik, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi bakteri termofilik sebagai penghasil enzim protease. Selain itu, belum pernah dilakukan penelitian uji potensi bakteri sebagai penghasil enzim protease pada daerah tersebut. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sumber materi mata kuliah pilihan Mikrobiologi Terapan pada materi Archaea khususnya mengenai bakteri termofilik sehingga diketahui contoh-contoh genus bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan enzim protease pada daerah tersebut dan dibuat dalam bentuk buku saku. Melihat fakta tersebut, maka dilakukan penelitian dengan judul “Uji Potensi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease dari Sumber Air Panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci sebagai Materi Mata Kuliah Mikrobiologi Terapan”.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Dasar dan Terpadu Universitas Jambi pada bulan Juli sampai Agustus 2020. Pendekatan dan jenis penelitian adalah penelitian deskriptif kualitatif. Sumber data diperoleh dari hasil observasi uji potensi kualitatif yang dilakukan terhadap bakteri termofilik yang dapat mendegradasi protein (kasein). Data berasal dari subjek penelitian berupa isolat biakan miring bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu, Kerinci, Jambi yang telah diisolasi dan diidentifikasi sebelumnya oleh Weni Cahyati. Teknik pengambilan sampel penelitian ini yaitu dengan teknik sampling jenuh. Teknik pengumpulan dengan observasi dari luas zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media selektif. Sedangkan teknik analisis data yaitu dengan deskriptif melalui uji potensi secara semi kuantitatif.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah bunsen, jarum ose, tabung reaksi, *laminar air flow*, *incubator*, lemari pendingin, cawan petri, erlenmeyer, *hot plate*, batang pengaduk, *autoclave*, kamera, botol semprot, timbangan digital, gelas ukur dan rak tabung reaksi. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 6 isolat biakan miring bakteri termofilik

sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu, spiritus, korek api, *tissue*, kapas, koran, akuades, *Bacto Agar* 15 g, *Skim Milk* 20 g, pepton 5 g, alkohol, kertas millimetre blok, kertas label, aluminium foil, aquades, masker, *plastic wrap*, kasa dan sarung tangan. Alat dan bahan tersebut disterilisasikan terlebih dahulu dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan uap 15 lbs selama 15 menit agar tidak terjadi kontaminasi.

Media pada penelitian ini adalah media selektif. Pertama, pembuatan media selektif SMA yaitu ditimbang *Bacto Agar* 15 g, ditambahkan *Skim Milk* 20 g, lalu ditambahkan pepton 5 g, dicampur bahan tersebut kedalam Erlenmeyer 2000 ml, ditambahkan akuades 1000 ml, dihomogenkan menggunakan batang pengaduk di atas hot plate, setelah itu ditutup rapat (Naiola dan Nunuk, 2002: 468). Kedua, diinokulasi 1 ose dari isolat biakan miring ke media selektif *Skim Milk Agar* (SMA) kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 24 jam (Edlin dkk., 2014: 304). Ketiga, bakteri yang telah tumbuh pada media, diamati ada tidaknya serta perbedaan ukuran zona bening yang terbentuk. Keempat, dilakukan pengukuran zona bening yang terbentuk untuk mencari nilai IP. Isolat dengan nilai indeks proteolitik relative tinggi diduga sebagai isolat potensial. Penelitian ini merujuk pada pendapat Naiola dan Nunuk (2002:

468) bahwa zona bening yang terbentuk pada isolat dengan nilai nisbi > 2 , selanjutnya dapat diuji secara kuantitatif. Selain itu, juga berdasarkan pada Firliani (2015: 11) bahwa zona bening ≥ 2 cm, maka dapat dikatakan bakteri tersebut termasuk galur yang baik untuk menghasilkan enzim protease. Untuk mengukur diameter zona bening dan koloni bakteri menggunakan kertas milimeter blok yaitu, untuk zona bening diukur dari ujung kiri dan ujung kanan terbesar dari zona bening yang mengelilingi koloni bakteri, begitu juga dengan koloni bakteri yang berada di dalam zona bening diukur dengan cara yang sama. Diukur dibagian tengah atau bagian tempat melakukan inokulasi pada media. Untuk penghitungan IP penelitian ini berdasarkan pada pendapat Kurniawan (2017: 63) bahwa rumus untuk penghitungan IP yaitu diameter zona bening dikurang diameter koloni bakteri dibagi diameter koloni bakteri. Untuk kategori hasil pengukuran IP, menurut Hastuti, dkk (2017: 269) yaitu $< 2,1$ termasuk kategori rendah dan 2,1-3,1 termasuk kategori sedang.

$$IP = \frac{D1 - D2}{D2}$$

Keterangan :

IP =IndeksProteolitik

D1 = Diameter zona bening

D2 = Diameter kolonibakteri

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Objek penelitian yang digunakan yaitu 6 isolat bakteri yang telah diisolasi dan diidentifikasi sebelumnya oleh Weni Cahyati dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci Jambi. Hasil penelitian pada 6 isolat bakteri dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci Jambi diketahui bahwa terdapat 5 isolat bakteri diindikasikan memiliki potensi dalam mendegradasi protein (kasein) sebagai penghasil enzim protease dan 1 isolat bakteri diindikasikan tidak memiliki potensi dalam mendegradasi protein (kasein) sebagai penghasil enzim protease. Bakteri yang berpotensi menghasilkan enzim protease akan membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri, jika ditumbuhkan pada media *Skim Milk Agar* selama 48 jam masa inkubasi. Potensi isolat bakteri sumber air panas tersebut dapat diketahui berdasarkan nilai Indeks Proteolitik (IP) yang diperoleh dari hasil perhitungan diameter zona bening yang

terbentuk dan diameter koloni bakteri. Data zona bening yang terbentuk untuk masing-masing bakteri uji selama 48 jam masa inkubasi disajikan pada Tabel 4.1 berikut ini.

Tabel 4.1. Zona Bening yang Terbentuk Selama 48 Jam Masa Inkubasi

No.	Nama Isolat Bakteri	Diameter Zona Bening Jam Ke – (mm)	
		24	48
1.	<i>Pseudomonas</i> S1	57	63
2.	<i>Vibrio</i> S2	0	13
3.	<i>Pseudomonas</i> S3	10	26
4.	<i>Pseudomonas</i> S4	12,5	26
5.	<i>Pseudomonas</i> S5	10	54
6.	<i>Pseudomonas</i> S6	0	0

Berdasarkan hasil pada tabel 4.1, dapat dilihat bahwa setiap isolat memiliki potensi yang berbeda dalam membentuk zona bening. Isolat bakteri dari genus *Pseudomonas* S1, S3, S4 dan S5 membentuk zona bening pada jam ke-24 hingga akhir masa inkubasi dengan ukuran diameter zona bening yang terbentuk semakin besar. Isolat bakteri dari genus *Vibrio* S2 dan dari genus *Pseudomonas* S6 tidak membentuk zona

bening pada jam ke-24, tetapi isolat *Vibrio* S2 membentuk zona bening pada jam ke-48 atau akhir masa inkubasi, sedangkan isolat *Pseudomonas* S6 tetap tidak membentuk zona bening hingga akhir masa inkubasi. Hasil uji potensi nilai IP dari tinggi ke rendah secara kualitatif isolat bakteri berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk dan diameter koloni setelah 48 jam masa inkubasi dapat dilihat pada Tabel 4.2 berikut ini.

Tabel 4.2 Hasil Uji Isolat Bakteri Termofilik setelah 48 Jam

No	Nama Isolat Bakteri	DZB (mm)	DK (mm)	IP
1.	<i>Pseudomonas</i> S4	26	16	0,62
2.	<i>Vibrio</i> S2	13	10	0,3
3.	<i>Pseudomonas</i> S1	63	60	0,05
4.	<i>Pseudomonas</i> S3	26	25	0,04
5.	<i>Pseudomonas</i> S5	54	52	0,04
6.	<i>Pseudomonas</i> S6	0	11	0

Keterangan :

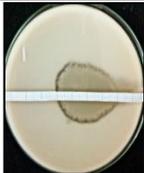
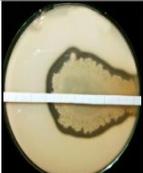
DK : Diameter Koloni

DZB : Diameter Zona Bening

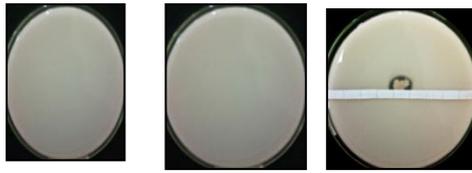
IP : Indeks Proteolitik

Berdasarkan hasil pada Tabel 4.2, dapat dilihat bahwa hampir semua isolat bakteri memiliki potensi sebagai penghasil enzim protease. Hal ini sesuai dengan nilai Indeks Proteolitik (IP) yang diperoleh setelah 48 jam masa inkubasi pada media *Skim Milk Agar* (SMA). Isolat bakteri yang membentuk zona bening dan diindikasikan memiliki potensi sebagai penghasil enzim protease, berasal dari isolat *Pseudomonas* S4, *Vibrio* S2, *Pseudomonas* S1, *Pseudomonas* S3 dan *Pseudomonas* S5 dengan nilai Indeks Proteolitik (IP) tertinggi berasal dari isolat *Pseudomonas* S4. Hasil penelitian pada tabel sebagian besar memiliki nilai > 2 cm. Gambar isolat bakteri sebelum inkubasi, setelah 24 jam, dan setelah 48 jam beserta pengukuran IP dapat dilihat pada Tabel 4.3.

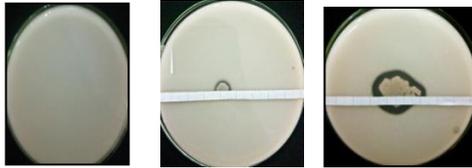
Tabel 4.3 Pengukuran Isolat Bakteri sebelum Inkubasi dan setelah Inkubasi

Nama Isolat	Sebelum Inkubasi	Setelah 24 jam Inkubasi	Setelah 48 jam Inkubasi
<i>Pseudo monas</i> S1			

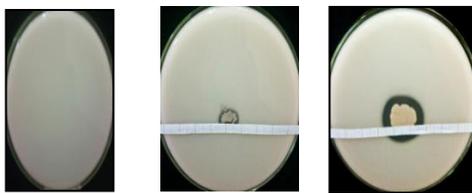
Vibrio
S2



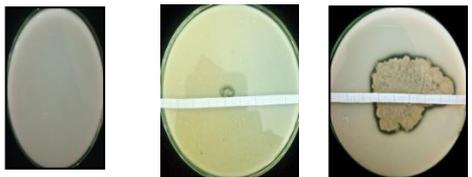
Pseudo
monas
S3



Pseudo
monas
S4



Pseudo
monas
S5



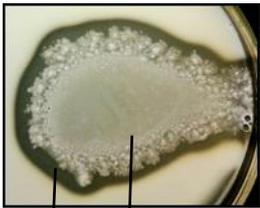
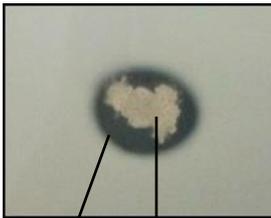
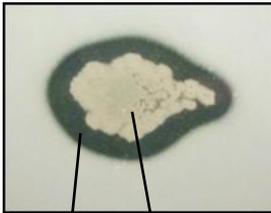
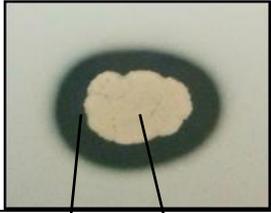
Pseudo
monas
S6

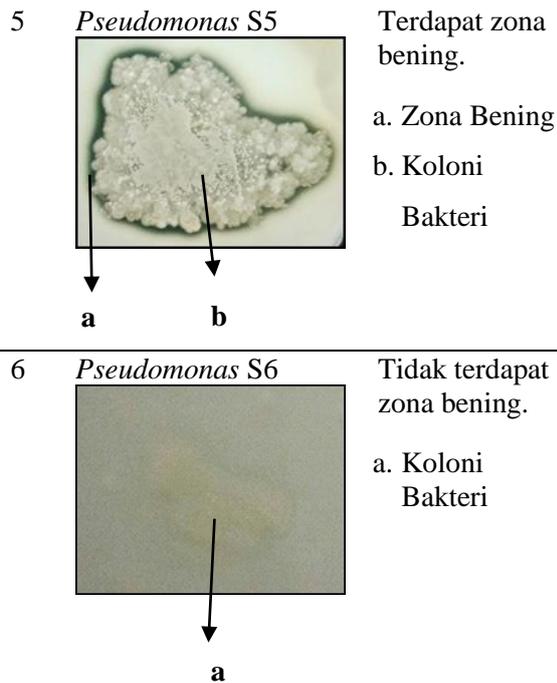


Selanjutnya, beberapa gambar pengujian isolat bakteri setelah dilakukan uji potensi sebagai penghasil enzim protease menggunakan media *Skim*

Milk Agar (SMA) dan diinkubasi selama 48 jam dapat dilihat pada Tabel 4.4 berikut ini.

Tabel 4.4 Isolat Bakteri Termofilik setelah pengujian 48 jam Masa Inkubasi

No	Tahap Pengukuran	Keterangan
1	<i>Pseudomonas</i> S1	Terdapat zona bening. a. Zona Bening b. Koloni Bakteri
		
2	<i>Vibrio</i> S2	Terdapat zona bening. a. Zona Bening b. Koloni Bakteri
		
3	<i>Pseudomonas</i> S3	Terdapat zona bening. a. Zona Bening b. Koloni Bakteri
		
4	<i>Pseudomonas</i> S4	Terdapat zona bening. a. Zona Bening b. Koloni Bakteri
		



Pembahasan

Bakteri termofilik merupakan jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim. Pada penelitian ini dilakukan uji potensi bakteri termofilik pada 6 isolat bakteri hasil isolasi dan identifikasi dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci. Masing-masing dari 6 isolat bakteri termofilik tersebut diujikan pada media selektif *Skim Milk Agar* (SMA) untuk melihat potensinya dalam menghasilkan enzim protease. Bakteri yang memiliki potensi dalam menghasilkan enzim protease dapat diketahui dari terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri jika ditumbuhkan

pada media *Skim Milk Agar* (SMA). Zona bening yang terbentuk akibat terdegradasinya kandungan protein (kasein) pada media. Hasil menunjukkan bahwa terdapat 5 isolat yang membentuk zona bening dan diindikasikan memiliki potensi dalam menghasilkan protease. Hal ini sesuai dengan pendapat Hastuti, dkk (2017: 269), bahwa genus-genus bakteri tersebar di perairan dan bakteri proteolitik berasal dari genus *Pseudomonas*, *Vibrio* dan *Bacillus*.

Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa setiap isolat bakteri memiliki ukuran diameter zona bening yang berbeda-beda dan terdapat isolat yang tidak menghasilkan zona bening. Yuanita dan Prima (2014: 53) menambahkan bahwa terdapat beberapa faktor yang menyebabkan hal tersebut dapat terjadi yaitu perbedaan jenis bakteri, kecepatan pertumbuhan setiap isolat pada medium, dan tipe enzim yang dihasilkan. Selain itu, aktivitas enzim juga turut memberikan pengaruh. Hal ini disampaikan oleh Edlin,

dkk (2014: 306) bahwa perbedaan zona bening tersebut disebabkan oleh aktivitas enzim dari masing-masing isolat yang disekresikan ke medium berbeda. Aktivitas enzim tersebut ditentukan oleh konsentrasi, konformasi, urutan asam amino dan jenis asam amino.

Hasil nilai Indeks Proteolitik (IP) menunjukkan nilai yang berbeda-beda dan terdapat 1 isolat yang hanya membentuk koloni bakteri saja tanpa membentuk zona bening. Terbentuknya zona bening dikarenakan protein susu (kasein) yang terdiri dari fosfoprotein berikatan dengan kalsium akan membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kaseinat. Molekul ini sangat besar, tidak larut dalam air, serta membentuk koloid. Suspensinya berwarna putih serta terlihat sehingga dapat diamati. Adanya enzim proteolitik ekstraseluler dari bakteri ini, partikel kasein akan hilang karena kasein akan terhidrolisis menjadi peptida dan asam amino yang larut (Zuhri, 2013: 33). Zona bening terlihat di sekitar koloni. Yuanita dan Prima (2014: 52)

menambahkan zona bening yang terbentuk di sekitar koloni dikarenakan enzim protease yang dihasilkan dari bakteri proteolitik tersebut telah mampu mendegradasi substrat yang mengandung kasein yang terdapat pada media *Skim Milk*. Kasein terhidrolisis menjadi peptida dan asam amino yang larut. Simamora dan Sukmawati (2018: 83) menjelaskan bahwa bakteri proteolitik mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler, yaitu enzim pemecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar sel.

Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan isolat bakteri tidak membentuk zona bening. Salah satu faktor yaitu ketidakcocokan substrat kasein media *Skim Milk* dengan protease yang dihasilkan. Hal ini diperkuat oleh Yuanita dan Prima (2014: 52) bahwa tidak terbentuknya zona kuning disebabkan oleh tidak cocoknya substrat kasein pada media *Skim Milk* dengan protease yang dihasilkan oleh isolat tersebut atau isolat tersebut tidak menghasilkan enzim protease. Selain

itu, susu skim pada media juga mengandung kasein yang berfungsi untuk substrat enzim. Hal ini sesuai dengan pendapat Akhdiya (2003: 40), bahwa penggunaan kasein pada media disebabkan karena kasein merupakan substrat yang baik untuk mengisolasi bakteri penghasil enzim protease alkalin. Faktor lain yang menyebabkan tidak terbentuknya zona bening yaitu tipe enzim itu sendiri. Yuanita dan Prima (2014: 53) menambahkan bahwa tipe enzim yang dihasilkan dapat menjadi penyebab tidak terbentuknya zona bening. Tipe enzim berkaitan dengan kemampuan bakteri dapat atau tidak menghasilkan enzim ekstraseluler.

Pengujian potensi bakteri termofilik sebagai penghasil enzim protease secara kualitatif dilakukan dengan mengukur diameter koloni dan zona bening yang terbentuk hingga akhir masa inkubasi untuk mengetahui nilai Indeks Proteolitik (IP). Hasil pengamatan menunjukkan terjadinya perbedaan hasil. Perbedaan hasil

yang terjadi yaitu meskipun isolat bakteri tersebut memiliki genus yang sama, tetapi memiliki spesies yang berbeda. Yang pertama yaitu Genus *Pseudomonas*. Genus *Pseudomonas* memiliki karakteristik yaitu bakteri Gram negatif, sel berbentuk batang, positif terhadap uji oksidase dan positif terhadap uji *metyl red* (Mahmudah, dkk., 2016: 40). Adapun isolat *Pseudomonas* yang tidak membentuk zona bening pada media *Skim Milk Agar* (SMA) dapat dipengaruhi oleh tipe enzim maupun jenis/spesies bakteri yang berbeda. Sutrisno (2017: 120) menambahkan bahwa salah satu contoh bakteri yang memiliki potensi menghasilkan protease hingga tingkat spesies yaitu *Pseudomonas aeruginosa*.

Kedua, isolat bakteri termofilik yang membentuk zona bening berikutnya berasal dari genus *Vibrio*. *Vibrio* juga merupakan salah satu genus bakteri yang memiliki potensi menghasilkan enzim protease. Pratita dan Surya (2012: 4) menjelaskan bahwa *Vibrio* memiliki

beberapa karakteristik yaitu bakteri Gram negatif, sel berbentuk batang, positif terhadap uji oksidasi, positif terhadap uji fermentasi, dan positif terhadap uji Na^+ . Dari hasil pengujian terdapat 1 isolat bakteri yang berasal dari genus *Vibrio* yang dapat membentuk zona bening. Pratita dan Surya (2012) menambahkan bahwa hasil penelitiannya menunjukkan didapatkan 4 koloni bakteri dari sumber air panas di Songgoriti, menurut morfologi dan fisiologinya 3 dari 4 isolat berasal dari genus *Vibrio* sp.

Bakteri pada dasarnya mempunyai enzim protease akan tetapi tidak semua memiliki enzim ekstraseluler. Rinidar dan Muhammad (2017: 167) menjelaskan bahwa hampir semua bakteri mempunyai enzim protease yang berguna untuk memecah protein, namun tidak semua bakteri mempunyai enzim ekstraseluler. Maksud dari enzim ekstraseluler adalah enzim yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel. Hal ini juga sesuai dengan pendapat Irianto

(2013: 43), bahwa enzim ekstraseluler merupakan enzim yang disintesis di dalam sel tetapi di keluarkan melalui membran sel. Menurut Simamora dan Sukmawati (2018: 85), bahwa sintesis protein ekstraseluler biasanya terjadi pada fase stasioner. Saat memasuki fase stasioner, reaksi katabolit mulai menurun sehingga mengaktifkan biosintesis enzim. Ahmed *et al.* (2010: 109), berpendapat bahwa sekresi enzim biasanya terjadi antara akhir fase eksponensial sampai awal stasioner. Khusus puncak produksi protease alkalin termostabil menurut Akhdiya (2003: 40), yaitu umumnya terjadi pada akhir fase eksponensial hingga akhir fase stasioner.

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka hal ini dapat dijadikan materi tambahan pada mata kuliah mikrobiologi terapan dalam bentuk buku saku. Alasan pemilihan buku saku sebagai media pada materi tambahan mata kuliah mikrobiologi terapan karena buku saku menyajikan informasi yang lebih ringkas, bersifat praktis dan menarik. Selain itu,

materi dalam bentuk buku saku dapat dipelajari secara fleksibel yaitu dapat digunakan kapan dan dimana saja karena mudah dibawa.

Buku saku pada penelitian ini dibuat dengan ukuran 17 cm x 11 cm karena didasarkan pada KBBI (2008: 230), bahwa buku saku diterbitkan dalam ukuran kecil (sekitar 17 cm x 11 cm). Buku saku didesain menggunakan aplikasi seperti *Microsoft Word* dan *Canva*. Desain buku saku dibuat dengan memadukan variasi gambar dan beberapa elemen warna yaitu hitam, oranye dan putih. Buku terdiri atas tiga bagian utama, yaitu pendahuluan, isi dan penutup. Pertama, terdiri dari sampul buku, kata pengantar dan daftar isi. Kedua, berisi pendahuluan, materi singkat tentang mikrobiologi terapan, protease, bakteri termofilik dan berisi tentang genus bakteri termofilik yang didapat dari sumber air panas Desa air panas Sungai Abu Kerinci sebagai penghasil enzim protease. Ketiga, berisi daftar rujukan. Desain sampul buku dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Sampul buku saku

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri termofilik dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci berpotensi sebagai penghasil enzim protease namun memiliki nilai IP yang termasuk kategori rendah yaitu nilai IP tertinggi dari genus *Pseudomonas* S4 sebesar 0,62.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, I., M. Irfan., M. Nadeem., M.A. Zia., B.M. Ahmad., M. Hafiz & N. Iqbal. 2010. Optimized of Media and Enviromental Conditions for Alkaline Protease Production Using *Bacillus subtilis* in Submerged Fermentation Process. *IJAVMS*. 4(4): 105-113.
- Akhdiya, Alina. 2003. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termostabil. *Buletin Plasma Nutfah*. 9(2): 38-44.
- BPPT. 2014. *Kepala BPPT dan Menristek Resmikan Pembangunan Bio Center Plant dan Ground Breaking Unit Produksi Enzim di Gresik*. Diakses pada 25 November 2019. <https://www.bppt.go.id/teknologi->

agroindustri-dan-bioteknologi/2017-kepala-bppt-dan-menristek-resmikan-pembangunan-bio-center-plant-dan-ground-breaking-unit-produksi-enzim-di-gresik

- Edlin, Yurike Nova, Anthoni Agustien, & Djong Hon Tjong. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Alkali-Proteolitik Sumber Air Panas Semurup Kerinci Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 3(4): 303-309.
- Firliani, Widia., Anthoni Agustien & Fuji Astuti Febria. 2015. Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4(1): 9-14
- Hastuti, Utami Sri, Febriani Sarwendah Asri Nugraheni, & Putri M. Al Asna. 2017. Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference*. 14(1): 265-270.
- Irianto, Koes. 2013. Mikrobiologi Medis. Bandung: Alfabeta.
- Mahmudah, Rafiah., Maswati Baharuddin & Sappewali. 2016. Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*. 4(1): 31-42.
- Naiola, E dan N. Widhyastuti. 2002. Isolasi, Seleksi dan Optimasi Protease dari beberapa isolat bakteri. *Berita Biologi*. 3 (6) : 467-473.
- Pratita, Maria Yuli Endah & Surya Rosa Putra. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*. 1(1): 1-5.
- Rinidar & Muhammad Isa. 2017. Biokimia Dasar Pencernaan dan Absorpsi Makanan. Aceh: Syiah Kuala University Press.
- Simamora, Cico Jhon Karunia & Sukmawati Sukmawati. 2018. Identification and Characterization of PrTK-2 Bacterial Isolate Producing Extracellular Protease Enzym from Rubber Seeds Tempeh. *Bioscience*. 2(1): 79-88.
- Susanti, R & Fidia Fibriana. 2017. Teknologi Enzim. Yogyakarta: Andi.
- Sutrisno, Aji. 2017. Teknologi Enzim. Malang: UB Press.
- Yuanita, Dian Novalia & Prima Retno Wikandari. 2014. Screening Bakteri Proteolitik dari Sumber Air Panas Singgahan Tuban. *Journal of Chemistry*. 3 (3): 49-54.
- Zuhri, Rozana. 2013. Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen Terhadap Produksi Protease Alkali dari *Bacillus* sp. M_{i,2,3} Termofilik Sumber Air Panas Sungai Medang Kerinci, Jambi. *Tesis*. Padang: Universitas