

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL
ENZIM SELULASE DI KAWASAN WISATA IE SUUM
KABUPATEN ACEH BESAR**

SKRIPSI

Diajukan oleh :

RAHMATIL MAJIDAH

NIM. 180703042

**Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
BANDA ACEH
2023 M/ 1444 H**

PENGESAHAN

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL ENZIM SELULASE DI KAWASAN WISATA IE SUUM KABUPATEN ACEH BESAR

SKRIPSI

Diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Sebagai Salah Satu Beban Studi Memperoleh Gelar Sarjana (S1)
dalam Ilmu/Prodi Biologi

Oleh:
RAHMATIL MAJIDAH
NIM. 180703042
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi

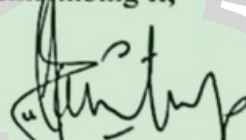
Disetujui Untuk Dimunaqasyahkan Oleh :

Pembimbing I,



Syafrina Sari Lubis, M.Si
NIDN. 2027028901

Pembimbing II,

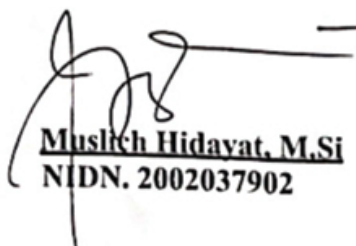


Dianmita Harahap, M.Si
NIDN. 2022038701

AR - RANIRY

Mengetahui,

Ketua Prodi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh



Muslich Hidayat, M.Si
NIDN. 2002037902

PENGESAHAN

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL ENZIM SELULASE DI KAWASAN WISATA IE SUUM KABUPATEN ACEH BESAR

SKRIPSI

Telah Diuji Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Tugas Akhir/Skripsi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh dan Dinyatakan Lulus
Serta Diterima Sebagai Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)
Dalam Ilmu/Prodi Biologi

Pada Hari/Tanggal: Selasa, 6 Juni 2023
17 Zulkaidah 1444 H
di Darussalam, Banda Aceh

Panitia Ujian Munaqasyah Tugas Akhir/Skripsi:

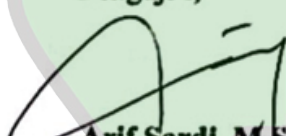
Ketua,


Syafrina Sari Lubis, M.Si
NIDN. 2027028901

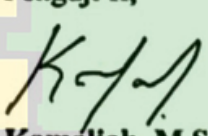
Sekretaris,


Diannita Harahap, M.Si
NIDN. 2022038701

Penguji I,


Arif Sardi, M.Si
NIDN. 2019068601

Penguji II,


Kamalliah, M.Si
NIDN. 2015028401

Mengetahui:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh,



Dr. Ir. Muhammad Dirhamsyah, M.T., IPU
NIDN. 0002106203

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahmatil Majidah
NIM : 180703042
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Penghasil
Selulase di Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh
Besar

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penelitian skripsi ini, saya :

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggung jawabkan;
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah karya orang lain;
3. Tidak menggunakan karya orang lain tanpa menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya;
4. Tidak memanipulasi dan kemasukan data;
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini.

Bila di kemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya, dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggung jawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 8 Maret 2023

Yang Menyatakan,



Rahmatil Majidah

ABSTRAK

Nama : Rahmatil Majidah
NIM : 180703042
Program Studi : Biologi
Judul : Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Penghasil
Selulase di Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh
Besar
Jumlah Halaman : 53 halaman
Pembimbing I : Syafrina Sari Lubis, M.Si
Pembimbing II : Diannita Harahap, M.Si
Kata Kunci : Bakteri Termofilik, Enzim Selulase, Air Panas.

Bakteri termofilik merupakan kelompok bakteri yang tumbuh pada kisaran suhu 45⁰C sampai 80⁰C dan potensial menghasilkan enzim selulase. Kawasan wisata Ie Suum, Kabupaten Aceh Besar merupakan salah satu sumber air panas di Aceh. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati karakteristik morfologi, potensi enzim selulase dan uji aktivitas dalam menghasilkan enzim selulase dari bakteri termofilik yang terdapat di Ie Suum. Metode isolasi bakteri termofilik menggunakan metode *pour plate* dan uji aktivitas enzim selulase menggunakan metode DNS (3,5-dinitrosalicylic Acid). Diperoleh 15 isolat yaitu 13 Gram positif dan 2 Gram negatif, didapatkan 2 genus yaitu genus *Bacillus* sp. dan genus *Pseudomonas* sp. Berdasarkan potensi enzim selulase dari 15 isolat menunjukkan diameter zona bening paling besar yaitu pada isolat TS6 3,67 cm, isolat TS7 2,33 cm, dan isolat TS10 4,00 cm. Hasil pengukuran aktivitas enzim dengan metode DNS diperoleh isolat TS6 $4,7 \times 10^{-3}$ U/mL, isolat TS7 $4,4 \times 10^{-3}$ U/mL, dan isolat TS10 $5,5 \times 10^{-3}$ U/mL.

AR - RANIRY

ABSTRACT

Name : Rahmatil Majidah
NIM : 180703042
Study Program : Biology
Title : Isolation and Activity Test of Cellulase Producing
Thermophilic Bacteria in the Ie Suum Tourism Area,
Aceh Besar District
Number of Pages : 53 Pages
Mentor I : Syafrina Sari Lubis, M.Si
Mentor II : Diannita Harahap, M.Si
Keywords : Thermophilic Bacteria, Cellulase Enzymes, Hot Water.

Thermophilic bacteria are a group of bacteria that grow at a temperature range of 45°C to 80°C and have the potential to produce cellulase enzymes. The tourist area of Ie Suum, Aceh Besar District is one of the hot springs in Aceh. This study aims to observe the morphological characteristics, cellulase enzyme potential and activity test in producing cellulase enzymes from thermophilic bacteria found in Ie Suum. The method of isolating thermophilic bacteria uses the pour plate method and testing the cellulase enzyme activity using the DNS (3,5-dinitrosalicylic Acid) method. 15 isolates were obtained, namely 13 Gram positive and 2 Gram negative, 2 genera were obtained, namely the genus *Bacillus* sp. and the genus *Pseudomonas* sp. Based on the potential of the cellulase enzyme, the 15 isolates showed the largest clear zone diameter, namely isolate TS6 3,67 cm, isolate TS7 2,33 cm, and isolate TS10 4,00 cm. The results of measuring enzyme activity using the DNS method obtained isolates TS6 $4,7 \times 10^{-3}$ U/mL, isolates TS7 $4,4 \times 10^{-3}$ U/mL, and isolates TS10 $5,5 \times 10^{-3}$ U/mL.

AR - RANIRY

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan petunjuk-Nya dalam menyelesaikan Skripsi dengan judul **“Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Selulase di Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.”** Shalawat dan salam penulis tujukan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman kebodohan menuju zaman yang penuh ilmu pengetahuan.

Skripsi adalah salah satu persyaratan untuk menyelesaikan mata kuliah wajib skripsi di Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Penulis dapat menyelesaikan skripsi tidak lepas dari bantuan dan bimbingan sebagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan ucapan terima kasih banyak kepada :

1. Bapak Dr. Ir Muhammad Dirhamsyah, M.T., IPU selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
2. Muslich Hidayat, M.Si selaku Ketua Prodi Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
3. Syafrina Sari Lubis, M.Si selaku Sekretaris Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
4. Arif Sardi, M.Si selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan saran.
5. Syafrina Sari Lubis, M.Si dan Diannita Harahap, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam menulis.
6. Ayu Nirmala Sari, M.Si, Kamaliah, M.Si, Raudhah Hayatillah, M.Si, Ilham Zulfahmi, M.Si, Lina Rahmawati, M.Si, Diannita Harahap, M.Si, dan Feiza Huslina, M.Sc selaku Dosen Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry.
7. Firman Arhas, M.Pd dan Noviana, S.Pd selaku Staff Prodi yang telah membantu segala keperluan mahasiswa.
8. Ayahanda Jabal Balawi, Ibunda Zubaidah, Abang Aulia Rahman, Adik Azanna Rahmat, Adik Rizki Maulana dan keluarga besar yang telah mendukung penulis dari awal studi sampai penulis Tugas Akhir ini selesai.

9. Teman-teman Biologi Leting 2018 dan abang serta kakak angkatan, teman dan orang-orang tersayang yang tidak dapat disebut satu persatu yang telah membantu memberikan semangat kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh sebab itu penulis berharap adanya kritikan dan saran bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang lain terutama untuk penulis sendiri.

Banda Aceh, 8 Maret 2023

Penulis,

Rahmatil Majidah



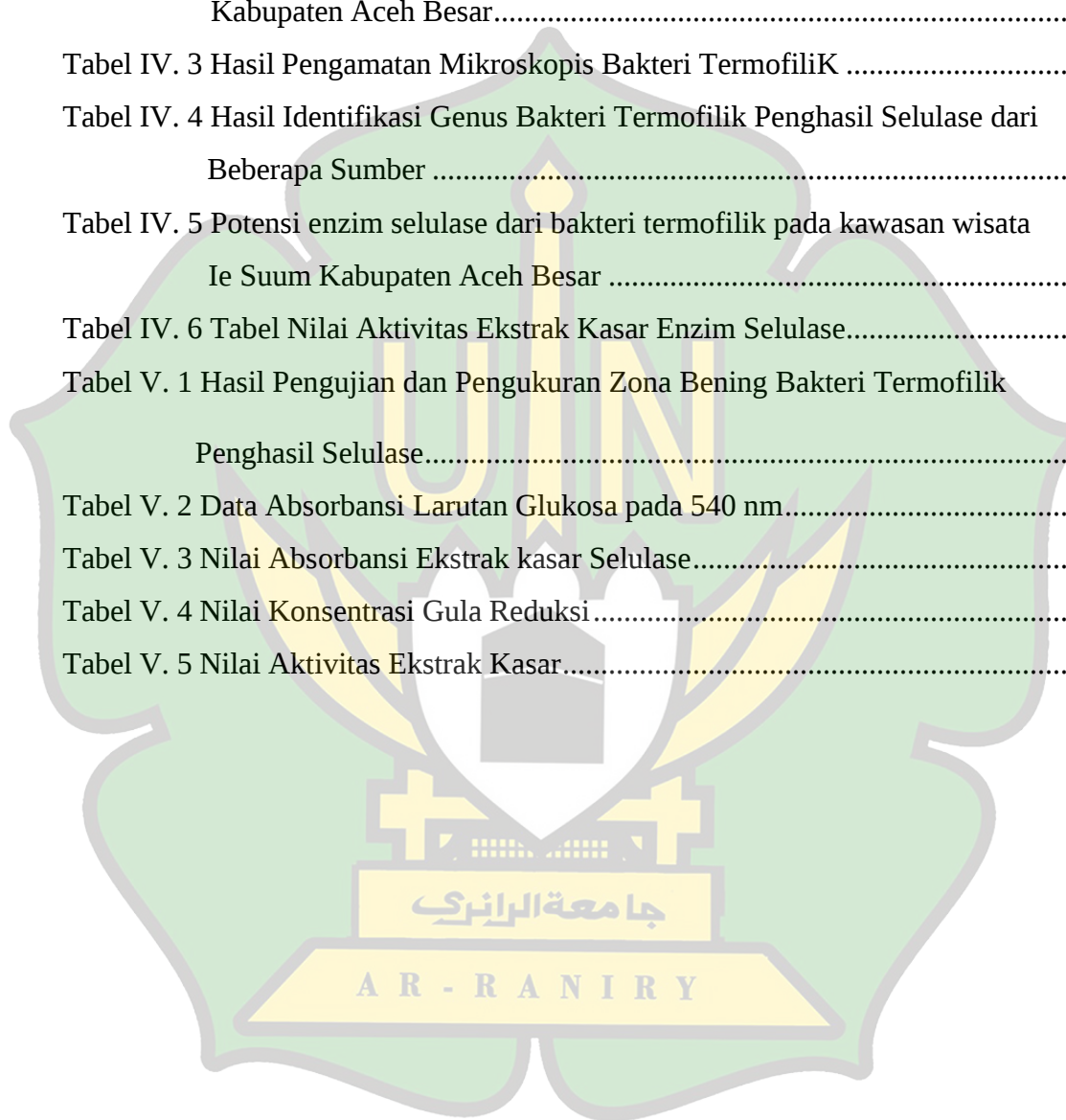
DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
PENGESAHAN	iii
PENGESAHAN TUGAS AKHIR.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA SKRIPSI.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.4 Manfaat Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
II.1 Kawasan Wisata Ie Suum.....	5
II.2 Bakteri Termofilik.....	6
II.3 Enzim Selulase Termofilik dan Aplikasinya.....	8
II.4 Pengukuran Aktivitas Selulase dengan Metode DNS	11
 BAB III METODE PENELITIAN	 13
III.1 Tempat dan Waktu Penelitian	13
III.2 Jadwal Penelitian.....	13
III.3 Objek Penelitian (Populasi dan Sampel).....	13
III.4 Alat dan Bahan Penelitian	14
III.5 Metode Penelitian.....	14
III.6 Prosedur Kerja.....	14
III.6.1 Pengambilan Sampel Air Panas	14
III.6.2 Sterilisasi Alat dan Bahan	14
III.6.3 Isolasi dan Pemurnian dari Air Panas	15
III.6.4 Parameter Pengamatan.....	15
III.6.4.1 Pengamatan Makroskopik.....	15

III.6.4.2	Pengamatan Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram	15
III.6.4.3	Pengamatan Mikroskopik dengan Pewarnaan Endospora.....	16
III.6.5	Uji Biokimia Mengikuti Metode (Cappuccino. & Sherman, 2014)	16
III.6.5.1	Uji Katalase	16
III.6.5.2	Uji Oksidase	16
III.6.5.3	Uji <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA)	17
III.6.5.4	Uji <i>Sulfide Indol Montility</i> (SIM).....	17
III.6.5.5	Uji <i>Simmon Citrate Agar</i> (SCA)	17
III.6.6	Uji Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik.....	17
III.6.7	Uji Bakteri Selulolitik Secara Kuantitatif	18
III.6.7.1	Produksi Ekstrak Kasar Enzim Selulase	18
III.6.7.2	Pembuatan Kurva Standar Glukosa.....	18
III.6.7.3	Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase dengan MetodeDNS.....	19
III.7	Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		20
IV.1	Hasil Penelitian	20
IV.1.1	Karakteristik Bakteri Termofilik Pada Kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.....	20
IV.1.2	Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar	25
IV.1.3	Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar	26
IV.2	Pembahasan Penelitian.....	27
IV.2.1	Karakteristik Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.....	27
IV.2.2	Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar	29
IV.2.3	Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar	30
BAB V PENUTUP.....		32
V.1	Kesimpulan.....	32
V.2	Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....		33
LAMPIRAN.....		38

DAFTAR TABEL

Tabel III. 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	13
Tabel IV. 1 Pengukuran Parameter suhu dan pH	20
Tabel IV. 2 Karakteristik Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.....	21
Tabel IV. 3 Hasil Pengamatan Mikroskopis Bakteri Termofilik	23
Tabel IV. 4 Hasil Identifikasi Genus Bakteri Termofilik Penghasil Selulase dari Beberapa Sumber	24
Tabel IV. 5 Potensi enzim selulase dari bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar	26
Tabel IV. 6 Tabel Nilai Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase.....	27
Tabel V. 1 Hasil Pengujian dan Pengukuran Zona Bening Bakteri Termofilik Penghasil Selulase.....	47
Tabel V. 2 Data Absorbansi Larutan Glukosa pada 540 nm.....	48
Tabel V. 3 Nilai Absorbansi Ekstrak kasar Selulase.....	49
Tabel V. 4 Nilai Konsentrasi Gula Reduksi.....	50
Tabel V. 5 Nilai Aktivitas Ekstrak Kasar.....	50



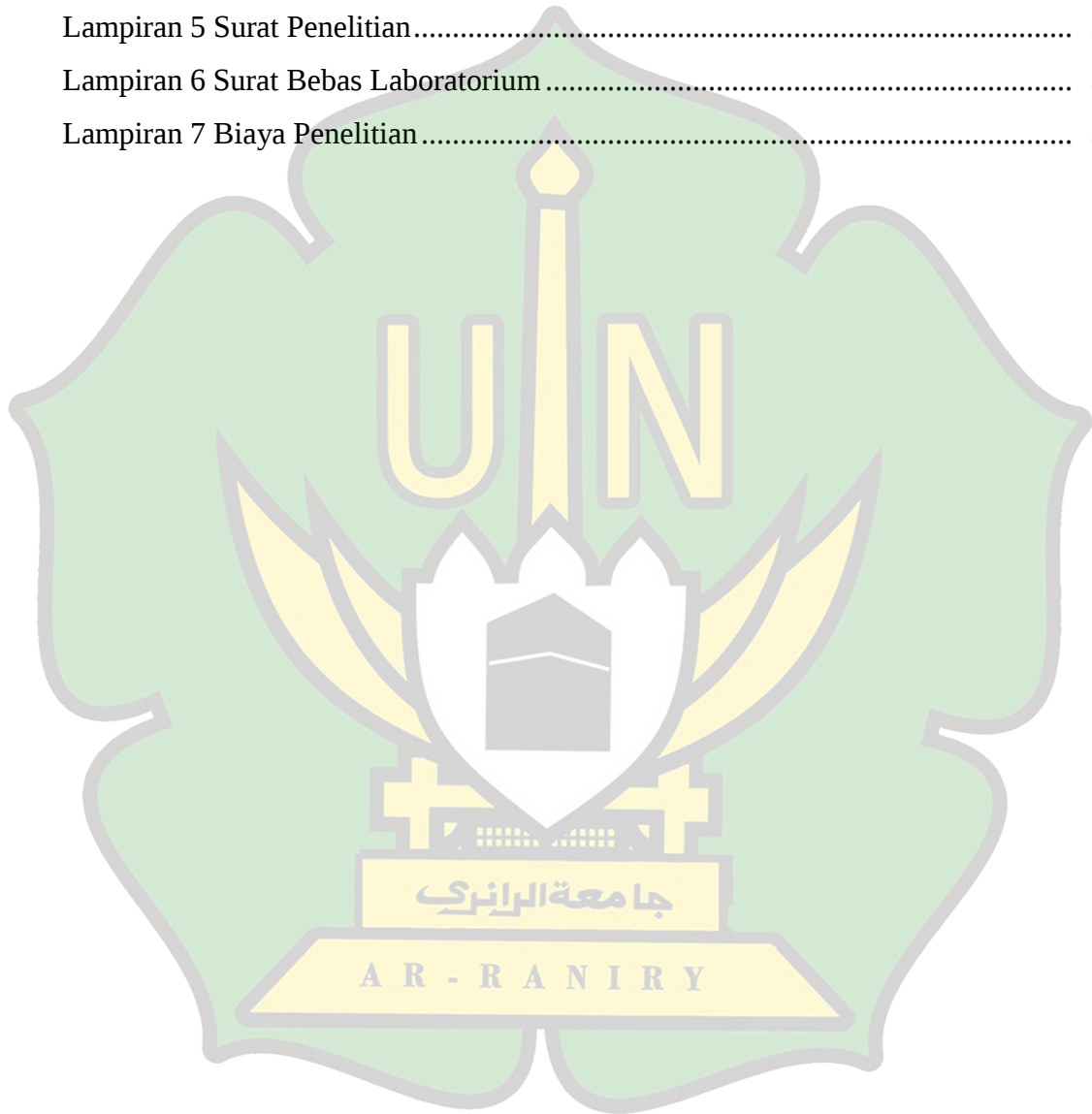
DAFTAR GAMBAR

Gambar II. 1. Suhu Pertumbuhan Bakteri.....	7
Gambar IV. 1 Pewarnaan Gram Bakteri Termofilik.....	21
Gambar IV. 2 Uji Biokimia Bakteri Termofilik.....	22
Gambar IV. 3 Pewarnaan Endospora Bakteri Termofilik.....	24
Gambar IV. 4 Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik.....	25



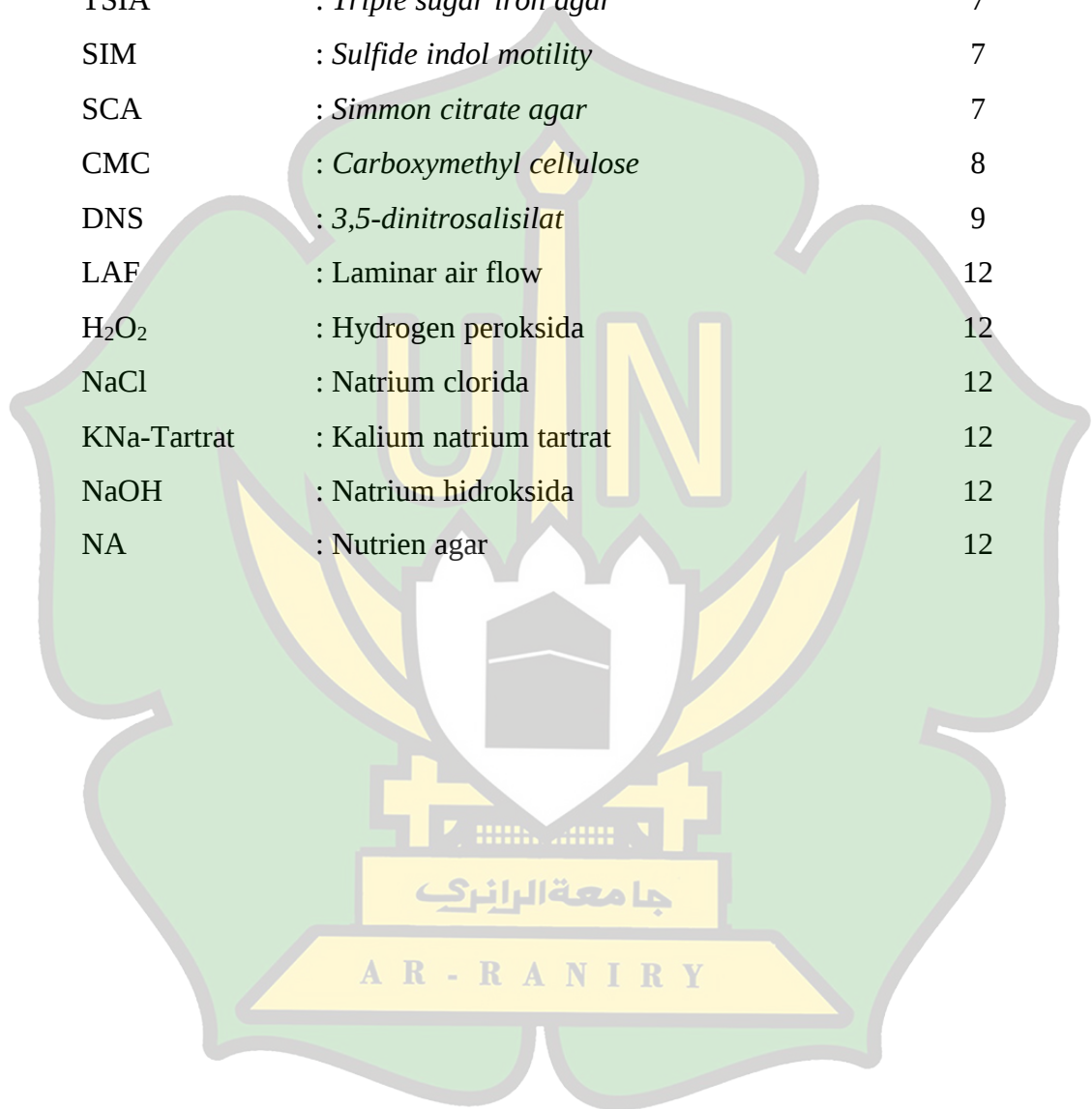
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian.....	38
Lampiran 2 Dokumentasi Kegiatan	39
Lampiran 3 Isolat Bakteri.....	41
Lampiran 4 Perhitungan Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Selulase	48
Lampiran 5 Surat Penelitian.....	51
Lampiran 6 Surat Bebas Laboratorium.....	52
Lampiran 7 Biaya Penelitian.....	53



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Nama	Pemakaian pertama kali pada halaman
TSIA	: <i>Triple sugar iron agar</i>	7
SIM	: <i>Sulfide indol motility</i>	7
SCA	: <i>Simmon citrate agar</i>	7
CMC	: <i>Carboxymethyl cellulose</i>	8
DNS	: <i>3,5-dinitrosalisilat</i>	9
LAF	: Laminar air flow	12
H ₂ O ₂	: Hydrogen peroksida	12
NaCl	: Natrium clorida	12
KNa-Tartrat	: Kalium natrium tartrat	12
NaOH	: Natrium hidroksida	12
NA	: Nutrien agar	12



BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Mikroorganisme termofilik merupakan mikroorganisme yang tumbuh di daerah ekstrim dan memiliki kemampuan menghasilkan enzim stabil pada suhu tinggi (Mohammad *et al.*, 2017). Bakteri termofilik adalah mikroorganisme yang dapat bertahan hidup dan tumbuh pada suhu ekstrim 45-80°C. Habitat bakteri termofilik kawasan gunung berapi daerah vulkanik dan di sumber air panas (Nanda *et al.*, 2017). Manfaat yang dihasilkan dari sumber mata air panas salah satunya ialah isolasi bakteri termofilik (Mahmudah *et al.*, 2016).

Mata air panas terbentuk di dasar gunung berapi karena aktivitas gunung berapi yang intens. Mata air panas bisa memiliki bau sulfur yang unik dan sangat kuat ketika memasuki kawasan pemandian air panas (Mahmudah *et al.*, 2016). Pencarian isolat mikroba termofilik di kawasan sumber air panas maupun daerah vulkanik di Indonesia selain memperkaya isolat bakteri termofilik yang tercatat di Indonesia juga diperoleh isolat baru sebagai sumber enzim (Simandjuntak & Samuel, 2018).

Enzim adalah bagian dari protein yang mengkatalisis reaksi kimia, dan enzim dapat diartikan sebagai protein katalitik yang memiliki kekhususan untuk reaksi katalitik dan molekul sebagai substratnya. Enzim bertindak sebagai biokatalisator dalam perubahan kimia. Enzim yang berfungsi menjadi katalis dalam berlangsungnya penguraian selulosa adalah enzim selulase (Pujiati *et al.*, 2018).

Enzim selulase ialah enzim yang berperan penting dalam biokonversi limbah organik selulosa menjadi glukosa, protein sel tunggal, dan tanol pakan ternak (Agustina *et al.*, 2019). Pemanfaatan enzim selulase tersebar luas di bidang industri seperti industri kertas dan industri energi terbarukan (Flimban *et al.*, 2019). Kelompok enzim selulase adalah endoglikanase, eksoglunase dan β -glukosidase yang merupakan kelompok enzim yang membagi selulosa menjadi monomer glukosa (Pujiati *et al.*, 2018).

Aplikasi industri membutuhkan enzim yang stabil pada suhu tinggi. Dalam industri, reaksi suhu tinggi sangat penting karena dapat memperlambat laju perpindahan massa dan memindahkan kesetimbangan ke arah pembentukan produk. Sehingga, penggunaan enzim dalam industri bioteknologi semakin membutuhkan enzim yang tahan pada suhu tinggi (Nanda *et al.*, 2017). Keuntungan mengisolasi enzim termostabil dalam industri yang memanfaatkan suhu tinggi umumnya meningkatkan laju reaksi, mengurangi potensi kontaminasi, dan stabilitas yang lebih besar selama penyimpanan yang lama (Mahestri *et al.*, 2021).

Habitat bakteri termofilik yang memperoleh enzim termostabil salah satunya pada sumber mata air panas. Dari bakteri termofilik dapat diisolasi berbagai enzim termostabil, salah satunya adalah enzim selulase (Huwae & Aditiawati, 2020). Enzim selulase yang ramah lingkungan digunakan pada industri tekstil teknologi enzimatis. Dengan meningkatnya kegunaan enzim namun enzim selulase yang dihasilkan masih terbatas atau masih sedikit sehingga dibutuhkan sumber isolat baru untuk memperoleh enzim selulase dari sumber air panas (Kurniawan *et al.*, 2020).

Berbagai penelitian mengenai bakteri termofilik telah dilakukan diantaranya adalah penelitian ElSharayidi *et al.*, (2020) yang mendapatkan 7 isolat bakteri termofilik yang berhasil diisolasi dengan kemampuan karbosimetil selulase dari sumber air panas Mesir di Ras-Sedr. Rukmi *et al.*, (2018) yang mendapatkan 7 isolat yang menghasilkan bakteri termofilik penghasil selulase di air panas Gedongsongo. Huwae & Aditiawati, (2020) yang mendapatkan 7 isolat yang menghasilkan bakteri penghasil selulase dari sumber air panas Sila.

Sumber air panas yang potensial untuk mengeksplorasi bakteri termofilik salah satunya kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar. Sumber air panas kawasan Ie Suum Kabupaten Aceh Besar memiliki suhu berkisar 85° C. Salah satu sumber air panas terletak di Aceh dan telah menjadi objek wisata pemandian air panas bagi masyarakat Aceh yang dinamakan dalam bahasa Aceh Ie Suum (air panas). Pemandian air panas ini terletak di kaki Gunung Meuh (Gunung Emas) desa Ie Suum, Kecamatan Masjid Raya, Kabupaten Aceh Besar yang aliran airnya

berasal dari Seulawah dan Kabupaten Aceh Besar berjarak 35 kilometer dari Kota Banda Aceh (Maretia *et al.*, 2021).

Eksplorasi sumber air panas tidak hanya digunakan dalam daya tarik wisata tetapi juga merupakan rumah terhadap bakteri seperti bakteri termofilik yang mempunyai kemampuan untuk memperoleh enzim selulase yang digunakan pada berbagai bidang industri. Peneliti sebelumnya yang telah dilakukan oleh Zuraidah *et al.*, (2020) yang telah memperoleh 2 isolat bakteri termofilik dalam menghasilkan amilase pada sumber air panas kawasan Ie Suum. Maka perlu adanya penelitian terhadap bakteri termofilik menghasilkan selulase yang belum sepenuhnya tereksplorasi pada pemandian air panas dan belum ada penelitian mengenai bakteri termofilik penghasil selulase di wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar. Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian tentang “Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Selulase di Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar”.

I.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana karakteristik bakteri termofilik yang didapat pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar ?
2. Bagaimana potensi enzim selulase dari bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar ?
3. Bagaimana aktivitas enzim selulase dari bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar ?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui karakteristik bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.
2. Mengetahui potensi enzim selulase dari bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.
3. Mengetahui aktivitas enzim selulase dari bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.

I.4 Manfaat Penelitian

1. Meningkatkan wawasan ilmu pengetahuan tentang bakteri termofilik penghasil selulase pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.
2. Sebagai informasi awal dan bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut terhadap bakteri termofilik penghasil selulase di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Kawasan Wisata Ie Suum

Sumber air panas adalah habitat bagi bakteri yang bersifat termofilik, seperti halnya bakteri termofilik terutama kelompok Actinobacteria, Proteobacteria dan Acidobacteria (Ovando-Chacon *et al.*, 2020). Mata air panas merupakan salah satu habitat bakteri termofilik yang menghasilkan enzim termostabil. Dari bakteri termofilik dapat diisolasi berbagai enzim termostabil salah satunya adalah enzim selulase (Huwae & Aditiawati, 2020).

Sumber air panas yang potensial mengeksplorasi bakteri termofilik yang menghasilkan selulase salah satunya kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar. Sumber air panas kawasan Ie Suum Kabupaten Aceh Besar memiliki suhu berkisar 85°C. Ie Suum merupakan sumber air panas terletak di Aceh dan telah menjadi objek wisata pemandian air panas bagi masyarakat Aceh yang dinamakan dalam bahasa Aceh Ie Suum (air panas). Pemandian air panas ini terletak di kaki Gunung Meuh (Gunung Emas) Desa Ie Suum, Kecamatan Mesjid Raya, Kabupaten Aceh Besar yang aliran airnya berasal dari Seulawah dan Kabupaten Aceh Besar berjarak 35 kilometer dari Kota Banda Aceh (Maretia *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil penelitian Mawati *et al.*, (2021) diperoleh bakteri termofilik yang termasuk ke dalam genus *Pseudomonas* sp. Mahestri *et al.*, (2021) diperoleh bakteri termofilik yang diidentifikasi ke dalam genus *Bacillus* karena memiliki koloni berbentuk filamentous, motil, bersifat oksidatif dan hasil uji katalase positif. Penelitian Zuraidah *et al.*, (2020) berhasil mengisolasi bakteri termofilik dari kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar yang diperoleh 2 isolat bakteri termofilik yang menghasilkan enzim amilase. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjut tentang bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim selulase.

II.2 Bakteri Termofilik

Bakteri termofilik mampu bertahan dan berkembang dalam kondisi suhu yang tinggi karena protein bakteri termofilik lebih stabil dan tahan panas dibandingkan dengan mesofil. Protein yang terdapat pada sel bakteri termofilik memiliki ikatan hidrofobik dan ikatan ionik yang sangat kuat. Komposisi membran sel pada bakteri termofilik tersusun oleh asam lemak jenuh sehingga dapat bersifat stabil pada suhu tinggi (Mawati *et al.*, 2021).

Terdapat tiga faktor yang mampu menyebabkan bakteri termofilik bertahan dan berkembang dalam kondisi suhu yang cukup tinggi diantaranya kandungan enzim dan protein yang lebih stabil serta tahan akan panas dibandingkan dengan bakteri mesofilik. Molekul pensintesis protein (seperti ribosom dan komponen lainnya) yang cukup stabil terhadap panas, kandungan enzim dan protein lebih stabil dan tahan panas dibandingkan dengan mesofil, membran lipid sel termofilik mengandung banyak asam lemak jenuh yang membentuk ikatan hidrofobik yang cukup kuat (Nadila, 2019).

Kemampuan hidup dari mikroorganisme termofilik ini berhubungan dengan struktur selnya yang memiliki kelebihan dalam beberapa hal, yaitu :

a. Struktur membran sel

Membran sel setiap makhluk hidup tersusun atas senyawa lipid dan protein yang disebut lipoprotein. Pada umumnya bagian lipid dari membran sel makhluk hidup dihubungkan oleh ikatan ester, sedangkan pada organisme termofili senyawa lipid membran selnya mengandung ikatan ester yang terbentuk lewat proses kondensasi dari gliserol atau senyawa polio kompleks lainnya dengan alkohol isoprenoid yang mengandung 20, 25 atau 40 atom karbon. Senyawa ester gliserol pada *Archaeobacteria* ini mengandung 2,3 *O-sn-gliserol* yang menyebabkan struktur lipoprotein dari membran sel termofili tersebut lebih stabil (Villanueva *et al.*, 2021).

b. Struktur protein

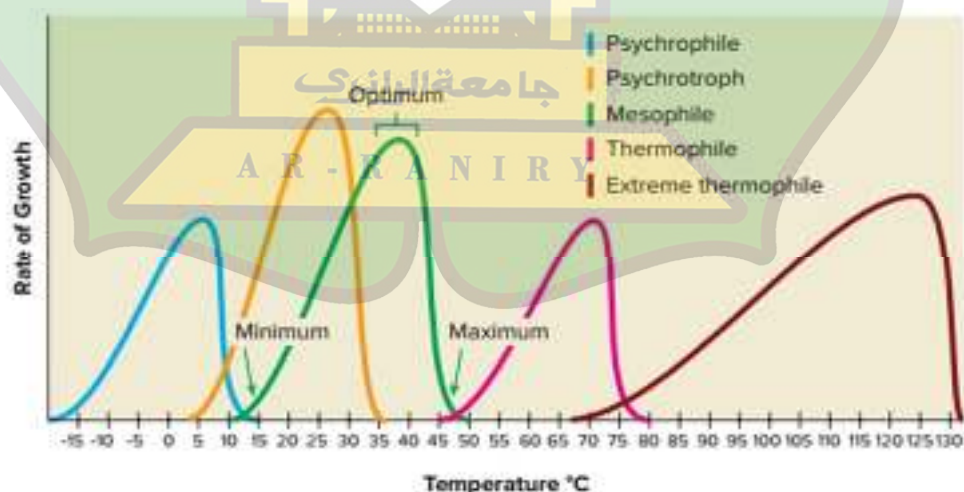
Chaperonin merupakan satu jenis protein yang merupakan jenis protein yang tidak umum dijumpai pada protein-protein fungsional lainnya di dalam sel. Protein ini berperan dalam mempertahankan kembali struktur tiga dimensi dari protein fungsional sel dari denaturasi suhu lingkungan yang bersifat ekstrim

(Attri *et al.*, 2018). Protein ini memiliki struktur yang tetap stabil, tahan terhadap denaturasi dan proteolisis. Protein ini dapat membantu organisme termofilik mengembalikan fungsi aktivitas enzimnya bila denaturasi oleh suhu tinggi (Nadila, 2019).

c. Struktur DNA Gyrase

DNA gyrase merupakan salah satu anggota kelompok enzim topoisomerase yang berperan dalam mengontrol topologi DNA suatu sel dan memegang peran penting dalam proses replikasi dan transkripsi DNA. Semua jenis topoisomerase dapat merelaksasikan DNA tetapi hanya DNA Gyrase yang dapat mempertahankan struktur DNA tetap terbentuk supercoil. DNA gyrase disusun oleh 90-150 pasangan basa-N DNA. DNA gyrase ini selalu dijumpa pada organisme yang hidup di lingkungan di atas 70 °C dan juga dapat dijumpai pada organisme yang hidup pada suhu sekitar 60 °C. DNA ini merupakan salah satu kelengkapan sel dari organisme termofilik (Nadila, 2019).

Bakteri termofilik dapat bertahan hidup dan bereproduksi dalam keadaan suhu yang ekstrim antara 45-122°C. Selain bakteri, mikroba lain yang tergolong bakteri termofilik adalah kelompok Archaea yang banyak dijumpa pada mata air panas di darat dan laut dalam (El-Gayar *et al.*, 2017). Karakteristik mikroba di habitat yang ekstrim seperti mata air panas dicirikan oleh enzim adaptif karena mengandung komponen khas yang mampu menjaga kestabilan dan konformasi fleksibel, sehingga dapat berfungsi secara optimal dalam kondisi tersebut (Sang *et al.*, 2020).



Gambar II. 1. Suhu Pertumbuhan Bakteri
Sumber; (Surya, 2019)

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang hidup pada kondisi ekstrim. Bakteri yang hidup pada suhu ekstrim memiliki kemampuan khusus dalam mempertahankan hidupnya. Dalam penelitian ini dilakukan 5 uji biokimia yakni uji katalase, uji oksidasi, uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji *Sulfide Indol Montility* (SIM), uji *Simmon Citrate Agar* (SCA) (Bahri *et al.*, 2021).

Bakteri termofilik adalah bakteri yang menghasilkan enzim termofilik karena enzim ini sanggup tahan terhadap suhu tinggi. Manfaat dari isolasi enzim termostabil pada industri yang umumnya menggunakan suhu tinggi karena laju reaksi yang lebih cepat, potensi kontaminasi yang lebih sedikit, dan stabilitas yang lebih besar dengan penyimpanan yang lebih lama. Beberapa keuntungan ini membuat enzim selulase menguntungkan untuk pengembangan lebih lanjut (Mahestri *et al.*, 2021).

Bakteri termofilik telah menarik perhatian karena kemampuannya menghasilkan zat resisten seperti enzim termofilik. Kelompok enzim termofilik antara lain amilase, selulase, xylanase, chitinase, protease, dan lipase (Alrumman *et al.*, 2018). Di Indonesia, telah banyak penelitian tentang bakteri termofilik baik dari segi keanekaragamannya maupun potensinya untuk keperluan industri (Ardhi *et al.*, 2020).

Berbagai penelitian tentang bakteri termofilik penghasil selulase telah dilakukan diantaranya adalah penelitian ElSharayidi *et al.*, (2020) yang mendapatkan 7 isolat bakteri termofilik yang berhasil diisolasi dengan kemampuan karbosimetil selulase dari sumber air panas Mesir di Ras-Sedr. Rukmi *et al.*, (2018) yang mendapatkan 7 isolat yang menghasilkan bakteri termofilik penghasil selulase di air panas Gedongsongo. Huwae & Aditiawati, (2020) yang mendapatkan 7 isolat yang menghasilkan bakteri penghasil selulase dari sumber air panas Sila.

II.3 Enzim Selulase Termofilik dan Aplikasinya

Enzim adalah bagian dari protein yang mengkatalisis reaksi kimia dan enzim dapat dipahami sebagai protein khusus yang mengkatalisis reaksi katalitik dan molekul yang menjadi substratnya. Enzim bertindak sebagai biokatalisator dalam perubahan kimia tanpa ikut bereaksi. Enzim yang berperan menjadi katalisator hidrolisis selulosa secara terus menerus adalah enzim selulase (Pujiati *et al.*, 2018).

CMC (*carboxymethyl cellulase*) digunakan sebagai substrat untuk mendeteksi keberadaan enzim selulase. Dalam reaksi ini, CMC dihidrolisis oleh selulase menjadi glukosa. Hasil uji hidrolisis CMC positif ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri saat dituang *Congo red* di area yang tidak ditumbuhi bakteri berwarna merah. *Congo red* membentuk ikatan hidrogen dengan polisakarida sehingga menghasilkan warna merah (Nuritasari *et al.*, 2017).

Bakteri selulosa mampu mengubah selulosa menjadi sumber karbon dan energi dengan memecahnya menjadi monomer glukosa. Selulosa bakteri untuk hidrolisis selulosa sebagai penghasil selulase. Setiap bakteri selulosa menghasilkan kompleks enzim selulase berbeda tergantung pada gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Enzim selulase ialah biokatalisator yang berperan dalam mengkatalis hidrolisis selulosa membentuk rantai pendek selulosa atau oligosakarida yang selanjutnya akan diubah menjadi glukosa (Mokodompit *et al.*, 2020).

Selulosa adalah komponen utama penyusun dinding sel tumbuhan dan salah satu polimer paling melimpah didapatkan di alam. Pada sumber air panas terdapat selulosa yang menyebabkan mikroorganisme termofilik memanfaatkan limbah tersebut sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Faktor ini menjadikan kesempatan terbaik bagi mikroorganisme termofilik untuk menghasilkan enzim hidrolitik ekstraseluler seperti selulase di sumber air panas (Huwae & Aditiawati, 2020).

Selulase merupakan kelompok enzim yang dapat mengkatalis hidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik dalam selulosa, selodekstrin, selobiosa dan turunan selulosa lainnya. Molekul tersebut hidrolisis menjadi unit-unit monomer yang lebih kecil, seperti glukosa. Enzim ini mampu menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik Siantar residu glikosil melalui mekanisme hidrolisis asam. Struktur selulase terdiri atas satu katalitik, daerah pengikatan selulosa, dan rantai terglukosilasi. Selulase diklasifikasikan menjadi 3 kelompok enzim selulase adalah endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase yang merupakan kelompok enzim yang membagi selulosa menjadi monomer glukosa (Pujiati *et al.*, 2018).

Ketiga komponen enzim tersebut bekerja sama dalam menghidrolisis selulosa yang tidak dapat larut menjadi glukosa sehingga aktivitas gabungan dari ketiga enzim tersebut dapat diukur dengan mengidentifikasi jumlah glukosa yang

dihasilkannya (Nadila, 2019). Endoglukanase merupakan komponen selulase yang menghidrolisis daerah amorf selulosa secara acak. Hidrolisis oleh enzim ini membentuk oligosakarida dengan panjang rantai yang berbeda-beda dan membentuk ujung rantai nonpereduksi baru (Rahmasyitha *et al.*, 2018).

Endoglukanase selalu ditemukan dalam mikroba selulotik, baik fungi maupun bakteri. Endoglukanase menghidrolisis selodekstrin dan turunan selulosa lain, seperti Carboxymethylcellulose (CMC). Enzim ini memiliki aktivitas tinggi terhadap substrat CMC sehingga disebut pula dengan CMCase. Eksoselobiohidrolase (eksoglukanase) adalah komponen enzim yang produk hidrolis utamanya adalah selobiosa. Enzim ini memecah selulosa dengan cara menghilangkan ujung akhir gugus selobiosa pada rantai selulosa (Rendy *et al.*, 2022). Eksoglukanase memiliki aktivitas tinggi dalam menghidrolisis selulosa kristal tetapi sangat rendah pada selulosa amorf (Nadila, 2019).

Selobiosa juga memiliki kemampuan dalam menghidrolisis selotriosa maupun selotetraosa yang merupakan hasil kerja endoglukanase. Kerja sama endoglukanase dan eksoglukanase dapat menghasilkan hidrolisis selulosa yang optimum. β -glukosidase merupakan komponen selulase yang memutuskan unit glukosa secara spesifik dari ujung nonpereduksi dari seloligosakarida (Irawati, 2016).

Enzim ini tidak menghidrolisis CMC atau selulosa tetapi menghidrolisis seloligosakarida, pNPG dan selobiosa menjadi glukosa. Komponen enzim ketiga dari selulase ini, bertugas dalam mengatur seluruh proses selulotik dan merupakan enzim terpenting meskipun tidak beraksi secara langsung dalam menghidrolisis selulosa. Hal tersebut dikarenakan kemampuan enzim ini dalam menghidrolisis selobiosa yang merupakan penghambat bagi aktivitas endoglukanase dan eksoglukanase dalam menghidrolisis selulosa (Nadhifah, 2021).

Efektivitas biokonversi selulosa tergantung dari sumber selulase, jenis substrat selulosa, dan kondisi optimum untuk produksi dan aktivitas enzim (Rendi *et al.*, 2022). Aktivitas total selulase ditentukan dari aktivitas campuran yang menghidrolisis bahan yang mengandung selulosa dan menghasilkan produk akhir berupa glukosa. Aktivitas ini menggambarkan pengaruh dari kerja ketiga enzim yang berbeda dan pengaruh hambatan dari produk akhir. Secara umum, hidrolisis selulosa oleh kompleks selulase terbagi ke dalam tiga tahapan utama.

Tahap pertama dilakukan oleh enzim endoglukanase. Enzim ini menyerang daerah amorf dari selulosa secara acak dan membentuk ujung-ujung nonpereduksi yang akan memudahkan kerja eksoglukanase. Tahapan selanjutnya dilakukan oleh eksoglukanase yang menghidrolisis daerah kristal dari selulosa dengan melepaskan selobiosa. Selobiosa akan dihidrolisis oleh β -glukosidase menghasilkan glukosa (Nadila, 2019).

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu pH, suhu, konsentrasi substrat, dan inhibitor (Puspitasari & Ibrahim, 2021). Enzim selulase yang ramah lingkungan digunakan pada industri tekstil teknologi enzimatis. Dengan meningkatnya kegunaan enzim namun enzim selulase yang dihasilkan masih terbatas atau masih sedikit sehingga dibutuhkan sumber isolat baru untuk memperoleh enzim selulase dari sumber air panas (Kurniawan *et al.*, 2020). Enzim selulase merupakan enzim yang berperan penting dalam konversi biologis sampah organik dari selulosa menjadi glukosa, protein uniseluler, tanol pakan ternak, dan lain-lain (Agustina *et al.*, 2019). Penggunaan enzim selulase tersebar luas dalam aplikasi industri seperti pembuatan kertas dan energi terbarukan (Flimban *et al.*, 2019).

Aplikasi industri membutuhkan enzim yang stabil pada suhu tinggi. Dalam industri, reaksi suhu tinggi sangat penting karena dapat memperlambat laju perpindahan massa dan memindahkan keseimbangan ke arah pembentukan produk. Sehingga, penggunaan enzim dalam industri bioteknologi semakin membutuhkan enzim yang tahan pada suhu tinggi (Nanda *et al.*, 2017).

II.4 Pengukuran Aktivitas Selulase dengan Metode DNS

Penentuan aktivitas enzim diperoleh dengan mengukur kandungan gula pereduksi selama hidrolisis enzimatis. Metode DNS (*3,5-dinitrosalicylic Acid*) umum digunakan (Irawati, 2016). Metode DNS menggunakan pereaksi DNS sebagai pengukuran mikroba dalam produksi gula reduksi. Metode ini dapat diterapkan pada reaksi yang sangat kecil karena mempunyai tingkat akurasi yang tinggi. Metode DNS terpilih karena lebih mudah digunakan pada pengukuran eksperimental (Putri, 2016).

Aktivitas enzim ditentukan dengan menentukan konsentrasi gula pereduksi menggunakan kurva glukosa standar. Glukosa adalah gula pereduksi yang

dihasilkan hidrolisis substrat oleh enzim selulase. Besarnya aktivitas enzim selulase akan berpengaruh pada kadar gula reduksi yang diperoleh (Azizah, 2017).

Aktivitas enzim selulase dapat ditetapkan dari nilai absorbansinya untuk mendapatkan konsentrasi standar glukosa. Kemudian hasil pengukuran dihitung menggunakan rumus sampai dihasilkan nilai aktivitas dalam satuan U/mL. Dalam kondisi pengujian satu unit adalah jumlah enzim yang diperlukan untuk memecah satu μ mol selulosa menjadi gula pereduksi per menit dalam kondisi pengujian dengan perhitungan sebagai berikut (Nadhifah, 2021).

$$\text{Aktivitas Selulase} = \frac{C}{T \times \text{BM glukosa}} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan :

- C = Konsentrasi gula pereduksi (ppm)
- H = Volume Enzim substrat (mL)
- E = Volume enzim (mL)
- T = Waktu inkubasi (menit)
- BM glukosa = Berat molekul glukosa (180 g/mol)

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan bulan 18 Desember 2022 hingga 7 Februari 2023. Isolasi dan uji aktivitas bakteri termofilik penghasil enzim selulase di kawasan wisata Ie Suum dilakukan di Laboratorium Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.

III.2 Jadwal Penelitian

Penelitian ini dilakukan sesuai dengan kegiatan pada tabel di bawah ini :

Tabel III. 1. Jadwal Pelaksanaan Penelitian

No	Aktivitas	Desember			Januari				Februari
		2	3	4	1	2	3	4	1
1	Penyiapan awal media dan sampel bakteri termofilik								
2	Isolasi bakteri termofilik dan pemurnian bakteri termofilik								
3	Identifikasi dan pengujian aktivitas enzim selulase								
4	Analisis pengolahan dan penyusunan data								

III.3 Objek Penelitian (Populasi dan Sampel)

Objek pada penelitian ini adalah bakteri termofilik penghasil selulase yang diisolasi dari kawasan wisata di Ie Suum Kabupaten Aceh Besar. Sampel bakteri termofilik diambil sampelnya dari lokasi wisata Ie Suum dan sampel yang dihasilkan akan diteliti lebih lanjut di Laboratorium Mikrobiologi Gedung Multifungsi Universitas Negeri Ar-Raniry Banda Aceh untuk isolasi dan uji aktivitas bakteri termofilik penghasil selulase.

III.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, mikropipet, cawan petri, batang L, ose, labu erlenmeyer, *hot plate*, *magnetic stirrer*, timbangan analitik, mikroskop, oven, kaca benda, inkubator, tabung reaksi, batang pengaduk, penutup kaca benda, jangka sorong, *autoklaf*, *Laminar Air Flow* (LAF), bunsen, termos, lemari es, penggaris, *vortex*, *kuvet*, dan *spectrofotometer uv-vis*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air panas yang diambil dari kawasan wisata Ie Suum, medium *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), media *Sulfide Indol Motility* (SIM), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media *Simmon Citrate Agar* (SCA), reagen *Hydrogen peroksida* (H_2O_2), *oxidase strip*, larutan *congo red* 1 %, Nutrien agar, reagen pewarnaan Gram (safranin, kristal violet, iodine, alkohol 70%), reagen 3,5-dinitrosalisilat (DNS), kertas label, aquades, kapas, glukosa, *tissue*, aluminium foil, reagen *kovacs*, reagen KNa-Tartrat 40%, NaCl 1 M, *malachite green* dan NaOH 2 N.

III.5 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Data yang didapatkan melingkupi karakteristik makroskopis, mikroskopis, uji *screening*, identifikasi secara biokimia dan aktivitas enzim selulase yang terdapat di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.

III.6 Prosedur Kerja

III.6.1 Pengambilan Sampel Air Panas

Sampel air panas di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar diambil sebanyak 200 mL, diukur suhu dan pH air pada tempat pengambilan sampel. Sampel air panas dimasukkan dalam termos. Selanjutnya sampel air panas dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Gedung Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry di Banda Aceh untuk diteliti lebih lanjut.

III.6.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua bahan dan alat yang akan digunakan dicuci dan dikeringkan. Alat yang tahan suhu tinggi dibungkus dengan kertas buram dan disterilkan selama 1 jam dalam oven pada suhu 180°C. Media dan alat yang tidak tahan

suhu tinggi disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.6.3 Isolasi dan Pemurnian dari Air Panas

Air panas diambil dari termos yang berisi air panas dari kawasan wisata Ie Suum. 0,1 µl diambil dituang dalam media CMC agar menggunakan metode tuang (*pour plate*). Kemudian diinkubasi pada suhu 68°C selama 24 jam (Zuraidah *et al.*, 2020). Pemurnian bakteri dilakukan dengan isolat diambil isolat dengan ose dan diinokulasikan ke dalam media CMC agar menggunakan metode gores dan diinkubasi pada suhu 68°C selama 24 jam. Hasil pemurnian dibuat duplikatnya pada agar miring dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 68°C (Sembiring, 2017).

III.6.4 Parameter Pengamatan

III.6.4.1 Pengamatan Makroskopik

Karakteristik morfologi dilakukan dengan membiakkan isolat di media selektif selanjutnya diamati melalui pandangan atas pada koloni bakteri yang berbentuk bulat, filamen, berserat, kosentrik, filiform, rhizoid, dan kompleks. Pengamatan permukaan koloni bakteri dilakukan dari bentuk tonjolan yaitu datar, timbul, konveks atau berbukit. Bentuk koloni bakteri jika dilihat dari tepi berbentuk bergelombang, bercabang, halus, silat, tidak teratur. Pengamatan akhir pada warna koloni bewarna putih, abu-abu, kekuningan dan hampir bening (Nadhifah, 2021).

III.6.4.2 Pengamatan Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan diambil 1 ose isolat murni diletakkan di atas kaca benda yang telah disterilkan terlebih dahulu, kemudian ditambahkan satu tetes akuades, dioleskan hingga membentuk lapisan tipis kemudian diafiksasi di atas bunsen. Selanjutnya diberi 1 tetes larutan kristal violet keringkan selama 30 detik, bilas dengan akuades dan keringkan preparat dengan dianginkan. Diberi 1 tetes larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya bilas menggunakan akuades dan keringkan di udara. Setelah kering, ditambahkan larutan alkohol 70% sebagai larutan peluntur sampai menutupi permukaan bakteri dan

dibiarkan selama 15 detik, selanjutnya bilas menggunakan akuades. Setelah kering ditambahkan larutan safranin dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya bilas menggunakan akuades dan keringkan. Setelah kering diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 10x100. Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui jenis Gram dari isolat bakteri yang merupakan penentuan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel (Kurnia *et al.*, 2020).

III.6.4.3 Pengamatan Mikroskopik dengan Pewarnaan Endospora

Pewarnaan Endospora diambil 1 ose isolat bakteri biakan murni, disuspensikan ke dalam akuades steril yang terdapat preparat dan dilakukan secara aseptis. Preparat afiksasi di atas bunsen, kemudian ditetesi dengan *malachite green* dan dibiarkan di atas penangas air selama 10 menit. Preparat diangkat dan dibiarkan dingin, kemudian dibilas dengan air mengalir. Preparat ditetesi safranin dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dicuci dengan air mengalir dan keringkan. Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 10x100. Uji positif ditandai berwarna hijau dan negatif berwarna merah (Fitria, 2021).

III.6.5 Uji Biokimia Mengikuti Metode (Cappuccino. & Sherman, 2014)

III.6.5.1 Uji Katalase

Pengamatan uji katalase diambil 1 ose biakan murni, selanjutnya diletakkan di atas kaca objek dan ditetaskan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hasil uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara di sekitar koloni.

III.6.5.2 Uji Oksidase

Pengamatan uji oksidasi dengan mengolesi bakteri dalam cawan menggunakan kertas oksidase *strip*. Ditunggu reaksi selama 15 detik, hasil negatif ditunjukkan munculnya warna merah muda sedangkan hasil positif ditunjukkan munculnya warna ungu.

III.6.5.3 Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Isolat bakteri termofilik diinokulasikan dengan ose secara aseptik pada medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 68°C. Uji TSIA dengan memperhatikan warna tabung pada bagian lereng dan dasar serta gas yang terbentuk pada bagian bawah tabung, dan hasil positif ditandai dengan adanya gas.

III.6.5.4 Uji *Sulfide Indol Montility* (SIM)

Isolat bakteri diambil 1 ose dan ditusuk ke dalam medium SIM datar kemudian inkubasi pada suhu 68°C selama 24 jam. Hasil uji positif setelah pemberian reagen *kovacs* ditunjukkan terbentuknya cincin merah, uji mortalitas ditunjukkan tanda tusukan karena pergerakan isolat.

III.6.5.5 Uji *Simmon Citrate Agar* (SCA)

Isolat diinokulasi pada media SCA miring vertikal menggunakan metode zigzag pada sisi miring dan ditusuk pada bagian bawah. Media diinkubasi pada suhu 68°C selama 24 jam dan diamati perubahannya. Uji positif ditunjukkan dengan berubahnya warna media menjadi biru, dan uji negatif ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna media.

III.6.6 Uji Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik

Bakteri selulase murni diinokulasikan dengan ditotolkan pada media CMC dalam cawan petri dan inkubasi pada suhu 68°C selama 24 jam. *Screening* bakteri selulase dilakukan dengan menuangkan larutan *congo red* 1% ke dalam cawan petri dan diamkan selama 15 menit. Kemudian bilas dengan larutan NaCl 1 M sebanyak tiga kali selama 15 menit. (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

Proses hidrolisis selulase ditandai sekitar koloni bakteri terbentuknya zona bening. Semakin besar nilai indeks selulase maka semakin besar enzim yang dihasilkan oleh bakteri secara kualitatif. Daya degradasi selulase dikategorikan pada nilai indeks selulase dengan nilai $IS \leq 1$ dikategorikan rendah, sedangkan kategori tinggi apabila nilai $IS \geq 2$. Diukur zona bening yang

dihasilkan dan dihitung nilai indeks selulase (IS) menggunakan rumus (Puspawati *et al.*, 2018):

$$\text{Indeks Selulase} = \frac{DB - DK}{DK}$$

Keterangan :

DK = Diameter koloni (cm)

DB = Diameter zona bening (cm)

III.6.7 Uji Bakteri Selulolitik Secara Kuantitatif

III.6.7.1 Produksi Ekstrak Kasar Enzim Selulase

Isolat bakteri selulolitik termofilik diinokulasikan sebanyak 2 ose dalam 50 mL media CMC dan diinkubasi pada *shaker* inkubator dengan kecepatan 125 rpm pada suhu 68°C selama 18 jam. Ekstrak kasar enzim diperoleh dengan mesentrifugasi kultur pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh adalah ekstrak kasar enzim selulase dan digunakan untuk aktivitas enzim (Fitria, 2021).

III.6.7.2 Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Larutan standar glukosa dibuat dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm. Selanjutnya dari setiap konsentrasi diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. 1 mL larutan DNS ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan. Campuran diinkubasi pada air mendidih selama 15 menit sampai larutan berwarna merah-coklat. (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017).

1 mL larutan KNa-Tartrat 40% ditambahkan. Setelah dingin ditambahkan aquades hingga volumenya 10 mL dan dihomogenkan. kemudian diukur absorbansinya dengan tiga kali pengulangan menggunakan *spektrofotometer* panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi yang didapat diolah menggunakan *Microsoft Excel* dengan nilai absorbansi sebagai sumbu x dan nilai konsentrasi sebagai sumbu y, hingga diperoleh persamaan reaksi dan regerasinya (Nadhifah, 2021).

III.6.7.3 Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase dengan Metode DNS

Sebanyak 1 mL enzim ekstrak kasar digabung dengan 1 mL substrat (CMC 1%) kemudian diinkubasi selama 40 menit pada suhu 68°C. Diambil 1 mL larutan campur, ditambahkan 1 mL reagen DNS kemudian homogenkan. Mulut tabung ditutup menggunakan aluminium foil dan panaskan selama 15 menit dengan air mendidih hingga larutan bewarna cokelat kemerahan. Selanjutnya tambahkan aquades sampai volume 10 mL dan homogenkan. Kemudian menggunakan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 540 nm diukur absorbansinya. Aktivitas enzim selulase disebutkan dalam satuan U/mL. Dalam kondisi pengujian satu unit adalah jumlah enzim yang diperlukan untuk memecah satu μ mol selulosa menjadi gula pereduksi per menit dalam kondisi pengujian dengan perhitungan sebagai berikut (Nadhifah, 2021).

$$\text{Aktivitas Selulase} = \frac{C}{T \times \text{BM glukosa}} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan :

- C = Konsentrasi gula pereduksi (ppm)
- H = Volume Enzim substrat (mL)
- E = Volume enzim (mL)
- T = Waktu inkubasi (menit)
- BM glukosa = Berat molekul glukosa (180 g/mol)

III.7 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan metode deskriptif dan metode eksperimen. Data yang diperoleh yaitu data kualitatif dan data kuantitatif. Analisis data secara kualitatif dilakukan secara deskriptif yaitu berdasarkan jumlah isolat dan karakteristik morfologi bakteri termofilik penghasil enzim selulase baik secara makroskopik dan secara mikroskopik yang disajikan dalam bentuk gambar. Sedangkan data kuantitatif dianalisis berdasarkan dari pengukuran zona bening dan uji aktivitas enzim selulase yang terdapat di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1 Karakteristik Bakteri Termofilik Pada Kawasan wisata Ie Suum

Kabupaten Aceh Besar

Penelitian ini menggunakan bakteri termofilik yang ditumbuhkan pada CMC agar dari sampel air panas yang diambil dari kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar. Berdasarkan hasil pengukuran parameter suhu dan pH pada air panas di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar seperti pada Tabel IV.1.

Tabel IV. 1 Pengukuran parameter suhu dan pH pada air panas di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Sampel	Suhu (°C)	pH
Air panas	68°C	7,2

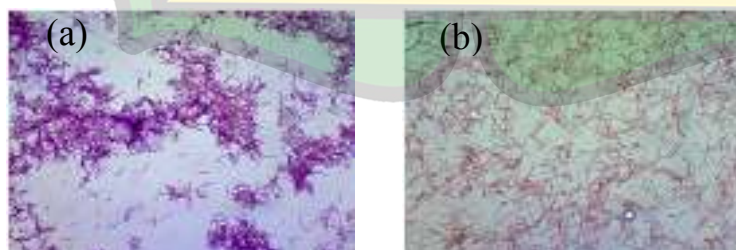
Sampel air panas di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar memiliki suhu 68°C dan memiliki pH yaitu 7,2 (netral) seperti pada tabel IV.1. Kemudian sampel ditumbuhkan pada media CMC agar sehingga diperoleh koloni-koloni bakteri termofilik yang diamati karakteristiknya. Hasil pengamatan karakteristik makroskopis diperoleh 15 isolat bakteri yang memiliki karakteristik yang berbeda-beda seperti pada tabel IV.2 karakteristik bakteri termofilik penghasil selulase di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.

Tabel IV. 2 Karakteristik bakteri termofilik yang didapat pada kawasan wisata
Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Kode Isolat	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi
TS1	Bulat	Putih-krim	Rata	Cembung
TS2	Bulat	Kuning	Rata	Cembung
TS3	Berakar	Putih-krim	Berbenang	Timbul datar
TS4	Bulat	Kuning	Rata	Cembung
TS5	Bulat	Putih-krim	Rata	Cembung
TS6	Bulat	Putih-krim	Rata	Cembung
TS7	Berbenang	Putih-krim	Bergerigi	Timbul datar
TS8	Berakar	Putih-bening	Berbenang	Datar
TS9	Tidak teratur	Putih-krim	Bergelombang	Datar
TS10	Tidak teratur	Putih-krim	Bergelombang	Datar
TS11	Bulat	Kuning	Rata	Cembung
TS12	Bundar	Kuning	Rata	Cembung
TS13	Berakar	Putih-krim	Bergerigi	Timbul datar
TS14	Berbenang	Putih-krim	Bergerigi	Timbul datar
TS15	Berakar	Putih-krim	Bergerigi	Timbul datar

Keterangan : TS = Termofilik Selulase

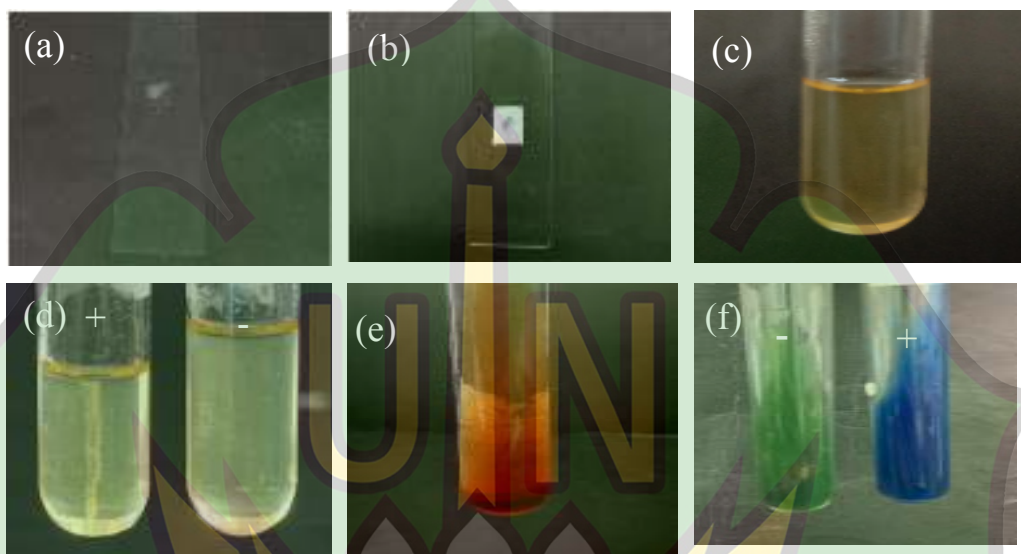
Setelah dilakukan pengamatan secara makroskopis terhadap 15 isolat tersebut kemudian dilanjutkan dengan pengamatan secara mikroskopis yang berupa uji pewarnaan Gram. Gambar pewarnaan Gram bakteri termofilik dapat dilihat pada Gambar IV.2 sebagai berikut:



Gambar IV. 1 Pewarnaan Gram Bakteri Termofilik

Keterangan : (a) Bentuk Sel Batang Gram Positif (b) Bentuk Sel Batang Gram Negatif

Hasil pewarnaan Gram yang dilakukan pada ke-15 isolat bakteri termofilik didapatkan Gram positif dan Gram negatif, sedangkan bentuk selnya didapatkan bentuk batang. Setelah dilakukan pewarnaan Gram dilakukan uji biokimia diantaranya Uji katalase, oksidasi, indol, motilitas, TSIA, dan SCA. Gambar dan hasil uji biokimia dapat dilihat pada Gambar IV.3 dan Tabel IV.3 di bawah ini ini:



Gambar IV. 2 Uji Biokimia Bakteri Termofilik

Keterangan: (a) Uji Biokimia Katalase, (b) Uji Biokimia Oksidase, (c) Uji Biokimia indol, (d) Uji Biokimia Motilitas, (e) Uji Biokimia TSIA, (f) Uji Biokimia SCA.

Berikut hasil pengamatan mikroskopis pada ke-15 isolat bakteri termofilik penghasil selulase di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar. Tabel hasil pengamatan mikroskopis bakteri termofilik dapat dilihat pada Tabel IV.3 berikut ini:

AR - RANIRY

Tabel IV. 3 Hasil Pengamatan Mikroskopis Bakteri TermofiliK

Kode Isolat	Bentuk sel	Gram	Katalase	Oksidase	Indol	Motil	SCA	TSIA				
								G	L	S	H ₂ S	Gas
TS1	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
TS2	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TS3	Basil	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
TS4	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TS5	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
TS6	Basil	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
TS7	Basil	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
TS8	Basil	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
TS9	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TS10	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TS11	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TS12	Basil	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-
TS13	Basil	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
TS14	Basil	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-
TS15	Basil	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-

Keterangan : + (positif), - (Negatif), SCA (*Simmon Citrate Agar*), TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), G (Glukosa), L (Laktosa), S (Sukrosa).

Tabel IV. 4 Hasil Identifikasi Genus Bakteri Termofilik Penghasil Selulase dari Beberapa Sumber

Uji Biokimia	Genus Bakteri	
	<i>Bacillus</i> sp. (TS1,TS2,TS3,TS4,TS5,TS7,TS9,TS10,TS11,TS12,TS13,TS14,TS15)	<i>Pseudomonas</i> sp. (TS6, TS8)
Bentuk sel	Basil	Basil
Gram	+	-
Katalase	+	+
Oksidase	+	+
Indol	-	-
Motil	+	-/+
SCA	-/+	+
Glukosa	+	+
Sukrosa	-/+	-
Laktosa	-	-
Endospora	+	-
Referensi	Fauziah & Ibrahim, (2021); Runtuboi <i>et al.</i> , (2018); (Silalahi <i>et al.</i> , (2020).	Fauziah & Ibrahim, (2021); Ristiati <i>et al.</i> , (2016).

Berdasarkan hasil pewarnaan endospora, kode isolat TS1, TS2, TS3, TS4, TS5, TS7, TS9, TS10, TS11, TS12, TS13, TS14 dan TS15 didapatkan hasil pewarnaan spora positif ditandai dengan warna dari bentuk selnya berwarna hijau, sedangkan untuk TS6 dan TS8 pewarnaan sporanya negatif ditandai dengan warna bentuk selnya berwarna merah. Gambar pewarnaan spora dapat dilihat pada gambar IV.3 di bawah ini :



Gambar IV. 3 Pewarnaan Endospora Bakteri Termofilik
Keterangan : (a) Positif Endospora, (b) Negatif Endospora

IV.1.2 Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Isolat bakteri hasil pemurnian dilakukan pengujian potensi bakteri dengan metode screening untuk menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan enzim selulase dengan membentuk zona bening pada media CMC agar setelah diuji menggunakan metode *Congo Red*. Berdasarkan hasil uji potensi bakteri termofilik penghasil selulase menunjukkan 3 isolat indeks selulase kategori kuat, 5 isolat dikategorikan sedang dan 2 isolat dikategorikan lemah. Terlihat pada Gambar IV.4 dan pada tabel IV.5.



Keterangan : A (Zona Bening) dan B (Koloni bakteri)
Gambar IV. 4 Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik

Tabel IV. 5 Potensi enzim selulase dari bakteri termofilik pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar.

Kode Isolat	Nilai Rata-rata			Keterangan Indeks Selulotik
	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Koloni (cm)	Indeks Selulotik (IS)	
TS1	-	0,6	-	-
TS2	-	0,2	-	-
TS3	1,1	0,5	1,2	Sedang
TS4	1,1	0,6	0,83	Lemah
TS5	1,9	0,7	1,71	Sedang
TS6	1,4	0,3	3,67	Kuat
TS7	2,0	0,6	2,33	Kuat
TS8	1,5	0,7	1,42	Sedang
TS9	1,3	0,6	1,16	Sedang
TS10	0,5	0,1	4,00	Kuat
TS11	-	0,1	-	-
TS12	-	0,3	-	-
TS13	-	0,4	-	-
TS14	1,5	0,6	1,5	Sedang
TS15	1,0	0,6	0,66	Lemah

Keterangan : TS = Termofilik Selulase, (-) tidak ada zona bening, 2 atau ≥ 2 menunjukkan indeks selulase kuat, ≤ 2 menunjukkan nilai indeks selulase sedang, 1 atau ≤ 1 menunjukkan indeks selulase lemah.

Isolat bakteri yang memiliki nilai indeks kuat diuji aktivitas enzim selulasenya. Dengan demikian isolat yang akan diuji aktivitasnya yaitu isolat dengan kode TS6 nilai indeks 3,67 isolat TS7 nilai indeks 2,33 dan isolat TS10 dengan nilai indeks 4,00 yang dikategorikan kuat seperti yang terlihat pada Tabel IV.4.

IV.1.3 Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Pengukuran aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dilakukan dengan memplotkan hasil absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva standar glukosa. Persamaan standar glukosa tersebut adalah $y = 0,0001x + 0,0343$ dengan nilai $R^2 = 0,9768$. Berdasarkan hasil absorbansi ekstrak kasar enzim selulase yang telah dilakukan maka dihitung aktivitas ekstrak kasar menggunakan rumus.

Hasil pengukuran aktivitas ekstrak kasar selulase pada 3 isolat dapat dilihat pada tabel IV.6 di bawah ini :

Tabel IV. 6 Tabel Nilai Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Selulase

No	Kode Isolat	Aktivitas Enzim (Unit/mL)
1	TS6 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	$4,7 \times 10^{-3}$
2	TS7 (<i>Bacillus</i> sp.)	$4,4 \times 10^{-3}$
3	TS10 (<i>Bacillus</i> sp.)	$5,5 \times 10^{-3}$

Keterangan : TS = Termofilik Selulase

Hasil perhitungan aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dapat diketahui pada isolat TS10 memiliki indeks selulase tertinggi yaitu 4,00 juga memiliki nilai aktivitas enzim yang paling tinggi yaitu $5,5 \times 10^{-3}$ U/mL. Selanjutnya diikuti isolat TS6 memiliki nilai indeks selulase sebesar 3,67 juga memiliki nilai aktivitas enzim kedua sebesar $4,7 \times 10^{-3}$ U/mL dan isolat TS7 memiliki nilai indeks ketiga tinggi 2,33 juga memiliki nilai aktivitas enzim ketiga tinggi $4,4 \times 10^{-3}$ U/mL.

IV.2 Pembahasan Penelitian

IV.2.1 Karakteristik Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Bakteri termofilik dari sumber air panas di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar yang memiliki suhu air 68°C dan memiliki kadar pH yaitu 7 (netral). Bakteri ditumbuhkan dengan media *Carboxil Methil Cellulosa* (CMC) sebagai media untuk menyeleksi bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase kemudian diinkubasi pada suhu 68°C . Suhu inkubasi 68°C ini merupakan suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri termofilik karena sesuai dengan lingkungan suhu hidupnya. Menurut Zuraidah *et al.*, (2020) suhu adalah faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan bertahan hidup bakteri.

Derajat keasaman atau pH di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar yaitu 7,2 kondisi tersebut optimal untuk pertumbuhan bakteri. Nilai pH mempengaruhi kelimpahan dan aktivitas bakteri selulase dan aktivitas enzim bakteri. Perubahan pH yang tidak sesuai akan menyebabkan konformasi enzim

berubah. Menurut Laila, (2020) derajat keasaman pertumbuhan yang baik bakteri pendegradasi selulase yaitu pH 7.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan 15 isolat murni yang mampu tumbuh dan berkoloni pada media CMC agar. Isolat yang tumbuh pada hasil isolasi dari air panas di kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar dengan media CMC agar dikarakterisasi morfologi pada masing-masing koloni meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni seperti pada Tabel IV.2

Berdasarkan hasil karakteristik yang didapatkan secara mikroskopis dan mikroskopis, selanjutnya dilakukan proses identifikasi bakteri dengan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan beberapa dari sumber jurnal. Hasil identifikasi bakteri termofilik dari ke-15 bakteri termofilik dari kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar didapatkan 2 genus bakteri termofilik yaitu genus *Bacillus* sp. dan genus *Pseudomonas* sp. seperti pada Tabel IV.4. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Mahestri *et al.*, (2021) mengenai bakteri termofilik dari air panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan diperoleh 1 genus bakteri termofilik yaitu *Bacillus* sp. Penelitian di air panas Way Panas Kalianda Lampung Selatan juga dilakukan oleh Mawati *et al.*, (2021) didapatkan 1 genus bakteri termofilik yaitu *Pseudomonas* sp.

Penelitian yang dilakukan oleh Nadila, (2019) mengenai bakteri termofilik dari air panas di kawasan Cagar Alam Tinggi didapatkan 1 genus bakteri termofilik yaitu *Thermus* sp. penelitian yang dilakukan oleh Runtuboi *et al.*, (2018) mengenai bakteri termofilik dari air panas Moso Distrik Muara Tami Papua diperoleh 1 genus bakteri termofilik yaitu *Bacillus* sp. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Huwae & Aditiawati, (2020) mengenai bakteri termofilik dari sumber air panas Sila didapatkan 1 spesies bakteri termofilik yaitu *Bacillus aryabhattai*.

Bakteri termofilik dari genus *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. merupakan genus yang umum dijumpai pada sumber air panas. Kedua genus juga dikarenakan tingkat pertumbuhan yang tinggi dan memiliki kebutuhan yang sederhana. Karakteristik morfologi isolat bakteri termofilik penghasil selulase

yang didapatkan dari kawasan wisata Ie Suum secara umum banyak ditemukan bakteri gram positif dan memiliki endospora seperti genus *Bacillus*. Genus *Bacillus* dapat membentuk spora yang dapat bertahan terhadap cekaman lingkungan dan mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks (Mahestri *et al.*, 2021). Endospora merupakan struktur yang tahan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim seperti kering, pemanasan dan keadaan asam (Devinta & Zulaika, 2021).

IV.2.2 Potensi Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Uji potensi enzim dari bakteri termofilik penghasil selulase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim selulase. Uji bakteri selulase menggunakan CMC agar dilakukan pada lima belas isolat bakteri yang telah berhasil diisolasi sebelumnya kemudian direndam menggunakan *Congo Red* untuk memperjelas zona bening yang dihasilkan bakteri selulase. Nurkhaisa, (2019) *Congo Red* pada umumnya digunakan untuk metode pewarnaan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim selulase. *Congo Red* akan berdifusi berikatan dengan polisakarida (ikatan 1,4 glikosida) pada media dan berubah menjadi berwarna merah. Zona bening yang terbentuk pada media dikarenakan isolat bakteri menghidrolisis ikatan β -1,4 glikosidik menjadi glukosa yang membentuk zona bening. Warna merah yang tersisa pada media menandakan tidak terhidrolisis. Uji potensi enzim selulase dari bakteri termofilik menunjukkan besarnya aktivitas selulase yang dinyatakan dengan indeks selulase. Nilai potensi enzim dari bakteri termofilik terlihat pada Tabel IV.4, nilai indeks selulase tertinggi kategori kuat yaitu kode TS10 (4,00 cm) dan nilai indeks selulase terendah kategori lemah kode TS15 (0,66 cm). Dewi, (2018) sebanyak 22 isolat bakteri selulolitik didapatkan dan nilai indeks indeks tertinggi 26,4 mm.

Besarnya zona bening yang terbentuk menunjukkan kemampuan bakteri mendegradasi selulosa menggunakan enzim selulase yang dihasilkan bakteri. Lebih lanjut Kurniawan *et al.*, (2018) mendapatkan 2 isolat indeks selulolitik tertinggi yaitu 26,4 mm dan kategori sedang 1,6 mm. Naresh *et al.*, (2019) isolat tertinggi indeks selulase sebesar 3,42. Sedangkan penelitian El-

Sayed *et al.*, (2019) nilai indeks selulase isolat tertinggi 9,5 mm. Penelitian lain Nadhifah, (2021) indeks aktivitas selulase tertinggi 11,90 mm yang berasal dari isolat bakteri selulase. Menurut Wahyuni, (2017) nilai indeks selulase yang tinggi dikarenakan aktivitas enzim seklulase tinggi menghdirolisis selulosa menjadi glukosa. Zona bening yang terbentuk pada media, menunjukkan isolat bakteri menghidrolisis lignoselulosa pada kandungan media.

IV.2.3 Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Termofilik Pada Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar

Pengujian aktivitas selulase menggunakan metode DNS. Sampel yang telah disentrifugasi merupakan enzim ekstrak kasar yang akan diuji aktivitas selulasenya. Aktivitas selulase dapat diukur dengan menggunakan metode asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS). Prinsip dari metode ini yaitu didasarkan pada peristiwa tereduksinya DNS menjadi 3-amino-5 nirosalisilat oleh senyawa gula pereduksi akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat dalam suasana alkali, membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm (Nadhifah, 2021).

Nilai aktivitas dapat diketahui dari besarnya nilai indeks selulase isolat (Hidayatulloh *et al.*, 2022). Nilai indeks selulase dengan nilai $IS \leq 1$ dikategorikan rendah, sedangkan kategori tinggi apabila nilai $IS \geq 2$ (Puspawati *et al.*, 2018). Besar kecilnya aktivitas enzim selulase ini akan mempengaruhi kadar gula pereduksi (glukosa) yang dihasilkan (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017). Berdasarkan nilai indeks selulase dan nilai aktivitas enzim selulase maka dapat diketahui bahwa pada isolat TS10 memiliki indeks selulase tertinggi yaitu 4,00 juga memiliki nilai aktivitas enzim yang paling tinggi yaitu $5,5 \times 10^{-3}$ U/mL. Selanjutnya diikuti isolat TS6 memiliki nilai indeks selulase kedua sebesar 3,67 juga memiliki nilai aktivitas enzim kedua sebesar $4,7 \times 10^{-3}$ U/mL dan isolat TS7 memiliki nilai indeks selulase ketiga tinggi 2,33 juga memiliki nilai aktivitas enzim ketiga tinggi $4,4 \times 10^{-3}$ U/mL.

Berdasarkan hasil aktivitas ekstrak kasar enzim selulase dapat diketahui isolat TS10 (*Bacillus* sp) memiliki nilai aktivitas enzim yang paling tinggi yaitu $5,5 \times 10^{-3}$ U/mL selanjutnya diikuti isolat TS6 (*Pseudomonas* sp) memiliki

aktivitas enzim sebesar $4,7 \times 10^{-3}$ U/mL dan isolat TS7 (*Bacillus* sp) memiliki aktivitas enzim sebesar $4,4 \times 10^{-3}$ U/mL. Aktivitas enzim yang dimiliki oleh ketiga isolat tersebut tergolong tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Itnawati *et al.*, (2022) mengenai bakteri selulotik didapatkan 3 isolat tertinggi dari 22 isolat dengan nilai aktivitas masing-masing isolat 0,0069 U/mL, 0,027 U/mL dan 0,0003 U/mL. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Bandi *et al.*, (2018) mengenai bakteri selulotik didapatkan hanya 2 isolat dengan nilai aktivitas enzim sebesar 0,071 U/mL dan nilai aktivitas enzim terendah yaitu 0,004 U/mL.

Bakteri termofilik dapat dimanfaatkan dalam bidang industri makanan ternak, tekstil, detergen, industri kertas (Safitri, 2022). Dapat dikembangkan juga dalam bidang farmasi yaitu pemanfaatan enzim selulase untuk pembuatan obat-obatan atau sebagai sumber enzim termotoleran industri (Nuritasari *et al.*, 2017). Dalam bidang industri dan kesehatan enzim selulase dari bakteri termofilik digunakan sebagai biokatalisator dalam perubahan kimia (Pujiati *et al.*, 2018). Produksi enzim selulase bakteri termofilik memiliki keunggulan dibandingkan fungi yaitu kecepatan pertumbuhan bakteri lebih cepat daripada fungi sehingga mempunyai potensi tinggi untuk menghasilkan selulase terutama yang diisolasi dari lingkungan ekstrim seperti dari sumber air panas (Reza, 2022). Dalam industri, reaksi suhu tinggi sangat penting karena dapat memperlambat laju perpindahan massa dan memindahkan keseimbangan ke arah pembentukan produk (Nanda *et al.*, 2017).

جامعة الرانري

AR - RANIRY

BAB V

PENUTUP

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang isolasi dan uji aktivitas bakteri termofilik penghasil selulase pada kawasan wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar, maka dapat disimpulkan :

1. Karakteristik bakteri termofilik penghasil selulase secara umum berbentuk bulat, berakar, berbenang, tidak teratur, tepian koloni berbentuk rata, berbenang, bergelombang, bergerigi, elevasi koloni berbentuk cembung, datar, timbul datar, dan warna koloni putih-krim, kuning dan putih-bening. Karakteristik bakteri memperoleh 13 Gram positif dan 2 Gram negatif, didapatkan 2 genus yaitu genus *Bacillus* sp. dan genus *Pseudomonas* sp.
2. Potensi enzim selulase dari bakteri termofilik berdasarkan indeks selulase isolat TS10, TS6, TS7 masing-masing dengan indeks 4,00 cm, 3,67 cm, dan 2,33 cm dikategorikan tinggi, isolat TS5, TS8, TS9, TS14, TS3 masing-masing dengan indeks 1,71 cm, 1,42 cm, 1,16 cm, 1,5 cm, dan 1,2 cm kategori sedang dan isolat TS4, TS15 masing-masing dengan indeks 0,83 cm, 0,66 cm dikategorikan lemah.
3. Aktivitas enzim selulase dari isolat TS6 yaitu $4,7 \times 10^{-3}$ U/mL, isolat TS7 yaitu $4,4 \times 10^{-3}$ U/mL dan isolat TS10 yaitu $5,5 \times 10^{-3}$ U/mL.

V.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai klasifikasi bakteri termofilik hingga tingkat spesies.
2. Diharapkan dapat dilakukan isolasi bakteri termofilik pada suhu inkubasi yang bervariasi dan mampu menghasilkan enzim-enzim yang dapat diaplikasikan dalam industri.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, D. kemeluh, Silitiana, D., & Anggraini, D. puspita. (2019). *Bioteknologi Mikroba Tinjauan Umum dan Aplikasi* (M. Sulkhi (ed.); Pertama). CV. AA. RIZKY. ISBN: 9786237411635.
- Alrumman, S., Mostafa, Y. S. M., Al-Qahtani, S., & Taha, T. H. T. (2018). Hydrolytic Enzyme Production by Thermophilic Bacteria Isolated from Saudi Hot Springs. *Open Life Sciences*, 13(1), 470–480. <https://doi.org/10.1515/biol-2018-0056>.
- Ardhi, A., Sidauruk, A. N., Suraya, N., Pratiwi, N. W., Pato, U., & Saryono. (2020). Molecular Identification of Amylase-Producing Thermophilic Bacteria Isolated from Bukit Gadang Hot Spring, West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(3), 994–1000. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210319>.
- Attri, P., Han, J., Choi, S., Choi, E. H., Bogaerst, A., & Lee, W. (2018). CAP Modifies the Structure of a Model Protein from Thermophilic Bacteria: Mechanisms of Cap-Mediated Inactivation. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28600>.
- Azizah, N. (2017). Pemurnian Enzim Selulase Dari Isolat Khamir Jenis *Candida utilis* Menggunakan Fraksinasi Amonium Sulfat. *Skripsi*. <http://eprints.uny.ac.id/47086/1/>. Diakses tanggal 31 Agustus 2022.
- Bahri, S., Fidiantara, F., Muksin, Y. D., Tamami, F., Handayani, A. A. A. T., & Hermansyah, D. (2021). Isolasi Bakteri Termofilik dari sumber Air Panas Aik Sebau di Kawasan Taman Nasional Gunung Rinjani Kabupaten Lombok Timur. *Journal Pijar Miipa*, 16(2), 235–241. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i2.24>.
- Bandi, T., Abubakar, H., & Moge, R. A. (2018). Uji Aktivitas Enzim Selulase Isolat Bakteri Dari Sedimen Lamun Perairan Rendani Manokwari. *VOGELKOP: Jurnal Biologi*, 1(1). <https://doi.org/10.30862/vogelkopjbio.v1i1.34>.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology a Laboratory Manual*. 10th edition. Pearson Education, inc. USA. ISBN: 9780321840226.
- Devinta, A., & Zulaika, E. (2021). Viability and Production Calcifying Bacterial Endospore on Sand-Cement Carrier. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 8(1), 8–13. <https://doi.org/10.23960/jbekh.v8i1.184>.
- Dewi Yustiyana. (2018). Identifikasi dan Uji Patogenesis Kandidat Bakteri Selulolitik Asal Ekosistem Mangrove Tukak sadai, Bangka Selatan. *Skripsi*. <http://repository.ubb.ac.id/id/eprint/1695>. Diakses tanggal 26 Februari 2023.
- El-Gayar, K. E., Al Abboud, M. A., & Essa, A. M. M. (2017). Characterization of Thermophilic Bacteria Isolated from Two Hot Springs in Jazan, Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11(2), 743–752. <https://doi.org/10.22207/JPAM.11.2.13>.
- El-Sayed, A. F., Abo-Sereih, N. A., El-Kawokgy, T. M., Mahmoud, A. E., & El-Ghamery, A. A. (2019). Isolation, screening and optimization of β -glucosidase producing *Bacillus* sp. isolated from Egyptian environment. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences (JIPBS)*, 6(4), 70–78.
- ElSharayidi, M., Dewidar, A., Shafik, H., & El-kazzaz, W. (2020). Screening and

- Molecular Characterization of Cellulase Producing Thermophilic Bacteria Isolated from an Egyptian Hot Spring in Ras-Sedr. *Alfarama Journal of Basic & Applied Sciences*, 1(2), 78–89. <https://doi.org/10.21608/ajbas.2020.21978.1006>.
- 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. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v9n3.p194-203>.
- Fitria, L. (2021). Isolasi Bakteri Selulolitik dari Bekatul dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Variasi Suhu Inkubasi. *Skripsi*. <http://esttheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/28721>. Diakses tanggal 23 Oktober 2022.
- Flimban, S., Oh, S. E., Joo, J. H., & Hussein, K. A. (2019). Characterization and Identification of Cellulose-degrading Bacteria Isolated from a Microbial Fuel Cell Reactor. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 24(4), 622–631. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0089-3>.
- Hidayatulloh, A., Yahdiyani, N., & Nurhayati, L. S. (2022). Isolasi dan Seleksi Bakteri Kandidat Selulolitik dari Proses Pembuatan Pupuk Organik pada Pengolahan Limbah Peternakan. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 3(2), 65. <https://doi.org/10.24198/jthp.v3i2.41774>.
- Huwaie, L. M. C., & Aditiawati, P. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Selulase dari Sumber Air Panas Sila. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Papua*, 3(1), 32–35. <https://doi.org/10.31957/acr.v3i1.1214>.
- Irawati, R. (2016). Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi Oleh *Bacillus circulans*. *Skripsi*. <http://atheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/2864>. Diakses tanggal 26 Juni 2022.
- Itinawati, Devi, S., Mukhlis, & Sari, A. (2022). Selection of Isolates of Local Endophytic Bacteria Cellulolytic Strains From Mangrove Roots *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob. *Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan*, 12(2), 41–49. <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>.
- Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Suku Rejang di Provinsi Bengkulu: “Lemea.” *Alotrop*, 4(1), 25–32. <https://doi.org/10.33369/atp.v4i1.13705>.
- Kurniawan, A., Sari, S. P., Asriani, E., Kurniawan, A., Sambah, A. B., & Prihanto, A. A. (2018). Identifikasi Molekuler Isolat Bakteri Selulolitik dari Mangrove Sungailiat dan Tukak Sadai di Pulau Bangka. *Jurnal Enggano*, 3(2), 1–23. <https://doi.org/https://doi.org/10.31186/jenggano.3.2.250-260>.
- Kurniawan, K., Arham, Z., Tekstil, J. K., & Barat, J. (2020). *Aplikasi Enzim Selulase Tipe Asam Pada Proses Biowashing Kain Denim*. Prosiding Seminar Nasional Kimia Berwawasan Lingkungan. ISBN: 9786025094248.
- Laila, Z. H. (2020). Analisis Suhu dan pH Terhadap Enzim Selulase Kasar dari *Bacillus subtilis* dalam Hidrolisis Kertas HVS (*Houtvrij schrijfpapier*) Bekas Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol. *Skripsi*. <http://esttheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/24516>. Diakses tanggal 5 Maret 2023.
- Mahestri, L., Harpeni, E., & Setyawan, A. (2021). 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. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 26(3), 161–168.

ISSN: 27218902.

- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali, S. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31–42. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v4i1.1454>.
- Maretia, L. R., Samingan, S., Hasanuddin, H., Wardiah, W., & Nurmaliah, C. (2021). Lichen in the Area of Le Seu Um of Mesjid Raya District Aceh Besar Regency. *Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi Dan Kependidikan*, 9(2), 191. <https://doi.org/10.22373/biotik.v9i2.10860>.
- Mawati, S. D., Harpeni, E., & Fidyandini, H. P. (2021). Skrining Bakteri Termofilik Potensial Amilolitik dari Sumber Air Panas Way Belerang Kalianda Lampung Selatan. *Journal of Aquatropica Asia*, 6(1), 1–7. ISSN: 27217574.
- Mohammad, B. T., Al Daghistani, H. I., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., & Kennes, C. (2017). Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Jordanian Hot Springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as Potential Producers of Thermostable Enzymes. *International Journal of Microbiology*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6943952>.
- Mokodompit, A., Ngangi, J., & Emma M. Moko. (2020). Karakterisasi Enzim Selulase Isolat Bakteri pada Saluran Pencernaan Characterization of Bacterial Isolate Cellulase Enzymes in the Digestive Tract Termites (*Odontotermes javanicus*). *Nukleus Biosains Jurnal Ilmu Hayati*, 1(2), 47–54. ISSN: 27746852.
- Murtiyaningsih, H., & Hazmi, M. (2017). Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah Isolation and Cellulase Enzyme Activities Assays in Cellulolytic Bacteria Origin From Soil Waste. *Agritrop*, 15(2), 293–308. <http://jurnal.unmuhjember.ac.id/>. Diakses tanggal 29 Agustus 2022.
- Nadhifah, M. (2021). Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat. *Skripsi*. <http://estheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/29019>. Diakses tanggal 29 Juni 2022.
- Nadila, putri. (2019). Air Panas di Kawasan Cagar Alam Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara. *Skripsi*. <http://repository.uma.ac.id/handle/123456789/11415>. Diakses tanggal 23 Oktober 2022.
- Nanda, P. T., Siregar, S. A., Kurniawan, R., Hairudin, Meriyanti, & Yatno. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Enzim Termostabil Air Panas Kerinci. *Chempublish*, 2(1). <https://online-journal.unja.ac.id/chp/article/view/3238>. Diakses tanggal 22 Oktober 2022.
- Nareesh, S., Kunasundari, B., Gunny, A. A. N., Teoh, Y. P., Shuit, S. H., Ng, Q. H., & Hoo, P. Y. (2019). Isolation and partial characterisation of thermophilic cellulolytic bacteria from north Malaysian tropical mangrove soil. *Tropical Life Sciences Research*, 30(1), 123–147. <https://doi.org/10.21315/tlsr2019.30.1.8>.
- Nuritasari, D., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. N. (2017). Isolasi Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gedongsongo dengan Media Pengaya MB (*Minimal Broth*) dan TS (*Taoge Sukrosa*) serta Identifikasi Fenotip dan Genotip. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(2), 84–91. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.2.84-9>.
- Nurkhaisa Kairupan, D. (2019). Penapisan Mikroorganisme Penghasil Enzim Selulase Dari Ampas Tebu Untuk Produksi Bioetanol Generasi Kedua. *Skripsi*.

- <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/181656>. Diakses tanggal 25 Februari 2023.
- Ovando-Chacon, S. L., Tacias-Pascacio, V. G., Ovando-Chacon, G. E., Rosales-Quintero, A., Rodriguez-Leon, A., Ruiz-Valdiviezo, V. M., & Servin-Martinez, A. (2020). Characterization of Thermophilic Microorganisms in the Geothermal Water Flow of El Chichón Volcano Crater Lake. *Water (Switzerland)*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/W12082172>.
- Pujiati, Ardhi, M. W., & Prasetyo, E. N. (2018). *Bioteknologi Berbasis Proyek (Produksi Purifikasi Enzim Selulase dari Kapang Trichoderma viride dan Potensinya dalam Bioscouring)* (1st ed.). CV. AE MEDIA GRAFIKA. ISBN: 9788578110796.
- Puspawati, N. M. I., Atmaja, I. W. D., & Sutari, N. W. S. (2018). Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Sampah Organik Kota Denpasar. *Journal of Tropical Agroecotechnology*, 7(3), 363–373. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/JAT/article/view/42190>.
- Puspitasari, D., & Ibrahim, M. (2021). Optimasi Aktivitas Selulase Ekstraseluler Isolasi Bakteri EG 2 Isolasi dari Bungkil Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 9(1), 42–50. ISSN: 22523979.
- Putri, S. (2016). Karakterisasi Enzim Selulase yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus plantarum* Pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat. *Skripsi*. <http://etd.lib.metu.edu.tr/upload/12620012/index.pdf>. Diakses tanggal 26 Juni 2022.
- Rahmasyitha, A. M., Kuswytasari N. D., Zulaika, E. (2018). Aktivitas Enzim Endoglukanase dan Lignin Peroksidase dari *Penicillium* sp. pada Media Pertumbuhan Betakul dan Tongkol Jagung. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 7(2).
- Rendy, S., Bagus, I. W. G., Antara, S. N. (2022). Produksi Glukosa dengan Substrat Selulosa Kasar Brangkas Jagung Menggunakan Enzim Selulase dari Isolasi B2S8. *Journal of Biological Sciences*. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>.
- Reza, N. 2022. Skrining Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Isolasi Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat. *Skripsi*. <https://repository.unsri.ac.id/81626/3>. Diakses tanggal 8 Maret 2023.
- Ristiati, Mulyadiharja, & Adhiguna. (2016). Isolasi Dan Identifikasi Mikroorganisme Penghasil Enzim Selulase Pada Rayap (*Coptotermes curvignathus holmgren*). *Seminar Nasional Riset Inovasi Ke 4*, Universitas Pendidikan Ganesha Singaraja. ISBN: 9786026428042.
- Rukmi, I., Supriyadi, A., Lunggani, A. T., & Rahardjo, B. (2018). Eksplorasi Mikroorganisme Termofil Indigenus Dari Sumber Air Panas Gedongsongo Sebagai Penghasil Enzim Termostabil. *Berkala Bioteknologi*, 1(1), 1–8. <https://ejournal2.undip.ac.id>.
- Runtuboi, D. Y. P., Gunaedi, T., Simonapendi, M., & Pakpahan, N. N. L. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas di Moso Distrik Muara Tami Kota Jayapura Provinsi Papua. *Jurnal Biologi Papua*, 10(2), 68–73. <https://doi.org/10.31957/jbp.474>.
- Safitri, L. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termofilik di Pemandian Air Panas Way Belerang Desa Kecapi Kecamatan Kalianda Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung. *Skripsi*. <http://repository.radenintan.ac.id/id/eprint/18730>. Diakses tanggal 5 Maret 2023.
- Sang, P., Liu, S. Q., & Yang, L. Q. (2020). New insight into mechanisms of protein adaptation to high temperatures: A comparative molecular dynamics

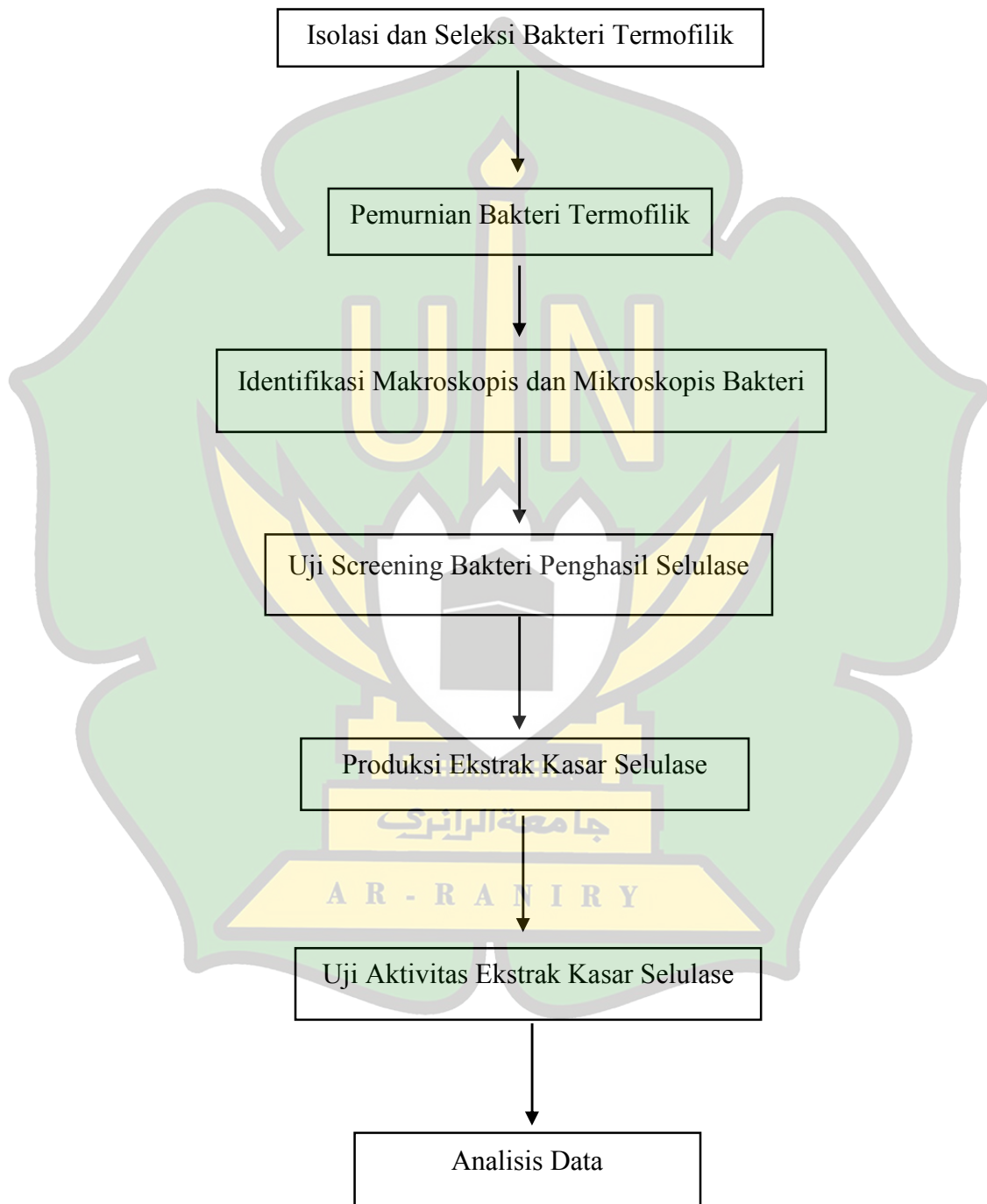
- simulation study of thermophilic and mesophilic subtilisin-like serine proteases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9). <https://doi.org/10.3390/ijms21093128>.
- Sembiring, A. (2017). Identifikasi Jenis Tiram dan Keanekaragamannya di Daerah Intertidal Desa Harja Kecamatan Saparua Kabupaten Maluku Tengah. *Jurnal Biology and Education*, 8(1), 21–28. ISSN: 25411225.
- Silalahi, L. F., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. (2020). Karakterisasi dan Identifikasi Genus Bakteri Endofit dari Daun dan Batang Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) Sehat di Desa Anjungan Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont*, 9(1), 26–29. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v9i1.40064>.
- Simandjuntak, S., & Samuel, M. Y. (2018). Isolation and Identification of Thermophilic Bacteria, Producer of Amylase Enzyme, From Lake Linow, North Sulawesi. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(2), 543–554. <https://doi.org/10.22207/JPaM.12.2.13>.
- Villanueva, L., von Meijenfeldt, F. A. B., Westbye, A. B., Yadav, S., Hopmans, E, C., Dutilh, B. E., & Damste, J. S. S. (2021). Bridging the Membrane Lipid Divide: Bacteria of the FCB Group Superphylum Have the Potential to Synthesize Archaeal Ether Lipids. *ISME Journal*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00772-2>.
- Wahyuni, D. (2017). Karakterisasi Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik yang Terdapat di Kawasan Wisata Ie Suum Kecamatan Mesjid Raya Sebagai Penunjang Praktikum Mikrobiologi. *Skripsi*. <https://repository.ar-raniry.ac.id/eprint/2178>. Diakses tanggal 26 Juni 2022.
- Zuraidah, Wahyuni, D., & Astuty, E. (2020). Karakteristik Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik dari Kawasan Wisata Ie Seuum (Air Panas). *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 11(2), 40–47. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2/article/view/10200>. Diakses tanggal 26 Juni 2022.



LAMPIRAN

Lampiran 1

Alur Penelitian



Dokumentasi Kegiatan



Gambar : Cek suhu sampel



Gambar : Cek pH sampel



Gambar : Pengambilan Sampel



Gambar : Sterilisasi Alat



Gambar : Isolasi Bakteri Termofilik



Gambar : Pewarnaan Gram



Gambar : Uji SCA



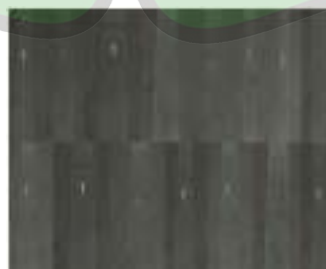
Gambar : Uji Oksidasi



Gambar : Uji SCA



Gambar : Uji TSIA



Gambar : Uji Katalase



Gambar : Uji SIM (Indol)



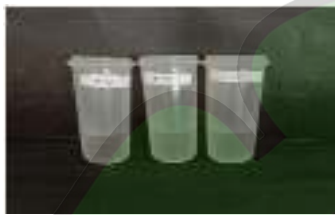
Gambar : Uji SIM (Motil)



Gambar : Larutan glukosa berbagai konsentrasi



Gambar : Uji sandar glukosa



Gambar : Ekstrak kasar



Campuran ekstrak kasar enzim



Gambar : Ekstrak kasar setelah diberi reagen DNS



Gambar : Proses pemanasan reagen DNS



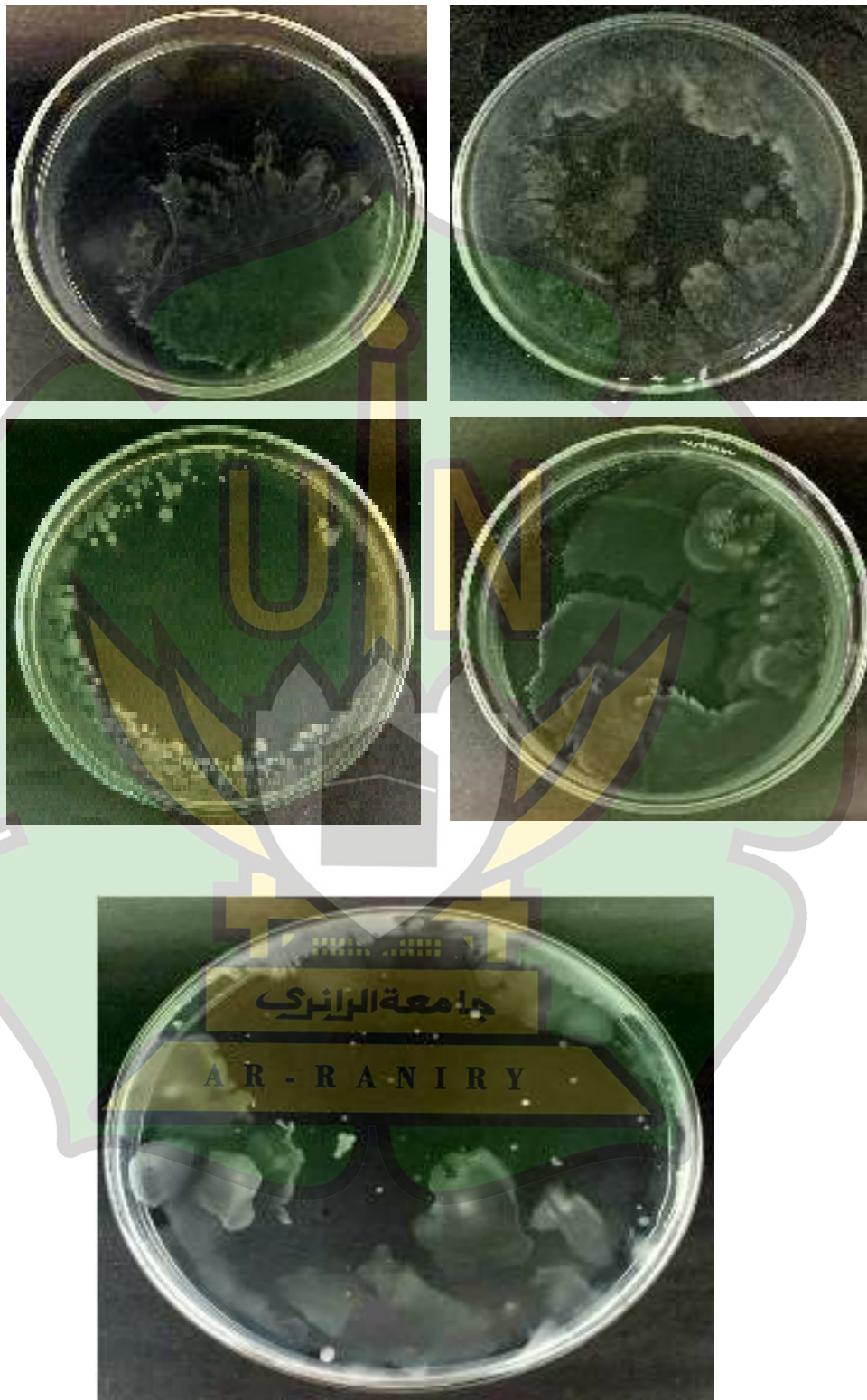
Gambar : Larutan enzim, DNS, KNa-Tartrat 40% dan akuades



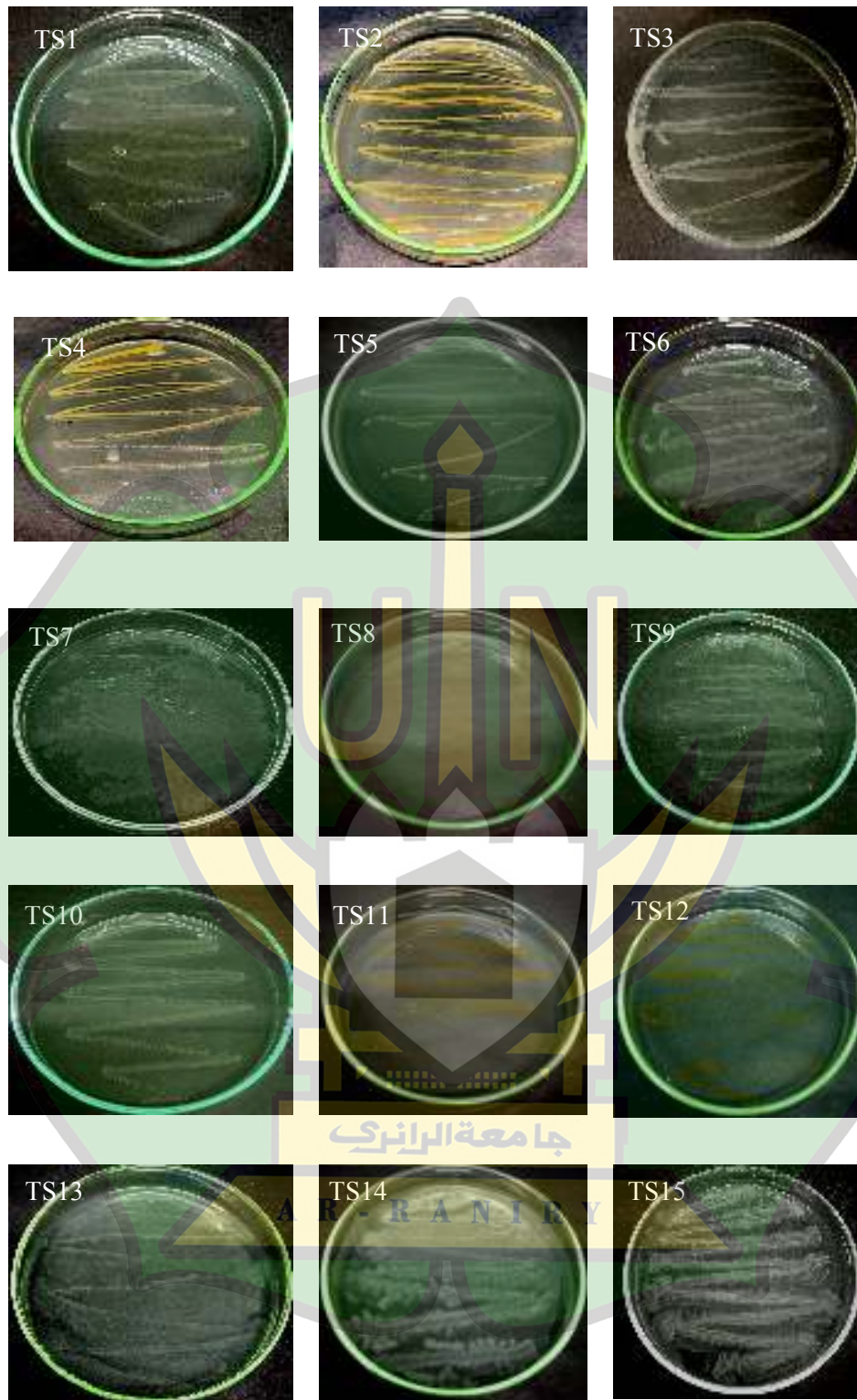
Gambar : Uji absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis

AR - RANIRY

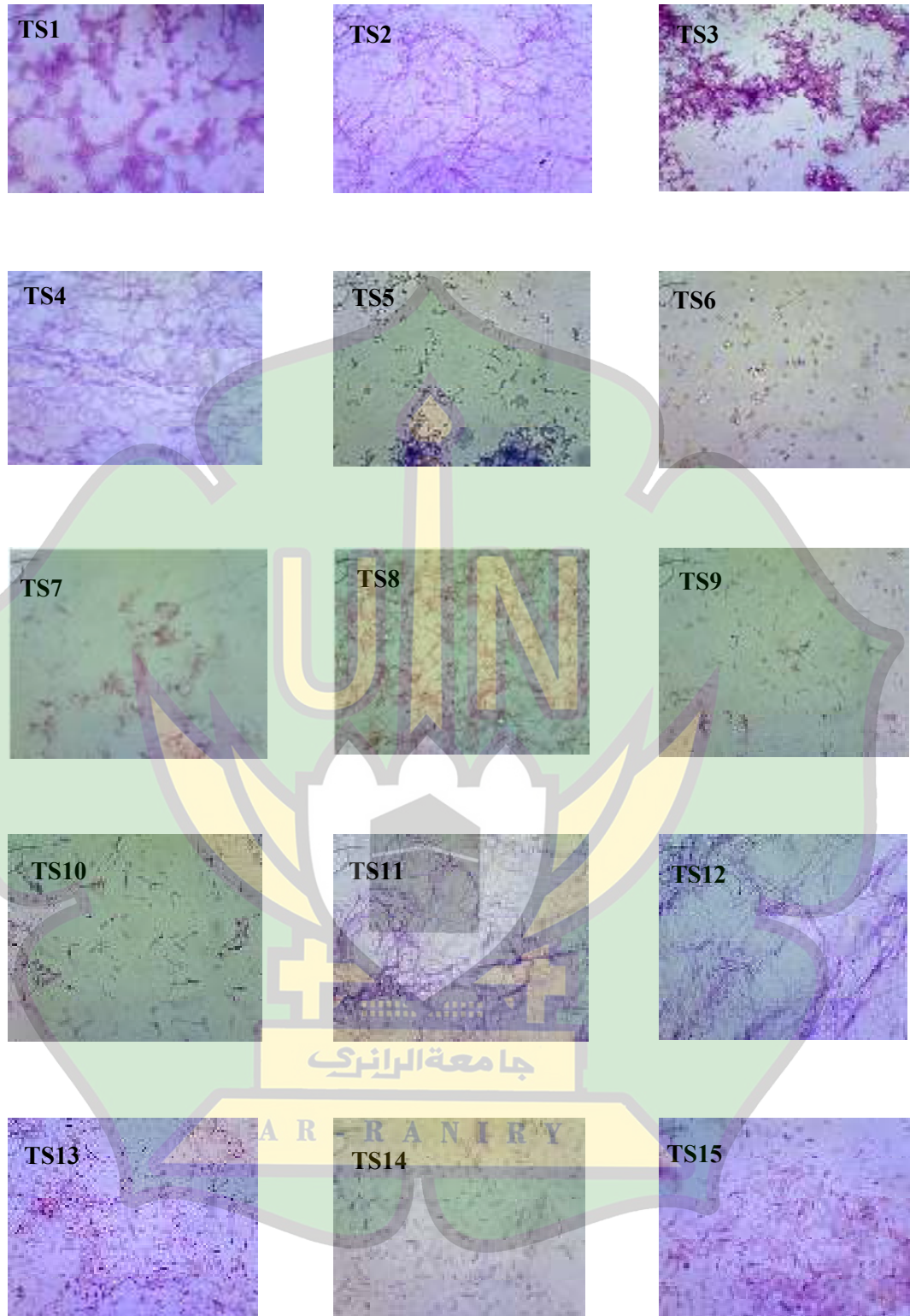
Isolat Bakteri



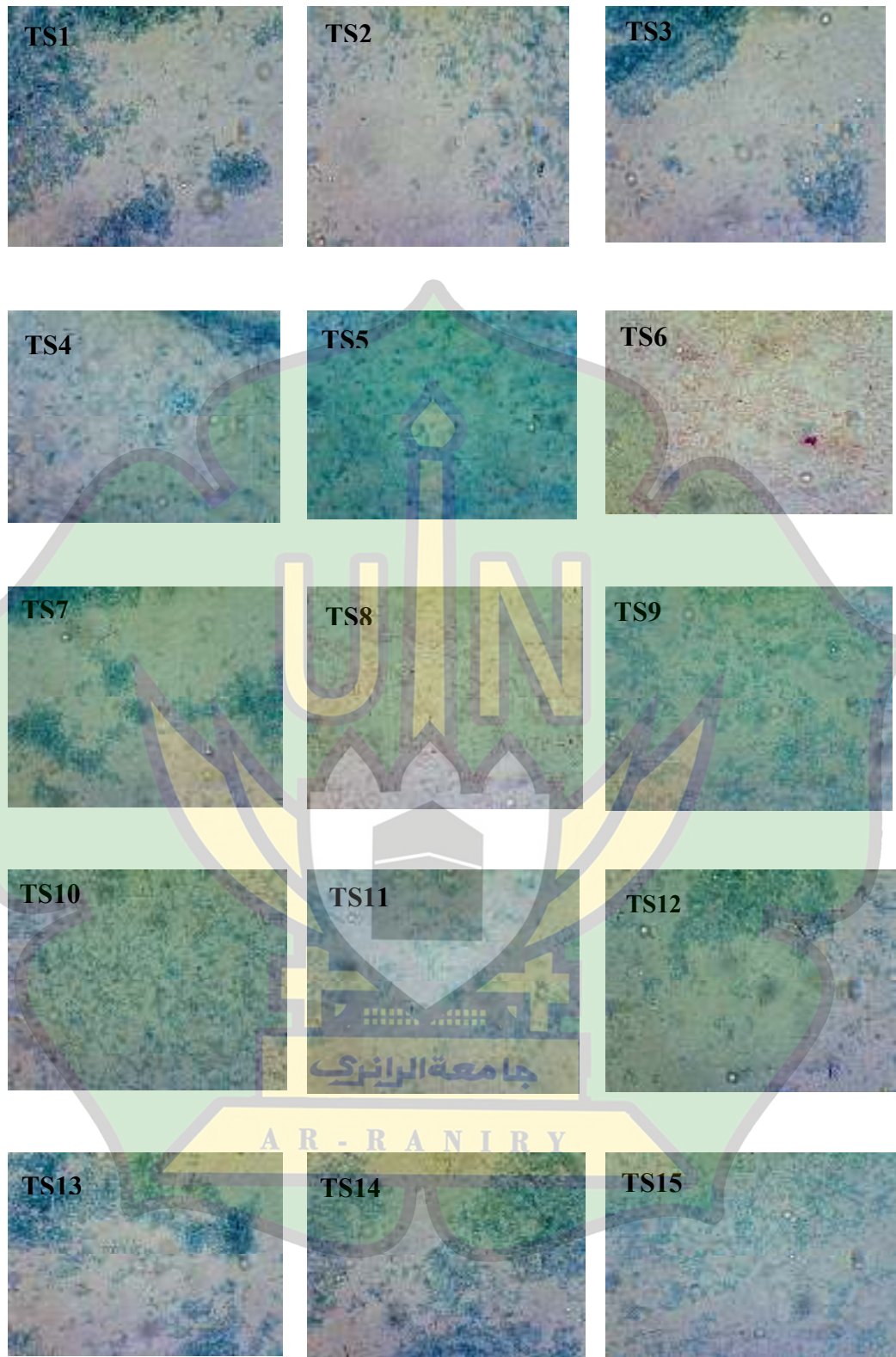
Gambar : Isolat Awal Bakteri termofilik



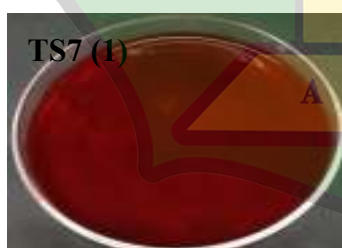
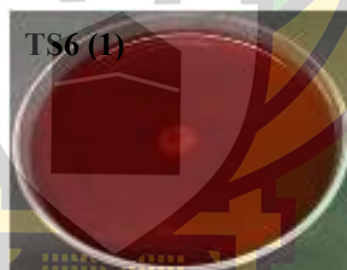
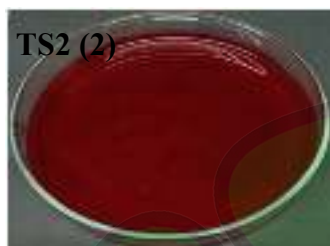
Gambar : Isolat Pemurnian Bakteri Termofilik

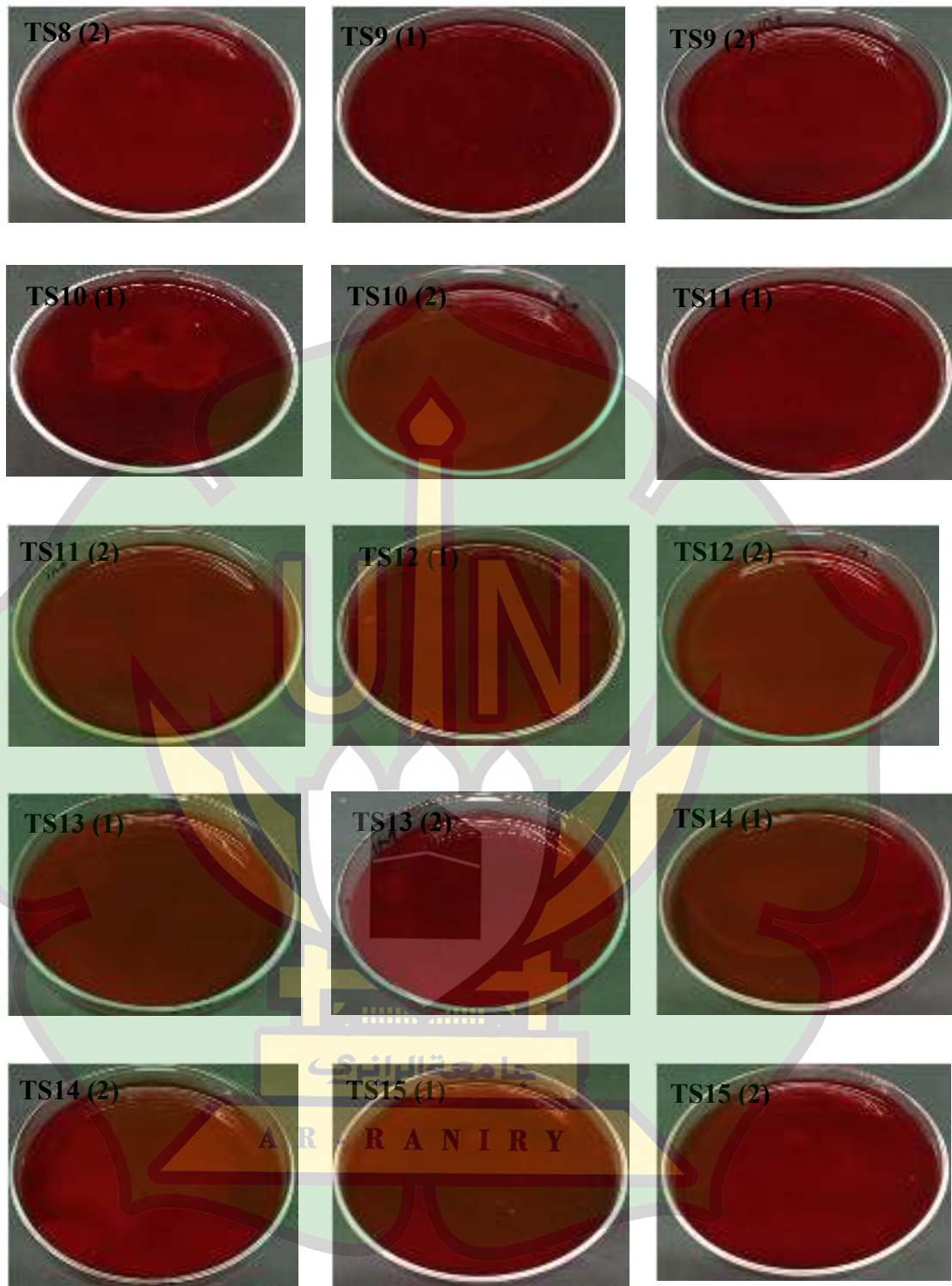


Gambar : Pewarnaan Gram Bakteri Termofilik



Gambar : Pewarnaan Endospora Bakteri Termofilik





Gambar : Zona Bening Bakteri Termofilik Penghasil Selulase

Tabel V. 1 Hasil Pengujian dan Pengukuran Zona Bening Bakteri Termofilik Penghasil Selulase

Kode Isolat	Ulangan	Diameter Bening (cm)	Diameter Koloni (cm)	Indeks Selulolitik (IS)
TS1	1	-	0,2	-
	2	-	0,6	-
TS2	1	-	0,1	-
	2	-	0,2	-
TS3	1	1,1	0,5	1,2
	2	1,0	0,6	0,66
TS4	1	1,1	0,6	0,83
	2	-	0,2	-
TS5	1	1,0	0,7	1,71
	2	-	0,6	-
TS6	1	1,4	0,3	3,67
	2	1,0	0,6	0,66
TS7	1	1,1	0,5	1,2
	2	2,0	0,6	2,33
TS8	1	1,5	0,7	1,42
	2	-	0,7	-
TS9	1	-	0,2	-
	2	1,3	0,6	1,16
TS10	1	1,5	1,0	0,5
	2	0,5	0,1	4,00
TS11	1	-	0,3	-
	2	-	0,1	-
TS12	1	-	0,3	-
	2	-	0,2	-
TS13	1	-	0,4	-
	2	-	0,1	-
TS14	1	1,5	0,6	1,5
	2	1,1	0,5	1,1
TS15	1	1,3	1,0	0,3
	2	1,0	0,6	0,66

Lampiran 4

Perhitungan Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Selulase

Pembuatan Larutan Standar Glukosa

Pembuatan larutan stok glukosa standar 1000 ppm adalah :

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{1 \text{ g}}{1 \text{ L}}$$

Untuk membuat larutan standar 1000 ppm diperlukan 1 g glukosa, dilarutkan dengan akuades sebanyak 1 liter. Kemudian larutan glukosa dengan konsentrasi 0, 200, 400, 600, 800, 1000 ppm sebanyak 50 ml dibuat sesuai dengan menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut :

Misal, menghitung konsentrasi 200 ppm

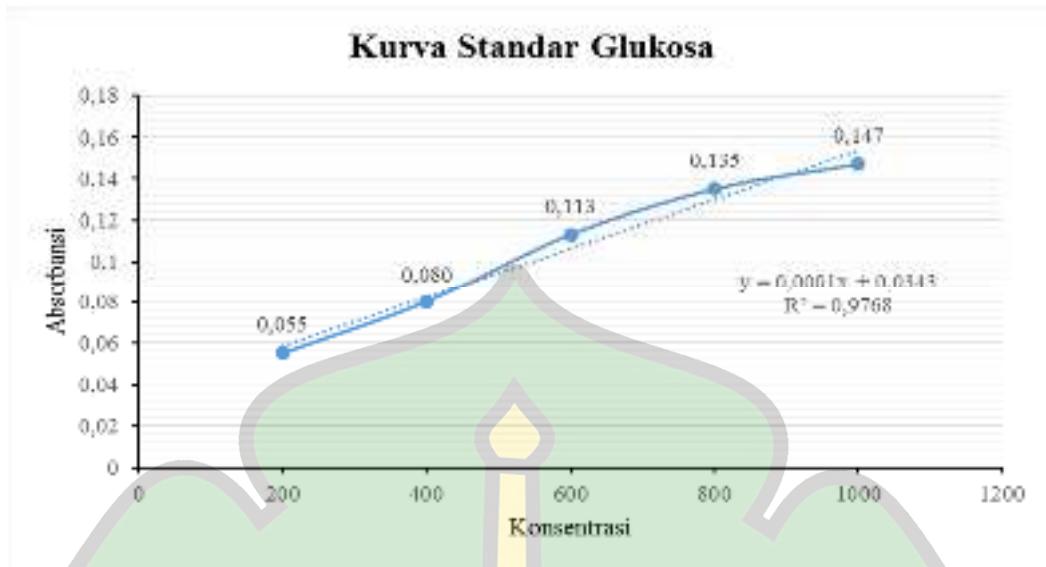
$$\begin{aligned} \text{Maka, } V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 50 \times 200 \text{ ppm} \\ V_1 &= 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

Konsentrasi Glukosa (ppm)	Volume Glukosa (mL)
200	10
400	20
600	30
800	40
1000	50

Tabel V. 2 Data Absorbansi Larutan Glukosa pada 540 nm

Konsentrasi Glukosa (ppm)	Absorbansi
200	0,055
400	0,080
600	0,113
800	0,135
1000	0,147

Kurva Standar Glukosa



Tabel V. 3 Nilai Absorbansi Ekstrak kasar Selulase

NO	Kode Isolat	Ulangan			Rata-rata
		I	II	III	
1.	TS6	0,044	0,052	0,058	0,0513
2.	TS7	0,039	0,054	0,058	0,0503
3.	TS10	0,052	0,055	0,056	0,0543

Pengukuran aktivitas ekstrak kasar selulase dapat dilakukan dengan menggunakan persamaan kurva standar glukosa sebagai berikut :

Persamaan kurva standar glukosa

Diketahui : $y = ax + b$

$$y = 0,001x + 0,0343$$

$$x = (y - 0,0343)/0,001$$

Absorbansi ekstrak kasar isolat T6 0,0513

$$y - 0,0343 = 0,001x$$

$$\frac{y - 0,0343}{0,001} = x$$

$$\frac{0.0513 - 0,0343}{0,001} = x$$

$$17 \text{ ppm} = x$$

Tabel V. 4 Nilai Konsentrasi Gula Reduksi

No	Kode Isolat	Kadar Gula Reduksi (ppm)
1.	TS6	17
2.	TS7	16
3.	TS10	20

Sedangkan untuk menentukan aktivitas ekstrak kasar selulase dapat diketahui dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Aktivitas Selulase} = \frac{C}{T \times \text{BM glukosa}} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi gula pereduksi (ppm)

H = Volume Enzim substrat (mL)

E = Volume enzim (mL)

T = Waktu inkubasi (menit)

BM glukosa = Berat molekul glukosa (180 g/mol)

Misal : konsentrasi gula reduksi sebesar 17 ppm maka aktivitas ekstrak kasar selulase adalah

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Selulase} &= \frac{17 \text{ ppm}}{180 \mu \frac{\text{g}}{\mu \text{mol}} \times 40 \text{ menit}} \times \frac{2 \text{ mL}}{1 \text{ mL}} \\ &= 0,0047 \mu \text{mol/mL menit} \approx 4,7 \times 10^{-3} \mu \text{mol/mL menit} \end{aligned}$$

Satu unit aktivitas selulase dinyatakan dengan banyaknya mikro mol glukosa yang dihasilkan oleh 1 mL ekstrak kasar selulase per menit pada kondisi tertentu, sehingga aktivitas yang diperoleh adalah $4,7 \times 10^{-3} \mu \text{mol/mL}$. Data aktivitas ekstrak kasar selulase ditunjukkan pada tabel di bawah ini :

Tabel V. 5 Nilai Aktivitas Ekstrak Kasar

No	Kode Isolat	Aktivitas Enzim (Unit/mL)
1.	TS6	$4,7 \times 10^{-3}$
2.	TS7	$4,4 \times 10^{-3}$
3.	TS10	$5,5 \times 10^{-3}$

Surat Penelitian



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Syekh Abdur Rauf Kopelma Darussalam Banda Aceh
Telepon : 0651- 7557321, Email : uin@ar-raniry.ac.id

Nomor : B-645/Un.08/FSTL/PP.00.9/03/2023

Lamp : -

Hal : **Penelitian Ilmiah Mahasiswa**

Kepada Yth,

Kepala Laboratorium Mikrobiologi Multifungsi

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dengan ini menerangkan bahwa:

Nama/NIM : RAHMATIL MAJIDAH / 180703042

Semester/Jurusan : / Biologi

Alamat sekarang : Kopelma Darussalam, Kecamatan Syiah Kuala, Kota Banda Aceh

Saudara yang tersebut namanya diatas benar mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi bermaksud melakukan penelitian ilmiah di lembaga yang Bapak/Ibu pimpin dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul **Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Selulase di Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar**

Demikian surat ini kami sampaikan atas perhatian dan kerjasama yang baik, kami mengucapkan terimakasih.

Banda Aceh, 10 Maret 2023

an. Dekan

Wakil Dekan Bidang Akademik dan
Kelembagaan



Berlaku sampai : 30 Juni 2023

Yusran, S.Pd., M.Pd.

AR - RANIRY

Surat Bebas Laboratorium



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
Jl. Syekh Abdul Rauf Kopelma Darussalam, Banda Aceh
Web: www.biologi.fst.uin-ar-raniry.ac.id, Email: biologi.ar-raniry@gmail.com



SURAT KETERANGAN BEBAS LABORATORIUM
No: B-20/Un.08/Lab.Bio-FST/PP.00.9/03/2023

Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh dengan ini menerangkan bahwa:

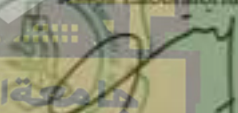
Nama	: Rahmatil Majidah
NIM	: 180703042
Program Studi	: S1-Biologi
Fakultas	: Fakultas Sains dan Teknologi
Perguruan Tinggi	: Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Alamat	: Kopelma Darussalam, Kec. Syiah Kuala Kota Banda Aceh

Benar yang namanya tersebut diatas adalah mahasiswa biologi yang melakukan penelitian dan menggunakan fasilitas alat dan bahan Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh sehingga tidak ada tanggungan biaya alat laboratorium (kecuali bahan & jasa), dan telah menyelesaikan biaya pemakaian bahan laboratorium dalam rangka melaksanakan penelitian skripsi dengan topik:

"Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Selulase di Kawasan Wisata Ie Suum Kabupaten Aceh Besar"

Demikian surat keterangan ini dibuat, agar dapat digunakan semestinya.

Banda Aceh, 20 Maret 2023
Ketua Laboratorium Biologi



Arif Sardi, M.Si

AR - RANIRY

Lampiran 7

Biaya Penelitian

No	Nama Bahan	Kebutuhan	Harga	
1.	Carboxymethyl cellulosa	36 gr	5.000/gr	180.000
2.	Media SCA	5 gr	5.000/gr	25.000
3.	Media TSIA	5 gr	5.000/gr	25.000
4.	Media SIM	5 gr	5.000/gr	25.000
5.	Reagen Kovacs	1,5 mL	13.000/mL	19.500
6.	Larutan H ₂ O ₂	2 mL	2.000/mL	4.000
7.	Nutrient agar	16 gr	5.000/gr	80.000
8.	Glukosa	1 gr	3.000/gr	3.000
9.	Akuades	15 L	3.000/L	45.000
10.	3,5 dinitro salisilat (DNS)	1 gr	55.000/gr	55.000
11.	kapas	200 gr	20.000	20.000
12.	NaOH 2 N	100 mL	28.000	28.000
13.	Natrium hidroksida	2 gr	10.000/gr	20.000
14.	Alkohol 70%	100 mL	1.000/mL	10.000
15.	Larutan congo red	1 gr	125.000/gr	125.000
16.	NaCl 1M	100 mL	28.000	28.000
17.	Botol gelap	5 botol	10.000/botol	50.000
18.	Spritus	2 L	50.000/L	50.000
19.	Minyak imersi	1 mL	13.000	13.000
20.	Malachite green	2 mL	3.000/mL	6.000
21.	Aluminium Foil	1 buah	25.000/buah	25.000
22.	Plastik wrap	1 buah	25.000/buah	25.000
23.	KNa-Tartrat	50 gr	5.000/gr	250.000
24.	Oxidase strip	6 buah	60.000/buah	360.000
25.	Safranin	5 mL	2.000/mL	10.000
26.	Iodine	2 mL	3.000/mL	6.000
27.	Kristal violet	2 mL	2.000/mL	4.000
Total				1.492.000