

Eksplorasi Bakteri Amilolitik Potensial dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel

Yanis Kurnia Basitoh^{1*}, Endang Suarsini¹, dan Sitoresmi Prabaningtyas¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang – Jl. Semarang 5, Malang

*E-mail: yaniskurniabasitoh@gmail.com

Abstrak. Danau merupakan salah satu bentuk ekosistem perairan air. Bakteri amilolitik menghasilkan eksoenzim yang dapat mendegradasi amilum menjadi maltosa, glukosa dan dextrin sehingga penyerapan nutrisi menjadi optimal. Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengetahui bakteri amilolitik yang terisolasi dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel, (2) mengukur kemampuan hidrolisis amilum berdasarkan indeks hidrolisis amilum oleh bakteri amilolitik, (3) menentukan spesies bakteri amilolitik yang mempunyai nilai indeks hidrolisis amilum terbesar. Jenis penelitian ini adalah deskriptif eksploratif. Penelitian dilakukan pada bulan April 2017 sampai Juni 2018 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: (1) sebanyak 53 isolat bakteri bersifat amilolitik dari 89 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel, (2) masing-masing isolat bakteri memiliki indeks hidrolisis amilum yang berbeda yaitu berkisar antara 0,20 – 5,89, (3) *Bacillus subtilis* memiliki nilai indeks hidrolisis tertinggi yaitu 5,89.

Kata Kunci: Bakteri Amilolitik, Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati, Telaga Ngebel.

Abstract. The lake is one of the ecosystem freshwater. Amylolytic bacteria produce exoenzym that can degrade amyllum into maltose, glucose, and dextrin, so that the absorption of nutrients is more optimal. This study aims to: (1) isolation amylyolytic bacteria from Pani Lake, Regulo Lake, Grati Lake, and Ngebel Lake, (2) measure the hydrolysis ability of amyllum based on the amyllum hydrolysis index, (3) determine the amylyolytic bacteria species that have the highest amyllum hydrolysis index. The type of the research is descriptive explorative research. This research was conducted in April 2017 until Juni 2018 at Microbiology Laboratory, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Science, State University of Malang. The results showed that: (1) there were 53 isolates are bacteria amylyolytic of 89 bacteria isolated from Pani Lake, Regulo Lake, Grati Lake, and Ngebel Lake, (2) each isolate of amylyolytic bacteria have different amyllum hydrolysis index that ranges between 0,20 – 5,89, (3) *Bacillus subtilis* has the highest amyllum hydrolysis index is 5,89.

Keywords: Amylolytic bacteria, Pani Lake, Regulo Lake, Grati Lake, Ngebel Lake.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang dikenal dengan biodiversitas yang tinggi. Biodiversitas tersebut, meliputi organisme yang hidup di lingkungan daratan maupun perairan. Danau merupakan salah satu ekosistem perairan air tawar dengan biodiversitas tinggi. Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Danau Ngebel merupakan contoh dari danau yang ada di Jawa Timur. Keempat danau tersebut dijadikan sebagai tempat konservasi serta pariwisata (Departemen Kehutanan, 2009). Selain digunakan sebagai pariwisata Ranu Grati dan Danau Ngebel juga dimanfaatkan dalam sektor perikanan.

Mikroba tidak dapat dipisahkan dengan lingkungan abiotik dan biotik dari suatu ekosistem karena peranannya sebagai pengurai. Bakteri heterotrofik merupakan salah satu mikroba yang tersedia melimpah dan mempunyai banyak spesies yang berperan dalam berbagai proses di ekosistem (Liu et al., 2016). Bakteri heterotrofik mampu menghasilkan enzim ekstraseluler sehingga dapat memanfaatkan dan mendegradasi senyawa organik kompleks baik yang mengandung unsur C, H, dan N. Bakteri heterotrofik ini mampu mendegradasi senyawa organik berbentuk polimer menjadi monomer (Grivalsky et al., 2016). Pada ekosistem perairan bakteri heterotrofik ini berperan dalam mendekomposisi bagian dari tanaman yang telah mati, fitoplankton yang telah mati dan hewan yang telah mati. Enzim ekstra-seluler yang dapat dihasilkan oleh bakteri heterotrofik untuk mendekomposisi senyawa organik salah satunya yaitu enzim amilase. Enzim ini berperan dalam menghidrolisis molekul pati menjadi gula sederhana seperti oligosakarida, maltosa, dekstrin, dan glukosa (Demissie, 2014).

Jenis enzim amilase yang dapat dihasilkan oleh bakteri yaitu α -amilase, β -amilase dan γ -amilase (Enny, 2008). Ketiga kelompok enzim tersebut bekerja menghidrolisis pati menjadi senyawa yang lebih sederhana. Enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri potensial dapat dimanfaatkan dalam proses industri pangan, fermentasi dan industri farmasi (Kathiresan dan Manivannan, 2006). Amilase mewakili sekitar 30% dari produksi enzim industri di seluruh dunia (Purnawan, 2015). Enzim amilase dalam dunia industri pangan digunakan untuk memproduksi sirup glukosa, sirup jagung tinggi fruktosa dan sirup maltosa (Sivaramakrishnan, 2006). Sedangkan pada industri non pangan enzim ini dimanfaatkan pada industri tekstil, kertas dan deterjen (Souza et al., 2010).

Terdapat beberapa contoh penelitian mengenai bakteri penghasil amilase yang dilakukan di berbagai danau pada Tunisia (Baati et al., 2010), Turkey (Birbir et al., 2004), dan Ethiopia (Demissie, 2014). Penelitian mengenai biodiversitas bakteri pada danau di Indonesia masih sangat jarang dilakukan. Padahal Indonesia merupakan daerah tropis yang lembab dan memiliki wilayah yang luas, sehingga mempunyai biodiversitas mikrobial yang tinggi. Mikrobial lokal terseleksi dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim (Naiola, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengetahui bakteri amilolitik yang terisolasi dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel, (2) mengukur kemampuan hidrolisis amilum berdasarkan indeks hidrolisis amilum oleh bakteri amilolitik, (3) menentukan spesies bakteri amilolitik yang mempunyai nilai indeks hidrolisis amilum terbesar.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2017 hingga Juli 2018. Lokasi penelitian untuk pengambilan sampel dilakukan di

Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel. Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan di Ruang 305 Laboratorium Mikrobiologi Gedung O5 Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang. Identifikasi spesies bakteri dilakukan di Laboratorium Penguji, Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Payau Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Jawa Timur yang berada di Bangil, Kabupaten Pasuruan.

Pengambilan sampel pada masing-masing danau dilakukan pada 5 titik. Masing-masing titik diambil sampel air dengan 4 variasi kedalaman yaitu permukaan, tengah, bawah dan dasar sebanyak 100ml. Sample air diinokulasi pada medium PCA. Koloni bakteri yang tumbuh diisolasi dan dimurnikan pada medium NA miring dengan metode goresan. Isolat bakteri yang sudah murni diuji kemampuan hidrolisis amilum dengan mengukur indeks hidrolisis amilum. Pengujian indeks hidrolisis amilum menggunakan medium Amilum Agar. Isolat bakteri digoreskan pada medium cawan Amilum Agar menggunakan metode kuadran. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam dan ditetesi dengan larutan iodium. Koloni bakteri yang tumbuh terpisah dan membentuk zona bening dapat dihitung indeks hidrolisis amilumnya. Indeks hidrolisis amilum diukur berdasarkan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri.

Hasil perhitungan indeks hidrolisis amilum oleh isolat bakteri dari keempat danau tersebut selanjutnya dianalisis dengan Anava Tunggal dengan Uji Lanjut Duncan. Isolat bakteri yang memiliki indeks hidrolisis amilum tertinggi diidentifikasi untuk mengetahui spesiesnya.

HASIL

Penelitian ini berhasil mengisolasi bakteri sebanyak 89 isolat berdasarkan perbedaan morfologi bakteri dari keempat danau.

Tabel 1. Hasil Seleksi Bakteri Amilolitik dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel

No.	Isolat Ranu Regulo	Hasil	Isolat Ranu Grati	Hasil	Isolat Telaga Ngebel	Hasil
1	A	+	G1	+	AN	-
2	B	+	G2	+	BN	-
3	B1	+	G3	-	CN	-
4	B2	+	G4	+	DN	+
5	C	+	G5	-	EN	+
6	D	+	G6	+	FN	+
7	E	+	G7	-	GN	+
8	G	+	G8	-	HN	+
9	H	+	G9	-	IN	+
10	H2	+	G10A	-	JN	+
11	I	+	G10B	+	KN	+
12	J	+	G11	-	LN	-
13	K	+	G12	-	MN	-
14	K2	-	G13	+	NN	+
15	L	+	G14	+	ON	-

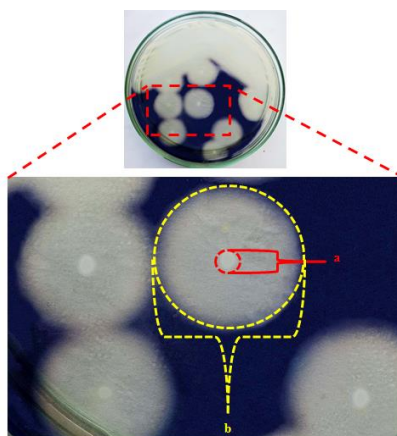
16	L1	+	G15	-	PN	+
17	L2	+	G16	-	QN	-
18	M	+	G17	-	RN	-
19	N	+	G18	+	SN	-
20	O	+	G19	-	TN	+
21	P	+	G20	+	UN	-
22	Q	+	G21	-	VN	+
23	R	+	G22	-	-	-
24	S	-	G23	+	-	-
25	T	+	G24	+	-	-
26	U	+	G25	-	-	-
27	V	+	G26	-	-	-
28	W	-	G27	-	-	-
29	X	+	G28	-	-	-
30	Y	-	G29	-	-	-
31	-	-	G30	+	-	-
32	-	-	G31	-	-	-
33	-	-	G32	+	-	-
34	-	-	G33	+	-	-
35	-	-	G34	-	-	-
36	-	-	G35	-	-	-
37	-	-	G36	+	-	-
Total		26		15		12
Total keseluruhan bakteri amilolitik = 53						

Catatan: (+) = Memiliki Kemampuan Hidrolisis Amilum
 (-) = Tidak Memiliki Kemampuan Hidrolisis Amilum

Berdasarkan hasil seleksi bakteri amilolitik diketahui bahwa dari 30 isolat bakteri Ranu Pani dan Ranu Regulo terdapat 26 isolat bakteri yang bersifat amilolitik. Pada Ranu Grati dari 37 isolat bakteri, 15 isolat bakteri menunjukkan sifat amilolitik. Selanjutnya dari 22 isolat bakteri dari Telaga Ngebel terdapat 12 isolat bakteri yang bersifat amilolitik. Jumlah isolat bakteri yang bersifat amilolitik dari ketiga danau yaitu sebanyak 53 isolat bakteri (Tabel 1). Isolat bakteri yang mampu menghidrolisis amilum maka akan membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri setelah ditetesi dengan larutan iodium.

Untuk mengetahui kemampuan masing-masing isolat maka dilakukan pengukuran indeks hidrolisis amilum. Pengukuran indeks hidrolisis amilum terhadap masing-masing isolat bakteri menggunakan metode *quadrant streak plate* pada medium amilum agar (Gambar 1).

Berdasarkan Tabel 2. diketahui bahwa nilai indeks hidrolisis amilum isolat bakteri dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel berbeda-beda berkisar antara 0,2 – 5,89. Data nilai indeks hidrolisis amilum oleh bakteri amilolitik selanjutnya diuji statistik. Uji statistik menggunakan Uji ANAVA pola satu arah Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk mengetahui perbedaan nilai indeks hidrolisis amilum terhadap masing-masing isolat bakteri yang diuji. Ringkasan hasil uji ANAVA dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 1. Pengukuran Indeks Hidrolisis Amilum pada Isolat Bakteri L. (a) Diameter koloni bakteri dan (b) Diameter zona bening.

Tabel 2. Rerata Hasil Pengukuran Indeks Hidrolisis Bakteri Amilolitik

No	Ranu Pani dan Ranu Regulo		Ranu Grati		Telaga Ngebel	
	Kode Spesies	Rerata Indeks Hidrolisis	Kode Spesies	Rerata Indeks Hidrolisis	Kode Spesies	Rerata Indeks Hidrolisis
1	A	1,41	G1	2,01	DN	1,27
2	B	1,50	G2	1,00	EN	1,72
3	B1	1,55	G4	0,30	FN	2,98
4	B2	0,72	G6	0,57	GN	2,13
5	C	1,50	G10B	1,67	HN	3,04
6	D	4,65	G13	3,77	IN	4,08
7	E	1,03	G14	1,64	JN	3,11
8	G	1,35	G18	2,53	KN	4,63
9	H	1,65	G20	0,20	NN	3,12
10	H2	1,62	G23	1,41	PN	1,60
11	I	1,64	G24	1,14	TN	2,19
12	J	1,76	G30	1,98	VN	4,15
13	K	0,80	G32	2,12		
14	L	5,90	G33	4,70		
15	L1	2,50	G36	1,89		
16	L2	1,36				
17	M	1,59				
18	N	1,55				
19	O	1,81				
20	P	4,02				
21	Q	1,46				
22	R	1,40				
23	T	1,45				
24	U	1,92				
25	V	3,43				
26	X	1,63				

Tabel 3. Ringkasan Hasil Uji ANAVA Perbedaan Nilai Indeks Hidrolisis Amilum oleh Bakteri Amilolitik dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel.

	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	F _{hitung}	F _{tabel 5%}	Sig.
Perlakuan	13.648	52	.262	16.550	1.58	.000
Galat	.840	53	.016			
Total	14.488	105				

Tabel 3. menunjukkan bahwa F_{hitung} nilai indeks hidrolisis amilum amilum $> F_{tabel 5\%}$ dengan taraf signifikan $p < 0,01$, sehingga terdapat pengaruh perbedaan isolat bakteri amilolitik terhadap nilai indeks hidrolisis amilum. Data selanjutnya diuji dengan uji Duncan dengan taraf signifikansi 5% untuk mengetahui isolat bakteri yang memiliki nilai indeks hidrolisis amilum tertinggi

Hasil Uji menunjukkan bahwa isolat bakteri L yang berasal dari Ranu Regulo dan Ranu Pani memiliki nilai indeks hidrolisis tertinggi yaitu sebesar 5,89 dan berbeda nyata dengan isolat bakteri lainnya. Isolat bakteri yang mempunyai nilai indeks hidrolisis amilum terendah yaitu isolat G20 berasal dari Ranu Grati sebesar 0,2. Isolat bakteri L hanya ditemukan pada Ranu Pani. Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat bakteri L hanya ditemukan di stasiun 2 dan stasiun 4. Distribusi isolat bakteri L berada pada stasiun 2 ada di kedalaman 2 yaitu tengah, sedangkan pada stasiun 4 ada di kedalaman 1 dan 2 yaitu permukaan dan tengah.

Tahap selanjutnya yaitu mengidentifikasi untuk mengetahui spesies bakteri amilolitik yang mempunyai indeks hidrolisis amilum terbesar. Isolat bakteri L mempunyai deskripsi morfologi koloni berwarna putih. Bentuk koloni isolat bakteri kode L yaitu tak beraturan dan menyebar. Tepi koloni dari isolat bakteri kode L yaitu berombak dan mempunyai elevasi cem-bung. Koloni isolat bakteri kode L tidak pekat dan suram. Diameternya yaitu 0,285 cm. Setelah dilakukan pewarnaan gram isolat bakteri kode L mempunyai bentuk sel batang serta termasuk kelompok gram positif. Identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Penguji Unit Pelaksana Teknis Pengembangan Budidaya Air Payau Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Jawa Timur. Identifikasi bakteri menggunakan BD BBL *Crystal Kits*. Hasil identifikasi biakan murni isolat bakteri kode L menunjukkan spesies *Bacillus subtilis*.

PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat 89 isolat bakteri yang berbeda berdasarkan ciri morfologinya. Bakteri pada perairan danau umumnya bersifat heterotrofik. Bakteri heterotrofik tersebut tersedia melimpah dalam berbagai ekosistem, salah satunya yaitu perairan danau (Liu et al., 2016). Keberadaan bakteri heterotrofik pada perairan danau dipengaruhi oleh adanya bahan organik yang terdapat di dalam perairan danau yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri (Yuningsih et al., 2014). Bakteri heterotrofik mampu menguraikan senyawa

organik kompleks baik yang mengandung unsur C, H, dan N menjadi senyawa yang lebih sederhana karena mampu menghasilkan enzim ekstraseluler (Grivalsky et al., 2016). Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Rusdiantara (2000) bahwa bakteri menggunakan nutrisi yang terdapat pada lingkungan hidupnya melalui berbagai aktivitas biokimia.

Amilum merupakan salah satu zat organik yang terdapat dalam lingkungan perairan danau. Amilum merupakan suatu cadangan makanan pada bagian sel tumbuhan berbentuk butiran pada yang terdiri dari amilopektin dan amilosa (Sari et al., 2017). Struktur kimia dari molekul amilum adalah polimer dari ikatan α -1-4 glukopiranosose dengan cabang α -1-6 (Jane, 1995). Pada ekosistem perairan, bakteri amilolitik berperan dalam mendegradasi amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana (Rahmansyah et al., 2010).

Bakteri amilolitik merupakan bakteri yang mampu mendegradasi amilum menjadi senyawa sederhana dengan menghasilkan enzim amilase (Rahmiati et al., 2016). Enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik untuk mendegradasi amilum umumnya merupakan enzim ekstraseluler. Enzim ekstraseluler adalah enzim yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel (Nangin et al., 2015). Ada 3 jenis enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri amilolitik yaitu α -amilase, β -amilase dan γ -amilase (Enny, 2008). Enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik berfungsi sebagai biokatalisator yang mengkatalis proses hidrolisis amilum menjadi glukosa, maltosa dan dekstrin (Hanzen, 2017).

Masing-masing isolat bakteri amilolitik mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menghidrolisis amilum (Hastuti et al., 2017). Untuk mengetahui kemampuan indeks hidrolisis amilum suatu bakteri dapat menggunakan media selektif yaitu media Amilum Agar (Suprpto, et al., 2014). Media amilum agar terdiri dari nutrient agar + 1% pati (Vijayalakshmi et al., 2012). Isolat bakteri yang sudah murni diinokulasikan pada media Amilum Agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Media Amilum Agar yang telah ditumbuhi oleh bakteri ditetesi dengan larutan iodium (Soraya, 2012). Isolat bakteri yang positif bersifat amilolitik akan menghasilkan zona bening di sekitar koloni bakterinya (Sudarram et al., 2014).

Proses hidrolisis amilum oleh bakteri amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri setelah ditetesi dengan larutan iodium. Media yang berwarna kehitaman menandakan bahwa tidak terjadi proses hidrolisis amilum (Sudarram et al., 2014). Terbentuknya warna biru kehitaman pada media disebabkan karena molekul iodium masuk ke dalam molekul amilum sehingga terbentuk ikatan iod amilum (Wahyuni et al., 2014). Apabila amilum pada media telah terhidrolisis maka tidak akan terjadi ikatan iod amilum sehingga terbentuk zona bening.

Berdasarkan hasil penelitian dari 89 isolat bakteri yang berhasil diisolasi 53 diantaranya bersifat amilolitik yang terdiri dari 26 isolat dari Ranu Pani dan Regulo, 15 isolat dari Ranu Grati serta 12 isolat dari Telaga Ngebel. Masing-masing isolat bakteri amilolitik diuji indeks

hidrolisisnya menggunakan metode cawan goresan kuadran (Quadrant Strike Plate) pada medium selektif Amilum Agar (Sanders, 2012). Hasil perhitungan indeks hidrolisis amilum oleh isolat bakteri dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Rau Grati dan Telaga Ngebel menunjukkan nilai indeks hidrolisis amilum yang berbeda-beda, berkisar antara 0,2 - 5,89.

Nilai indeks hidrolisis yang telah didapat dianalisis untuk mengetahui isolat bakteri amilolitik yang mempunyai aktivitas amilolitik tertinggi. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa isolat 20 yang berasal dari Grati memiliki indeks hidrolisis terendah yaitu sebesar 0,2, sedangkan indeks hidrolisis amilum paling tinggi yaitu isolat L yang berasal dari Ranu Pani sebesar 5,89. Setelah dilakukan identifikasi isolat L merupakan bakteri spesies *Bacillus subtilis*. Nilai indeks hidrolisis amilum yang dimiliki oleh *Bacillus subtilis* paling tinggi dibandingkan dengan isolat 52 isolat bakteri lainnya. Hasil uji Duncan 5% menyatakan bahwa nilai indeks hidrolisis amilum yang dimiliki oleh *Bacillus subtilis* berbeda nyata dengan isolat bakteri amilolitik lainnya.

Bacillus subtilis merupakan bakteri amilolitik, didukung oleh penelitian yang dilakukan Alariya et al., (2013). Hal tersebut juga didukung oleh Aini et al., (2013) bahwa *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan enzim amilase yang disekresikan pada medium tempat tumbuhnya. Pada penelitian ini diketahui bahwa bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai indeks hidrolisis amilum tertinggi yaitu sebesar 5,89. Namun hasil penelitian yang dilakukan oleh Islam et al., (2016) menyebutkan bahwa indeks hidrolisis amilum oleh bakteri *Bacillus subtilis* sebesar 1,41. Indeks hidrolisis amilum tersebut juga berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Osturk et al., (2014) yang menyatakan bahwa nilai indeks hidrolisis amilum *Bacillus subtilis* sebesar 8. Perbedaan indeks hidrolisis pada masing-masing hasil penelitian tersebut dapat terjadi karena bakteri *Bacillus subtilis* yang ditemukan memiliki strain yang berbeda (Singh et al., 2014).

Penelitian penelitian tersebut menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp. berpotensi digunakan sebagai agen untuk menghasilkan eksoenzim khususnya enzim pendegradasi amilum. Hal ini didukung oleh pernyataan Dash et al., (2015) bahwa spesies dari *Bacillus*, terutama *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, dan *Bacillus stearothermophilus* dilaporkan menghasilkan sekitar 60% enzim secara komersial.

Droffner et al., (1985) menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* dapat tumbuh pada rentangan suhu 5°C-55°C. Namun bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim amilase secara optimal pada suhu 40°C (Fitiani et al., 2013). *Bacillus subtilis* memberikan banyak manfaat kepada manusia dalam berbagai bidang, salah satunya yaitu bidang industri. Bakteri tersebut digunakan sebagai salah satu agen penghasil enzim dalam dunia industri karena sifatnya yang relatif mudah dimanipulasi secara genetik (Soesanto, 2008). Selain di bidang industri bakteri *Bacillus subtilis* juga berperan di bidang pertanian sebagai pengendali patogen tanaman (Suriani et al., 2016).

Peran bakteri amilolitik pada perairan danau yaitu untuk mendegradasi bahan organik, khususnya amilum yang ada di perairan danau (Rahmansyah et al., 2010). Amilum dalam perairan danau berasal dari sisa-sisa tumbuhan yang telah mati, fitoplankton dan aktivitas manusia. aktivitas manusia yang dapat menambah konsentrasi amilum pada perairan yaitu sisa dari proses pertanian, perikanan dan limbah rumah tangga. Pakan ikan mengandung 40,2% karbohidrat seperti amilum, yang apabila tidak habis dimakan oleh ikan maka akan menambah konsentrasi amilum dalam perairan danau (Marzuqi, 2015). Bakteri amilolitik berperan penting dalam perairan danau. Bakteri tersebut akan mendegradasi amilum menjadi senyawa sederhana sehingga dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup autotrof sebagai sumber carbon untuk pertumbuhannya (Nuchsin, 2007).

Bakteri amilolitik dalam mendegradasi amilum yang ada di dalam perairan danau dilakukan secara bertahap. Amilum tidak langsung bisa diubah menjadi glukosa oleh enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri. Awalnya amilum akan dihidrolisis menjadi senyawa dekstrin berupa polisakarida. Polisakarida yang terbentuk dihidrolisis lagi menjadi oligosakarida berupa maltosa. Maltosa selanjutnya diubah menjadi monosakarida dalam bentuk glukosa (Brewster, 1953). Amilum yang telah terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup autotrof dapat mengurangi akumulasi bahan organik pada perairan danau (Nuchsin, 2007). Bakteri amilolitik bertugas mendegradasi bahan organik sehingga dapat menjadi nutrisi yang dimanfaatkan oleh fitoplankton untuk bisa tumbuh, sedangkan fitoplankton menyediakan senyawa organik kepada bakteri untuk pertumbuhannya.

Keberadaan bakteri amilolitik di alam tersedia melimpah. Hal tersebut dibuktikan pada penelitian ini bahwa terdapat 53 isolat bakteri yang bersifat amilolitik dari 89 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati, dan Telaga Ngebel. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang paling besar indeks hidrolisisnya. Bakteri tersebut mempunyai distribusi pada kedalaman 1 dan 2 yaitu berada di permukaan dan tengah. Hal tersebut sesuai dengan referensi bahwa *Bacillus subtilis* mempunyai tipe respirasi aerob dan ada juga yang anaerob fakultatif tergantung dari strain (Suriani, 2016).

Beberapa spesies bakteri amilolitik yang berhasil diisolasi mempunyai potensi untuk dimanfaatkan dalam bidang industri. Salah satunya yaitu *Bacillus subtilis* yang mempunyai indeks hidrolisis amilum paling besar. *Bacillus subtilis* telah dikembangkan dunia industri karena sifatnya yang lebih mudah direkayasa genetik (Soesanto et al., 2008). Salah satu manfaat *Bacillus subtilis* dalam dunia industri yaitu digunakan untuk menghasilkan enzim hidrolase. Salah satu enzim yang dapat dimanfaatkan yaitu enzim amilase. Enzim amilase mempunyai peran yang luas dalam bidang pangan dan industri. Enzim amilase yang dihasilkan oleh mikroba salah satunya bakteri mampu menggantikan berbagai proses kimia dalam industri yang bersifat lebih efektif dan ramah

lingkungan (Singh et al., 2016). Enzim amilase dalam bidang pangan dimanfaatkan untuk memproduksi sirup glukosa, sirup jagung tinggi fruktosa dan sirup maltosa (Sivaramakrishnan, 2006). Industri lain memanfaatkan enzim amilase dalam proses produksi tekstil, kertas dan detergen (Souza et al., 2010).

KESIMPULAN

Penelitian berhasil mengisolasi bakteri dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebel sebanyak 89 isolat. Isolat bakteri yang bersifat amilolitik sebanyak 53 isolat bakteri. Masing-masing isolat bakteri memiliki nilai indeks hidrolisis yang berbeda-beda yaitu berkisar antara 0,20 - 5,89. Nilai indeks hidrolisis amilum tertinggi dimiliki oleh isolat L yang merupakan spesies *Bacillus subtilis* sebesar 5,89.

DAFTAR RUJUKAN

- Aini, F.N., S. Sukamto, D., Wahyuni, R.G., Suhesti, & Q. Ayyunin. (2013). Penghambatan Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis*, dan *Pseudomonas fluorescens*. *Jurnal Pelita Perkebunan*, 29 (1), 44-52.
- Alariya, S.S., Sethi, S., Gupta, B.L. 2013. Amylase Activity of A Starch Degrading Bacteria Isolated from Soil. *Archives of Applied Science Research*, 5(1), 15-24.
- Baati, H., Amdouni, R., Gharsallah, N., Sghir, A., & Ammar, E. (2010). Isolation and Characterization of Bacteria from Tunisian Solar Saltern. *Curr. Microbial*, 60, 157-161.
- Birbir, M., Ogan, A., Calli, B., & Mertoglu, B. (2004). Enzyme Characteristics of Extremely Halophilic Archaeal Community in Tuzkoy Salt Mine, Turkey. *World. J. Microbiol. Biotechnol*, 20, 613-621.
- Brewster, R.Q. (1953). *Organic Chemistry*. USA: Prentice Hall, Inc.
- Dash, B.K., Rahman, M.M., & Sarker, P.K. (2015). Molecular Identification of a Newly Isolated *Bacillus subtilis* BI19 and Optimization of Production Conditions for Enhanced Production of Extracellular Amylase. *BioMed Research International*, 1 (1), 1-9.
- Demissie, A.G. (2014). Isolation, Characterization and Cultivation of Novel Bacteria from Lake Chamo for Production of Amylase. *Academia Journal of Microbiology Research*, 2 (2), 54-60.
- Departemen Kehutanan Malang. 2009. Ranu Pani (Online). Diambil dari <http://kehutanan.malangkab.go.id/>
- Droffner & Yamamoto. (1985). *Isolation of Thermophilic Mutans of Bacillus subtilis and Bacillus pumillus and Transformation Of The Thermophilic*.
- Enny, W. 2008. Peranan Mikroba Tanah Pada Kegiatan Rehabilitasi Lahan Bekas Tambang. *Jurnal Info Hutan*, 5 (2), 151-160.

- Fitiani, A., Supriyanti, F.M.T., & Heryanto, T.E. 2013. Penentuan Aktivitas Amilase Kasar Termofil *Bacillus subtilis* Isolat Kawah Gunung Drajat Garut, Jawa Tengah. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 15 (2), 107-113.
- Hanzen, E.F.W., Hastuti, S.U., Makkadafi, P.S., Asna, A.M.P., & Nugraheni, A.S.F. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Amilolitik dari Tanah yang Tercampur Limbah Kulit Ubi Kayu Di Bondowoso, Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional III, Jurusan Biologi FKIP UMM*.
- Hastuti, U.S., Nugraheni, F.S.A., & Asna, P.M.A. (2017). Isolasi dan Identifikasi Spesies Bakteri Amilolitik yang Berasal dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan, Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional III Tahun 2017, Jurusan Biologi FKIP UMM*.
- Islam, R., Mondol, O.K., Rahman, S., Billah, M., Rahman, M.S., & Zohora, U.S. (2016). Screening of α -Amylase Producing Bacteria from Tannery Wastes of Hazaribag, Bangladesh. *Jahanginagar University Journal Biology Science*, 5 (2), 1-10.
- Jane, J. (1995). Starch Properties, Modifications, and Applications. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 32 (4), 751-757.
- Kathiresan, K. & Manivannan, S. (2006). α -Amylase Production by *Penicillium fellutanum* Isolated From Mangrove Rhizosphere Soil. *Afr. J. Biotechnol*, 5, 829-832.
- Liu, K., Liu Y., Jiao, N., Zhu, L., Wang, J., Hu, A., & Liu, X. (2016). Vertical, Variation of Bacteria Community In Nam Co, A Large Stratified Lake In Central Tibetan Plateau. *Antonie van Leeuwenhoek*, 109, 1323-1335.
- Naiola, Elidar. (2008). Mikrobial Amilolitik pada Nira dan Laru dari Pulau Timor, Nusa Tenggara Timur. *BIODIVERSITAS*, 9 (3), 165-168.
- Nangin, D & Sutrisno, A. (2015). Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah Dari Mikroba. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3 (3), 1032-1039.
- Nuchsin, R. (2007). Distribusi Vertikal Bakteri dan Kaitannya Dengan Konsentrasi Klorofil-a di Perairan Kalimantan Timur. *Jurnal Makara Sains*, 11 (1), 10-15.
- Ozturk, U., Denizci A.A., Kazan, D., & Ogan, A. (2014). A Malooligosaccharides Production α -Amylase from *Bacillus subtilis* SPD1 Isolated from Rhizosphere of *Acacia cyanophylla*. *Food Biotechnology*, 28 (4), 309-332.
- Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, P.A., Rahmani, N., & Yopi. (2015). Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*). *Jurnal Biologi Indonesia*, 11 (2), 215-224.
- Rahmansyah, M & Sudiana, M.I. (2010). Soil Microbial Enzymatic Activity Relate To Role of Methanotrophic Bacteria In the Tropical Forest Soil of Gunung Salak National Park. *ARPJN Journal of Agricultural and Biological Science*, 5 (2): 51-57.

- Rahmiati, Pujiyanto,S., & Kusdiyantin, E. (2016). Eksplorasi Mikroba Penghasil Enzim-enzim Hidrolitik di Kawasan Taman Nasional Lore Lindu Sulawesi Tengah. *Jurnal Bioma*, 18 (1): 14-19.
- Sanders, R.E. 2012. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. *Journal of Visualized Experiments*, 1 (63), 1-18.
- Sari, A.K., Indriyani, S., Ekowati, G., & Jati Batoro. (2017). Keragaman Struktur Butir Amilum, Kadar Tepung, dan Clustering Delapan Taksa Tanaman Berumbi di Desa Simo Kecamatan Kendal Kabupaten Ngawi. *Jurnal Biotropika*, 5 (1), 14-21.
- Singh, P. & Rani, A. (2014). Isolation and Partial Characterization of Amylase Producing Bacillus sp. from Soil. *International Journal of PharmTech Research*, 6 (7), 2064-2069.
- Singh, R., Mittal, A., Kumar, M., & Mehta, K.P. (2016). Amylases: A Note on Current Applications. *International Research Journal of Biological Sciences*, 5 (11), 27-32.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K.D., Sossol, C.R., & Pandey, A. (2006). α -Amylase from Microbial Sources-An overview on Recent Developments. *Food. Technol. Biotechnol*, 44, 173-184.
- Soesanto, L. (2008). *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Souza, M.P & Magalhaes, P.O. (2010). *Aplication of Mikrobial α -Amylae in Industry*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 850-861.
- Sundarram, A., & Murthy, K.P.R. 2014. α -Amylase Production and Aplpications. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2 (4), 166-175.
- Suriani & Muis, A.2016. Prospek Bacillus subtilis Sebagai Agen Pengendalian Hayati Patogen Tular Tanah Pada Tanaman Jagung. *Jurnal Litbang*, 35 (1): 37-45.
- Vijayalakshmi, Sushma, K., Abha, S., & Chander, P. (2012). Isolation and Characterization of Bacillus subtilis KC3 for Amylolytic Activity. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 2 (5): 336-341.
- Wahyuni, S., Lianto., & Khaeruni, A.2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Manolitikasal Bonggol Pohon Sagu. *Jurnal Agroteknos*, 4 (3): 174-179.
- Yuningsih, H.D., Soedarsono, P., & Anggoro, S. (2014). Hubungan Bahan Organik dengan Produktivitas Perairan pada Kawasan Tutupan Eceng Gondok, Perairan Terbuka dan Keramba Jaring Apung Di Rawa Pening Kabupaten Semarang Jawa Tengah. *Diponegoro Journal of Management Of Aquatic Resources*, 3 (1), 37-43.