

**ISOLASI BAKTERI AMILOLITIK TERMOFILIK DARI
SUMBER AIR PANAS PACET MOJOKERTO DAN
PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE**

SKRIPSI

Oleh :
MEGA PUSPITA SARI
10620056



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
2014**

**ISOLASI BAKTERI AMILOLITIK TERMOFILIK DARI
SUMBER AIR PANAS PACET MOJOKERTO DAN
PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)

Oleh :
MEGA PUSPITA SARI
10620056

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
2014**

**ISOLASI BAKTERI AMILOLITIK TERMOFILIK DARI
SUMBER AIR PANAS PACET MOJOKERTO DAN
PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE**

SKRIPSI

Oleh:
MEGA PUSPITA SARI
NIM. 10620056

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal 11 November 2014

Dosen Pembimbing I

Anik Maunatin, M.P
NIK. 2014 0201 2412

Dosen Pembimbing II

Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIPT. 2013 0902 1313

Tanggal 11 November 2014



**ISOLASI BAKTERI AMILOLITIK TERMOFILIK DARI
SUMBER AIR PANAS PACET MOJOKERTO DAN
PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM AMILASE**

SKRIPSI

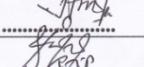
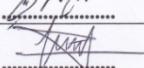
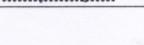
Oleh :

MEGA PUSPITA SARI

NIM. 10620056

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 4 Desember 2014

Penguji Utama	<u>Dr. Hj Ulfah utami, M.Si</u> <u>NIP. 196 50509 199903 2 002</u>	
Ketua Penguji	<u>Ir. Liliek Harianie AR, M.P</u> <u>NIP. 19620901 199803 2 001</u>	
Sekretaris Penguji	<u>Anik Maunatin M.P</u> <u>NIK. 2014 0201 2412</u>	
Anggota Penguji	<u>Mujahidin Ahmad, M.Sc</u> <u>NIPT. 2013 0902 1313</u>	



SURAT PERNYATAAN
ORISINIL PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mega Puspita Sari

NIM : 10620056

Fakultas / Jurusan : Sains Dan Teknologi / Biologi

Judul penelitian : Isolasi Bakteri Amilolitik Termofilik Dari Sumber Air PanasPacet Mojokerto Dan Pengujian Aktivitas Enzim Amilase

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur – unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur - unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang , 04 Desember 2014

Yang membuat pernyataan,



Mega Puspita Sari
NIM. 10620056

MOTTO

فِيَ إِلَهٌ مُّنْتَهٰى تُكَذِّبَانِ

*Maka nikmat Tuhan kamu
yang manakah yang kamu
dustakan?*

Lembar Persembahan

Segala puji atas kehadirat *Allah* yang telah memberikan Rahmat serta Hidayah-Nya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan ukiran indah ini, dan Sholawat serta Salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad SholaAllahu Alaihi Wasalam, yang dengan Syafa'at beliaulah saya bisa menyelesaikan kuliah selama empat tahun di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Ku persembahkan karya ini kepada Allah Subhanahu Wata'ala, kemudian untuk kedua orang tuaku Bapak Yahya dan ibu Sumarti yang selalu memotivasi, menasehati dan mendo'akan agar di beri kelancaran dalam menuntut ilmu.

Kakakku Lukman Hakim dan adik Asjaru Yahya serta Mbak Sita yang selalu memberi semangat dan dukungan agar tidak mudah putus asa.

Segenap guru-guruku yang telah memberikan ilmu dan pengalaman selama ini yang begitu sangat berarti.

Arif yang telah banyak membantu dan selalu ada waktu serta sebagai penyemangat selama di Kota dingin ini.

Sahabat-sahabat biologi B tercinta time, krim, flofa, mbak hik, Julia,vievie, unie mar'ah, son, ustaz, tejo dan yang lain yang tak dapat disebutkan satu persatu semoga kelak kita dapat di pertemukan lagi, tetaplah berjuang menggapai mimpi-mimpi kalian sahabat.

Tumik fam's : Oton, Nunung, Kanjeng, Bebeg, Coco, Firman dan Nizar terimakasih atas motivasi dan semangatnya selama ini.

Keluarga besar PPDU Al-fadholi, terimakasih telah menjadi keluarga selama diperantauan.

Masih banyak orang-orang yang sangat berarti dalam hidup ku, semoga silaturrahmi diantara kita tetap terjaga.

amin

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahhirobbil ‘alamiin, puji syukur kepada Allah Subhanahu Wata’ala yang senantiasa memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga skripsi dengan judul “Isolasi Bakteri Amilolitik Termofilik Dari Sumber Air Panas Pacet Mojokerto Dan Pengujian Aktivitas Enzim Amilase” ini dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini, untuk itu iringan do'a serta ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaramah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri,M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Anik Maunatin M.P. selaku Dosen Pembimbing Utama, karena atas bimbingan, pengarahan, dan kesabaran beliau penulisan tugas akhir dapat terselesaikan.
5. Mujahidin Ahmad M.Sc, selaku dosen Pembimbing Agama, karena atas bimbingan, pengarahan, dan kesabaran beliau penulisan tugas akhir dapat terselesaikan.
6. Kiptiyah, M.Si selaku dosen wali, karena atas bimbingan, pengarahan, dan kesabaran beliau penulisan tugas akhir dapat terselesaikan.
7. Segenap Dosen dan Staf Administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang juga memberika pengarahan dalam penulisan tugas akhir.
8. Peneduh Jiwa Bapak Yahya dan Ibu Sumarti tercinta yang selalu memberikan do'a dan motivasi yang tiada henti sehingga penulisan tugas akhir dapat terselesaikan dengan baik.

9. Kakak tersayang Lukman Hakim dan adik ku M.Asjaru Yahya yang selalu ada untuk penulis, serta memberikan do'a dan motivasi yang tiada henti kepada penulis hingga skripsi ini terselesaikan.
10. Arif yang telah banyak membantu dan selalu ada waktu untuk penulis dan selalu memotivasi penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.
11. Teman seperjuangan dilaboratorium mikrobiologi Afif, zaim, jenk nuna, iva krim dan sahabat-sahabat terbaik yang senantiasa mendukung penulis menyelesaikan skripsi ini.
- 12.Teman-teman Biologi, yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu khususnya biologi kelas B angkatan 2010 yang memberikan semangat dan dukungan bagi penulis sehingga Skripsi ini selesai dengan baik.
13. Temen-temen PPDU Al-Fadholi yang memberikan semangat dan mendukung penulis menyelesaikan skripsi ini.
14. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang memberikan doa, semangat, dukungan, saran dan pemikiran sehingga penulisan ini menjadi lebih baik dan terselesaikan.

Semoga Allah memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Sebagai akhir kata, penulis berharap skripsi ini bermanfaat dan dapat menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Batasan Masalah	7
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	8
2.1 Bakteri termofilik	8
2.2 Amilum	11
2.3 Enzim	14
2.4 Enzim Amilase	16
2.5 Amilase dari Mikroorganisme	18
2.6 Identifikasi Spesies Bakteri Menggunakan <i>Microbact</i> (Oxoid)	21
2.7 Penentuan Aktivitas Enzim Amilase dengan Metode DNS	22
2.8 Sumber Air Panas Pacet Mojokerto	23
BAB III. METODE PENELITIAN	25
3.1 Rancangan Penelitian	25
3.2 Waktu dan Tempat	25
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.3.1 Alat penelitian	25
3.3.2 Bahan Penelitian	26
3.4 Cara Kerja	26
3.4.1 Pembuatan Media	26
3.4.2 Pengambilan Sampel	26
3.4.3 Isolasi dan Seleksi Bakteri Amilolitik Termofilik	26
3.4.4 Identifikasi Koloni	27
3.4.4.1 Pengamatan Makroskopis	27

3.4.5 Uji Bakteri Amilolitik Secara Kualitatif.....	28
3.4.6 Pengamatan Mikroskopik Dengan Pewarnaan Gram	28
3.4.7 Identifikasi Dengan Menggunakan Mikrobact	29
3.4.8 Pembuatan Inokulum.....	30
3.4.9 Ekstrak Enzim dari kultur Cair Bakteri	30
3.4.10 Pembuatan Kurva Standar Glukosa	30
3.4.11 Uji Aktivitas Enzim Amilase.....	31
3.5 Analisis Data.....	32
 BAB IV. PEMBAHASAN.....	33
4.1 Isolasi Bakteri Amilolitik Dari Air Panas Pacet Mojokerto	33
4.2 Karakter Morfologi Secara Makroskopis	34
4.3 Uji Kualitatif Bakteri Amilolitik.....	36
4.4 Hasil Pengamatan Mikroskopis Dengan Pewarnaan Gram	39
4.5 Identifikasi Isolat Bakteri Amilolitik dengan Mikrobact 12A.....	42
4.5.1 Identifikasi bakteri <i>Enterobacter agglomerans</i>	43
4.5.2 Identifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	45
4.6 Uji Aktivitas Enzim Amilase Dari Bakteri Amilolitik	47
4.7 Kajian Islam Terkait Bakteri Amilolitik Termofilik.....	50
 BAB V. PENUTUP	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
 DAFTAR PUSTAKA	55
 LAMPIRAN – LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Enzim Termostabil Yang Menghidrolisis Pati Dan Mikroorganisme Sebagai Sumbernya	18
Tabel 4.1 Karakter Morfologi Koloni Isolat Bakteri Amilolitik Pacet Mojokerto	35
Tabel 4.2 Diameter Zona Bening Pada Berbagai Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Setelah Diinkubasi 24 Jam	38
Tabel 4.3 Data Uji Gram Bakteri Amilolitik	40
Tabel 4.4 Hasil Analisis Spesies Dengan pada isolat A1 dan A5	45
Tabel 4.5 Hasil Analisis Spesies Pada Isolat A3	47
Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Amilase Dari Tiap Isolat	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur amilum dan amilopektin	12
Gambar 2.2 Reaksi hidrolisis yang dikatalis oleh enzim amilase	17
Gambar 4.1 Bentuk Koloni Bakteri Amilolitik Hasil Isolasi	35
Gambar 4.2 Zona Bening Pada Berbagai Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Setelah Diinkubasi 24 Jam	38
Gambar 4.3 Hasil uji pewarnaan gram isolat bakteri amilolitik	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Metode kerja

1. Cara Kerja	59
2. Pembuatan media	61
3. Identifikasi bakteri (mikroskopis dan makroskopis)	61
4. Pembuatan inokulum dan produksi enzim amilase	63
5. Uji aktifitas enzim amilase	63
6. Pembuatan kurva standar glukosa	64

Lampiran 2. Pembuatan reagen

1. Pembuatan larutan standar glukosa	64
2. Kurva standar glukosa	65
3. Nilai absorbansi ekstrak kasar amilase.....	66
4. Hasil perhitungan uji aktivitas enzim.....	67
5. Tabel hasil uji aktivitas enzim amilase.....	71
6. Tabel diameter zona bening	72

Lampiran 3. Dokumentasi

ABSTRAK

Puspita Sari, Mega. 2014. **Isolasi Bakteri Amilolitik Termofilik Dari Sumber Air Panas Pacet Mojokerto Dan Pengujian Aktivitas Enzim Amilase.** Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing 1: Anik Maunatin M.P. dan pembimbing 2: Mujahidin Ahmad M.Sc

Kata Kunci : bakteri termofilik, enzim amilase, zona bening, aktivitas enzim

Bakteri termofilik merupakan jenis bakteri yang mampu hidup pada suhu yang tinggi karena memiliki membran sel yang stabil, dan protein yang tahan terhadap denaturasi. Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim dengan sifat tahan terhadap suhu tinggi yang disebut enzim termostabil. Salah satu jenis enzim ini yaitu enzim amilase yang banyak dimanfaatkan oleh manusia dalam bidang industri. Enzim ini memiliki waktu simpan yang lebih lama dan aktivitas yang lebih tinggi pada suhu tinggi. Enzim amilase dapat diperoleh dari beberapa organisme, salah satunya dari bakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri amilolitik termofilik serta mengetahui aktivitas enzim amilasenya dari sumber air Panas Pacet Mojokerto.

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap, tahap pertama uji kualitatif dengan mengisolasi bakteri amilolitik dan menetesi dengan iodine pada isolat yang ditumbuhkan pada media yang mengandung pati, tahap kedua mengidentifikasi isolat terpilih dengan uji mikrobact 12 A/E, dan tahap terakhir uji kuantitatif dengan mengukur aktivitas enzim yang didapatkan dari analisa kadar glukosa menggunakan metode 3,5-dinitrosalisilat (DNS)

Kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis pati ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar koloni setelah ditetesi dengan iodin. Tiga isolat terpilih dengan hasil zona bening terbesar yaitu isolat A5 dengan diameter zona bening 15 mm, isolat A1 sebesar 13 mm dan isolat A3 sebesar 10 mm. Hasil identifikasi dengan mikrobact 12A/E menunjukkan bahwa isolat A1 dan A5 merupakan jenis spesies *Enterobacter agglomerans* dan isolat A3 merupakan jenis spesies *Escherichia coli*. Hasil uji aktivitas enzim amilase pada isolat yang memiliki nilai tertinggi aktivitasnya pada isolat A5 sebesar 1,664 U/mL, kemudian isolat A3 sebesar 0,855 U/mL dan paling kecil isolat A1 sebesar 0,419 U/mL.

ABSTRACT

Puspita Sari, Mega. 2014. Isolation of thermophilic amylolytic bacteria From Hot Pacet Mojokerto And Testing Amylase Enzyme Activity. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor 1: Anik Maunatin M.P. and Supervisor 2: Mujahideen Ahmad M.Sc

Keywords: thermophilic bacteria, the enzyme amylase, clear zone, the activity of the enzyme

Thermophilic bacterium is a type of bacteria that are able to live at high temperatures because it has a stable cell membranes, and proteins that are resistant to denaturation. Thermophilic bacteria can produce enzymes by nature resistant to high temperature called thermostable enzyme. One type of this enzyme, the enzyme amylase is widely used by humans in the industrial field. This enzyme has a longer shelf life and higher activity at high temperatures. Amylase enzyme can be obtained from several organisms, one of that is bacterium. The purpose of this study to isolate and identify thermophilic amylolytic bacteria and to know amylase enzyme activity of the water source heat Pacet Mojokerto.

This study consisted of three phases, the first phase is a qualitative test isolate amylolytic bacteria by dripping the isolates were grown in a medium containing starch with iodine, the second phase is selected isolates identified by test mikrobact 12 A / E, and the last stage is a quantitative test by measuring the activity enzyme obtained from the analysis of glucose using the 3,5-dinitrosalisolat (DNS)

The ability of bacterial isolates in hydrolyze starch, it is shown by the presence of a clear zone around the colony after drip with iodine. Three isolates were selected by the results of the largest clear zone that is isolates A5 clear zone diameter 15 mm, isolates A1 by 13 mm and isolates A3 by 10 mm. Results of identification with mikrobact 12A / E indicates that isolates A1 and A5 is the type species of Enterobacter agglomerans and isolates A3 is a species of Escherichia coli. Test results amylase enzyme activity in isolates that have the highest value activities on isolates A5 by 1,664 U / mL, then isolates A3 by 0.855 U / mL and the smallest A1 isolates by 0.419 U / mL.

ساري بوسبيتا، . . عزل البكتيريا اميلوليتيك الحرارة "من الساخن باسط موجوكيرتو و اختبار الاميليز نشاط إنزيم". اطروحة. قسم البيولوجيا، كلية العلوم والتكنولوجيا في مانغ إبراهيم مالك جامعة الدولة الإسلامية من مشرف 1: انيك مونتين، عضو البرلمان والمشرف 2: ماجستير مجاهدين احمد.

الكلمات الرئيسية: لاسخدام البكتيريا، إنزيم الاميليز، مسح المنطقة، نشاط الإنزيم

بكتيريا لاسخدام هو نوع من البكتيريا التي قادرة على العيش في درجات حرارة عالية لأنها تحتوي أغشية الخلية مستقرة، والبروتينات التي تقاوم تمسخ. يمكن أن تنتج البكتيريا لاسخدام الإنزيمات مقاومة الطبيعة لارتفاع درجة الحرارة يسمى إنزيم الحرارة. نوع واحد من هذا الإنزيم إنزيم الاميليز يستخدم على نطاق واسع من البشر في الميدان الصناعي. هذا الإنزيم لديه صلاحية اطول وارتفاع النشاط في درجات حرارة عالية. يمكن الحصول على إنزيم الاميليز من الكائنات الحية عادة، واحدة من التي بكتيريا. والغرض من هذه الدراسة عزل وتحديد البكتيريا اميلوليتيك لاسخدام ومعرفة نشاط إنزيم الاميليز من مصدر المياه الحرارة موجوكيرتو باسط.

تتألف هذه الدراسة من ثلاث مراحل، المرحلة الأولى من اختبار نوعي عزل بكتيريا اميروليتيك نازف يعزل كانت تزرع في متوسط تحتوي على النشا مع اليود، المرحلة الثانية الحدد يعزل حددها اختبار ميكروباك الف/، وفي المرحلة الأخيرة يتم اختبار كمي بقياس نشاط الإنزيم التي تم الحصول عليها من تخليل الجلوكوز باستخدام 3.5 دينيتروساليسيلات (DNS)

قدرة العزلات البكتيرية في يتحلل النشا، فإنه يظهر بوجود منطقة واضحة حول المستمرة بعد التنقيط مع اليود. واحتبرت ثلاثة يعزل بنتائج اكبر منطقة واضحة ان يعزل A5 واضحة في منطقة قطرها 15 مم، يعزل A1 ب 13 مم و يعزل A3 ب 10 - نتائج تحديد الهوية مع ميكروباك A12/ه يشير إلى ان يعزل A1 و A5 هو نوع Enterobacter agglomerans و A3 يعزل نوع من *Escherichia coli*. اختبار نتائج نشاط إنزيم الاميليز في العزلات التي لديها انشطة ذات قيمة اعلى في يعزل A5 1,664 U/mL، ثم يعزل A3 0.855 U/mL و اصغر يعزل ب 0.419 U/mL.