

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Isolasi Bakteri Amilolitik Dari Air Panas Pacet Mojokerto

Isolasi bakteri yang bersumber dari air panas Pacet Mojokerto yang memiliki suhu air 40°C – 45°C dilakukan dengan media selektif amilolitik yang berfungsi untuk menyeleksi bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase. Isolasi bakteri amilolitik pada sumber air panas dilakukan dengan cara sebanyak 10 ml sampel air panas dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 90 ml media selektif amilolitik cair (pengenceran 10⁻¹) kemudian di inkubasi dalam inkubator pada suhu 50°C selama 24 jam, selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10⁻¹⁰ dengan mengambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya lalu diencerkan dengan 9 ml aquades steril. Pengenceran 10⁻¹ sampai 10⁻¹⁰ diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri untuk ditanam secara *pour plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 24 jam. Bakteri yang tumbuh selanjutnya dimurnikan dengan metode *streak kuadran* pada media agar dan di inkubasi pada suhu 50°C selama 24 jam. Koloni murni yang diperoleh digunakan sebagai stok isolat untuk uji selanjutnya.

Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan pada sumber air panas Pacet Mojokerto didapatkan 6 isolat bakteri yang mampu hidup pada media selektif amilolitik agar. Cristina (2008), berhasil mengisolasi bakteri amilolitik sebanyak 5 isolat pada sumber air panas panen sibiribiru Sumata Utara dengan suhu 48°C. Sedangkan Buditianingsih (2010), berhasil mengisolasi 4 bakteri termofilik yang bersumber dari air panas Songgoriti dengan suhu 45°C.

Setiap isolat yang dihasilkan dari tahap pemurnian dianggap dapat menggunakan media pati tetapi untuk memastikan dilakukan uji lanjut dengan uji iodine. Isolat yang mampu menghidrolisis pati menghasilkan zona bening disekeliling isolat setelah ditetesi iodin (Cappuccino, 1983). Inchem (2008) menyatakan bahwa degradasi yang terjadi pada media pati dapat diketahui dengan hilangnya material yang terwarnai oleh iodin. Sebelum penetesan iodine dilakukan terlebih dahulu karakterisasi morfologi dari koloni, juga dibuat stok kultur untuk masing-masing isolat yang tumbuh tersebut. Karakterisasi isolat yang tumbuh meliputi bentuk koloni, permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni. Menurut Dwijoseputro (2005), pengamatan makroskopis morfologi koloni meliputi karakteristik bentuk koloni (dilihat dari atas), permukaan (dilihat dari samping), tepi koloni (dilihat dari atas) dan warna koloni bakteri.

4.2 Karakter Morfologi Secara Makroskopis

Karakter morfologi koloni secara makroskopis di amati pada semua hasil isolasi bakteri amilolitik dengan media selektif amilolitik. Hasil isolasi didapatkan enam isolat yang teridentifikasi dapat menghidrolisis pati. Enam isolat tersebut memiliki karakter yang berbeda-beda sehingga perlu dilakukan pengamatan secara morfologi pada masing-masing isolat. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1. Karakter Morfologi Koloni Isolat Bakteri Amilolitik Pacet Mojokerto

No	Kode isolat	Morfologi koloni			
		Bentuk	Permukaan	Tepi	Warna
1	A1	Bulat	Rata	Utuh	Putih
2	A2	Tidak teratur	Rata	Bergerigi	Putih
3	A3	Tidak teratur	Rata	Berombak	Putih
4	A4	Bulat	Rata	Utuh	Putih
5	A5	Tidak teratur, tebal	Rata	Berombak	Krem
6	A6	Tidak teratur, melebar	Rata	Berombak	Putih

**Gambar 4.1** Bentuk Koloni Bakteri Amilolitik Hasil Isolasi

Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis isolat bakteri amilolitik pada media selektif amilolitik agar memiliki bentuk yang bervariasi, pada isolat A1 koloni memiliki bentuk bulat sedangkan isolat A2, A3, A5 dan A6 memiliki bentuk yang tidak teratur namun isolat A5 memiliki bentuk yang lebih tebal dibandingkan isolat yang lain dan isolat A6 bentuknya melebar. Permukaan koloni semua memiliki bentuk rata, tepi koloni pada isolat A1 dan A4 memiliki tepi yang utuh, A2 memiliki tepi bergerigi sedangkan pada isolat A3, A5 dan A6 koloni memiliki tepi berombak, warna koloni pada semua isolat berwarna putih kecuali isolat A5 yang memiliki warna koloni krem. Menurut Dwidjoseputro (2005), menjelaskan bahwa karakteristik morfologi koloni bakteri pada suatu

media yaitu bentuk koloni berupa bulat (circular), berbenang (filamentous), tak teratur (irreguler), serupa akar (rhizoid), dan serupa kumparan (spindle). Permukaan koloni berupa rata (flat), timbul datar (raised), melengkung (convex), dan membukit. Tepi koloni dapat berupa utuh (entire), berombak (undulate), berbelah (lobate), bergerigi (serrate), berbenang (filamentous), keriting (curled) dan warna koloni bakteri berupa keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening.

4.3 Uji Kualitatif Bakteri Amilolitik

Isolat bakteri termofilik yang berhasil diisolasi dengan menanam bakteri dalam media selektif amilolitik yang mengindikasikan dapat menghasilkan enzim amilase di uji aktifitasnya dengan melihat diameter zona bening di sekitar koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 50°C dan kemudian di tetesi dengan iodine. Pati yang bereaksi dengan iodine akan menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna biru/ungu. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri termofilik menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut mampu menghidrolisis pati (Dirnawan,dkk 2000). Sedangkan media yang berwarna biru kehitaman menandakan pati ditempat itu belum terhidrolisis (Cappucino,1983). Menurut Meliawati dalam Sutiamihardja 2008, menjelaskan bahwa kemampuan atau daya amilolitik suatu mikroba ditandai dengan terbentuknya zona bening dalam medium yang mengandung pati. Zona bening yang terbentuk menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa.

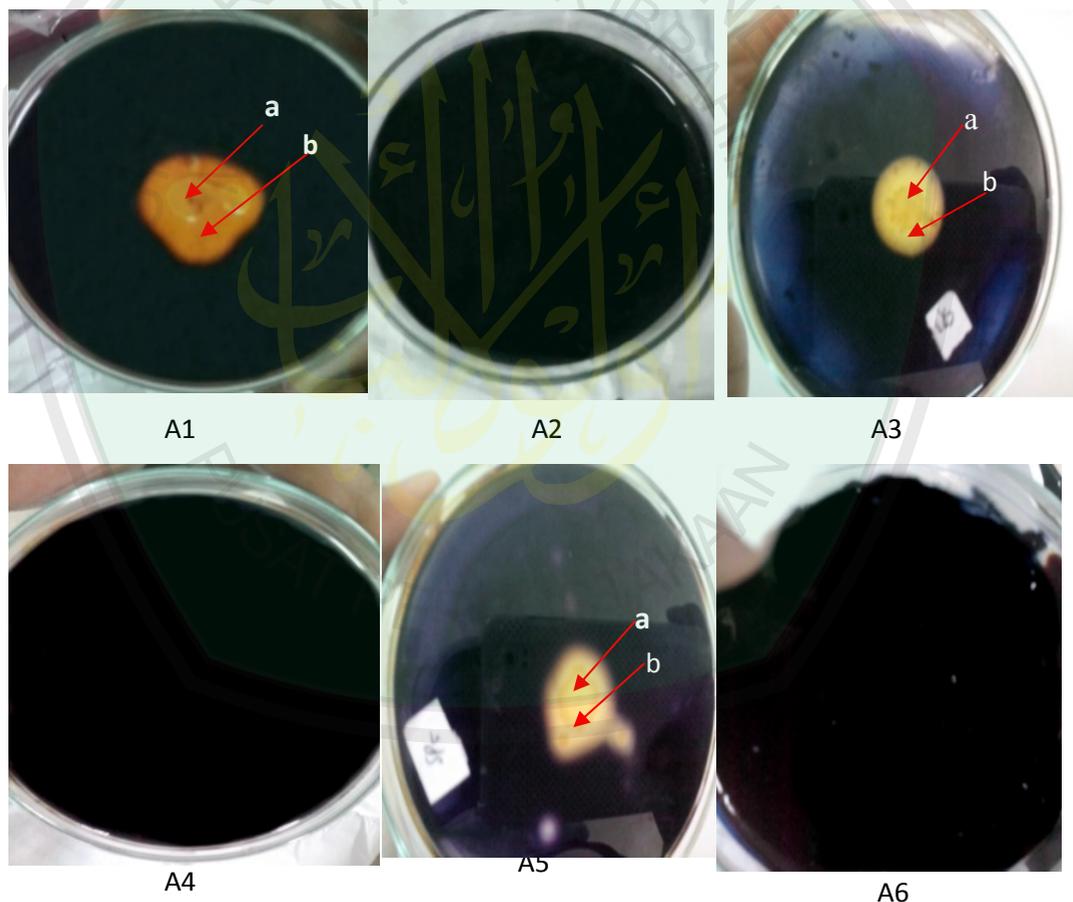
Isolasi bakteri termofilik pada media selektif amilolitik menunjukkan terdapatnya enam isolat yang mampu tumbuh dalam media selektif, namun hanya

tiga isolat yang dapat memperlihatkan zona bening ketika diuji kualitatif dengan ditetesi larutan iodine, isolat yang memiliki aktifitas amilolitik tersebut yaitu isolat A1, A3 dan A5. Sedangkan isolat A2, A4 dan A6 menunjukkan bahwa tidak ada reaksi hidrolisis pati oleh enzim amilase yang dapat dihasilkan dari bakteri tersebut. Menurut Amelia (2005), isolat yang tidak menunjukkan adanya zona bening namun tetap dapat hidup pada media selektif amilolitik, kemungkinan hal ini terjadi karena mikroba tersebut menggunakan gula sederhana yang merupakan hasil pemecahan pati karena pemanasan selama pembuatan media selektif agar. Agustin (2000), berhasil mengisolasi bakteri termofilik dari sumber air panas Rimbo Panti sebanyak 32 koloni, namun setelah dilakukan seleksi diperoleh 12 koloni bakteri yang bersifat amilolitik. Hal ini membuktikan bahwa bakteri tersebut dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang bersifat termostabil. Menurut Asadullah (2014), zona bening yang terbentuk disekitar isolat menunjukkan adanya aktivitas isolat amilolitik, yaitu kemampuan isolat dalam menghidrolisis media selektif yang terdapat pada medium pertumbuhan dengan menghasilkan enzim amilase.

Zona bening yang terbentuk dari masing-masing isolat berbeda-beda. Hal ini karena kemampuan masing-masing isolat untuk menghidrolisis pati juga berbeda-beda. Diameter zona bening bakteri termofilik penghasil enzim amilase dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan pembentukan zona bening oleh isolat termofilik penghasil enzim amilase dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Tabel 4.2. Diameter Zona Bening Pada Berbagai Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Setelah Diinkubasi 24 Jam.

Kode isolat	Diameter zona bening (mm)
A1	13
A2	-
A3	10
A4	-
A5	15
A6	-



Gambar 4.2 Zona Bening Pada Berbagai Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Setelah Diinkubasi 24 Jam.

Keterangan : a. Koloni b. Zona bening

Berdasarkan Tabel 4.2 diameter zona bening pada tiap isolat memiliki diameter yang berbeda-beda dan ada juga isolat yang tidak membentuk zona

bening. Isolat yang memiliki diameter zona bening yang terbesar menunjukkan hasil paling besar dari uji kualitatifnya yaitu isolat A5 dengan diameter zona bening sebesar 15 mm, isolat A1 memiliki diameter zona bening sebesar 13 mm, sedangkan isolat A3 memiliki diameter zona bening paling kecil daripada kedua isolat yang mampu menghidrolisis pati tersebut yaitu sebesar 10 mm. Agustin (2000), berhasil mengisolasi bakteri yang bersifat amilolitik dengan terbentuknya zona bening antara 1,0 sampai 3,6 cm disekitar koloni bakteri. Resmi (2011), telah mengisolasi bakteri termofilik amilolitik dengan suhu inkubasi 55°C dari sumber air panas Cangar-Batu, isolat memiliki zona bening 20 mm. Syafriani (2013) berhasil mengisolasi bakteri yang bersifat amilolitik dari sumber air panas Medang Jambi dengan terbentuknya zona bening antara 2,7mm sampai 18 mm disekitar koloni bakteri. Salah satu penyebab perbedaan lebarnya zona bening pada bakteri amilolitik yaitu gen amilolitik yang dimiliki oleh setiap bakteri termofilik. Perbedaan urutan asam amino yang dimiliki oleh setiap isolat bakteri termofilik akan menghasilkan enzim amilase yang berbeda-beda aktivitasnya (Ruth,dkk, 2009).

4.4 Hasil Pengamatan Mikroskopis Dengan Pewarnaan Gram

Isolat bakteri hasil uji kualitatif yang menunjukkan positif dapat menghidrolisis pati yaitu isolat A1, A3 dan A5 dan kemudian dari ketiga isolat tersebut dilakukan pengamatan mikroskopis dengan uji pewarnaan gram pada semua isolat dari stok isolat pada media miring selektif amilolitik.

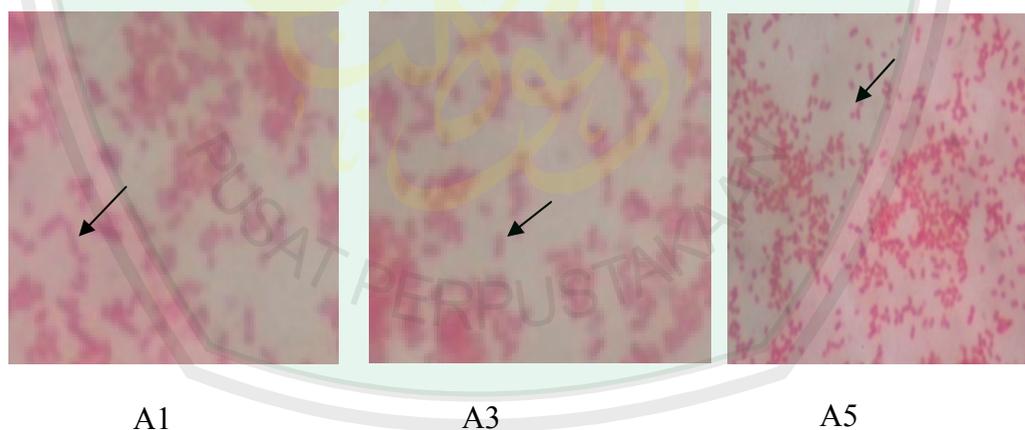
Menurut Holt (1994), pengamatan secara mikroskopik dilakukan untuk melihat bentuk sel bakteri dan untuk melihat kemurnian dari isolat. Pengamatan

mikroskopis ini dilakukan dengan pewarnaan gram. Untuk penentuan jenis bakteri dilanjutkan dengan serangkaian uji biokimia terhadap isolat yang diperoleh dengan berpedoman pada buku *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*.

Pengujian pewarnaan gram ini dilakukan untuk mengetahui karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil uji gram pada semua isolat menunjukkan hasil uji gram negatif dan dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan pada Gambar 4.3.

Tabel 4.3 Data Uji Gram Bakteri Amilolitik

No	Kode isolat	Jenis gram	Bentuk sel
1	A1	Negatif	Batang
2	A3	Negatif	Batang
3	A5	Negatif	Batang



Gambar 4.3. Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Amilolitik

Berdasarkan hasil pewarnaan gram terlihat semua isolat (A1, A3 dan A5) bersifat gram negatif dengan di tandai terbentuknya warna merah. Bentuk isolat A1, A3 dan A5 berbentuk batang. Sel bakteri berbentuk silindris atau seperti

batang dinamakan *basilus*. Ada banyak perbedaan dalam ukuran panjang dan lebar di antara berbagai spesies basilus (Pelczar, 2010).

Mekanisme pewarnaan gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif mengandung lipid atau substansi seperti lemak dalam prosentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif juga lebih tipis daripada dinding sel bakteri gram positif. Selama prosedur pewarnaan, perlakuan dengan etanol (alkohol) terhadap bakteri gram negatif menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding sel negatif. Jadi kompleks ungu kristal-yodium yang telah memasuki dinding sel selama langkah awal dalam proses pewarnaan dapat diekstraksi. Karena itu bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut (Pelczar, 2010).

Bakteri gram positif maupun gram negatif akan dihasilkan warna yang sama (ungu), akan tetapi jumlah kristal violet yang diserap oleh bakteri gram negatif lebih sedikit, karena tebal dinding sel bakteri gram negatif sebesar 2-7 nm tersusun dari peptidoglikan dan memiliki membran luar dengan tebal 7-8 nm sehingga jika dibandingkan dengan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel sebesar 20-80 nm, gram negatif jauh lebih kecil (Prescott dkk, 1999). Bakteri gram negatif dengan lapisan peptidoglikan yang tipis menyebabkan permeabilitas membran sel lebih besar sehingga kristal yodium yang berfungsi sebagai penguat warna menjadi mudah terlepas, adapun kadar lipid yang tinggi akan mudah larut selama pencucian dengan alkohol dan menyebabkan pori-pori membran sel membesar (Strohl dkk, 2001).

Bakteri gram negatif menghasilkan warna merah, dengan tebal peptidoglikan bakteri gram negatif hanya sebesar 2-7nm dan memiliki membran luar dengan tebal 7-8nm yang terdiri dari lipid, protein, dan lipopolisakarida yang berakibat pada banyaknya kristal violet yang di serap oleh bakteri gram negatif lebih kecil. Kristal iodine yang terjebak pada polisakarida peptidoglikan (dinding sel bakteri) yang semakin menambah pekat warna ungu. Ketika ditambah alkohol, maka banyak kristal violet dan iodine yang lepas, itu disebabkan karena tebal peptidoglikan bakteri gram negatif hanya sebesar 2-7nm. Sehingga ketika ditambahkan safranin, dengan mudah membentuk ikatan ion dengan dinding sel bakteri membentuk warna safranin (merah) (Prescott, 1999).

4.5 Identifikasi Isolat Bakteri Amilolitik dengan Mikrobact 12A/E

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi ketiga isolat memiliki ciri dan lebar zona bening yang berbeda-beda, sehingga perlu dilakukan identifikasi sampai tingkat spesies untuk mengetahui keragaman bakteri amilolitik yang berasal dari sumber air panas Pacet Mojokerto. Identifikasi bakteri gram negatif dilakukan dengan menggunakan *Mikrobact 12 A/E*. Evaluasi hasil identifikasi dilihat melalui sumur-sumur *Mikrobact*, positif atau negatifnya dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *patient record*. Angka-angka *oktal* didapat dari penjumlahan reaksi positif saja, dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka *oktal*). Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka *oktal* yang didapat (Oxoid, 2004).

Berdasarkan hasil uji pada *Mikrobact 12 A/E* maka dapat diketahui bahwa isolat A1 dan A5 ternyata isolat tersebut teridentifikasi sebagai bakteri jenis

Enterobacter agglomerans dan isolat A3 teridentifikasi sebagai bakteri jenis *Escherichia coli*.

4.5.1 Identifikasi bakteri *Enterobacter agglomerans*

Hasil identifikasi isolat bakteri amilolitik dari isolat A1 dan A5 ternyata keduanya merupakan satu spesies yaitu *E. agglomerans*. Dua isolat ini dapat dikatakan sebagai satu spesies dengan strain yang berbeda karena ada perbedaan dari tiap isolat.

Menurut Holt (1994) dibawah ini merupakan klasifikasi bakteri *E. agglomerans* yang ditemukan pada sumber air panas pacet Mojokerto.

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobactericea

Genus : *Enterobacter*

Spesies : *Enterobacter agglomerans*

E. agglomerans merupakan golongan bakteri gram negatif berbentuk batang yang memiliki panjang 1,2- 3 μm dan lebar 0,6-1,0 μm , bakteri ini bersifat anaerob fakultatif (Holt, 1994).

Berdasarkan hasil uji biokimia bakteri *E. agglomerans* positif pada uji katalase, tidak memiliki spora dan negatif pada uji oksidase, sehingga mengindikasikan sel tidak dapat menghasilkan enzim oksidase. Pada uji fermentasi karbohidrat menunjukkan hasil positif untuk xylose dan VP, sedangkan untuk fermentasi karbohidrat yang lain hasilnya negatif. Kemudian pada uji indol hasilnya negatif menunjukkan bakteri ini tidak dapat menghasilkan indol yang

tampak sebagai cincin merah pada reaksi deaminasi serta asam piruvat yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi (Tabel 4.4). Menurut Norman (2005) hasil positif pada uji *Voges Proskauer* (VP) menunjukkan bahwa bakteri mampu mengkonversi glukosa menjadi asetonin dan juga mampu menghidrolisis triptofan dengan memanfaatkan enzim triptophanase.

Menurut Holt (1994), bakteri jenis ini merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang. Bersifat anaerob fakultatif dan kemoorganotropik karena dapat melakukan respirasi dan fermentasi dari metabolisemenya. Pada fermentasi D-glukosa dan karbohidrat yang lain mampu menghasilkan asam dan gas, namun pada hasil uji mikrobact glukosa negatif. Golongan bakteri ini memiliki uji indol negatif, uji *Voges Proskauer* (VP) positif, lysine negatif, dan ornithine positif, pada uji mikrobact ornithine negatif. Bakteri ini tidak memproduksi lipase dan H_2S_2 deoksiribonuklease. Bakteri jenis *E. agglomerans* dapat ditemukan pada tanaman serta tanah, air, limbah, saluran usus manusia dan hewan. Natsir (2014) berhasil mengidentifikasi bakteri *E. agglomerans* penghasil enzim amilase yang berasal dari sumber air panas Panggo Sulawesi Selatan.

Tabel 4.4 Hasil Analisis Spesies Pada Isolat A1 Dan A5

JENIS TES	HASIL	Hasil identifikasi
Bakteri Gram Negatif	Positif	<i>Enterobacter agglomerans</i>
Spora	Negatif	
Oksidase	Negatif	
Ferment Gula-Gula		
Lysin	Negatif	
Ornithine	Negatif	
H ₂ S	Negatif	
Glukosa	Negatif	
Mannitol	Negatif	
Xylose	Positif	
ONPG	Positif	
Indol	Negatif	
Urease	Negatif	
Voges Proskauer	Positif	
Citrat	Negatif	
TDA	Negatif	

4.5.2 Identifikasi bakteri *Escherichia coli*

Hasil identifikasi isolat bakteri amilolitik A3 telah teridentifikasi sebagai spesies *Escherichia coli*. Hasil pengamatan morfologi koloni isolat *Escherichia coli* mempunyai bentuk koloni tidak teratur, permukaan koloni rata, tepi koloni berombak dan warna koloni putih. Klasifikasi bakteri *E.coli* yang teridentifikasi dari sumber air panas sebagai berikut :

Kingdom : Monera

Phylum : Proterobacteria

Class : Gamma proterobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung dan halus dengan tepi yang nyata (Smith, 1988).

Berdasarkan hasil uji biokimia bakteri *E. coli* ini positif pada uji katalase dan negative pada uji oksidase, sehingga mengindikasikan sel tidak dapat menghasilkan enzim oksidase (Tabel 4.5). Menurut Norman (2005), pengujian oksidase didalam identifikasi bakteri mempunyai tujuan untuk mengetahui kemampuan dari sel bakteri yang di uji dalam menghasilkan enzim oksidase dan mendeteksi sitokrom c.

Hasil uji fermentasi karbohidrat, bakteri *E. coli* terbukti mampu memfermentasikan xylose. Kemudian pada uji indol hasilnya positif menunjukkan bakteri ini dapat menghasilkan indol yang tampak sebagai cincin merah pada reaksi deaminasi serta asam piruvat yang dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi (Tabel 4.5). Menurut Holt (1994) pada fermentasi D-Glukosa dan karbohidrat bakteri ini mampu menghasilkan asam dan gas, namun pada hasil uji mikrobact glukosa negatif. Golongan bakteri ini mempunyai oksidase negatif, katalase positif, Voges-Proskauer negatif, dan biasanya hasil uji sitrat negatif. Pengujian negatif pada H_2S , urea hidrolisis dan lipase. Shyam (2013) berhasil mengisolasi bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase yang teridentifikasi sebagai *E.coli* dari sampel tanah.

Tabel 4.5 Hasil Analisis Spesies Pada Isolat A3

JENIS TES	HASIL	Hasil identifikasi
Bakteri GramNegatif	Positif	<i>Esherichia coli</i>
Spora	Negatif	
Oksidase	Negatif	
Ferment Gula-Gula		
Lysin	Negatif	
Ornithine	Negatif	
H ₂ S	Negatif	
Glukosa	Negatif	
Mannitol	Negatif	
Xylose	Positif	
ONPG	Positif	
Indol	Positif	
Urease	Negatif	
VP	Negatif	
Citrat	Negatif	
TDA	Negatif	

4.6 Uji Aktivitas Enzim Amilase Dari Bakteri Amilolitik

Produksi enzim amilase yang diuji aktivitasnya proses yang dilakukan pertama kali yaitu merangsang pembentukan amilase oleh isolat dengan menginokulasi isolat amilolitik kedalam 50mL media selektif cair dan diinkubasi pada kecepatan 150rpm suhu 50°C selama 24 jam pada *shakerinkubator*. Inokulum diambil 5mL dan diinkubasi pada shaker inkubator pada suhu 50°C selama 72 jam. Ekstrak kasar enzim diperoleh dengan mensentrifugasi kultur pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk mencegah terjadinya denaturasi protein enzim. Menurut Bintang (2010) suhu 4°C merupakan suhu penyimpanan yang baik untuk enzim dimana aktivitas mikroorganisme tidak terjadi, selain itu pada suhu ini tidak terjadi denaturasi protein enzim. Menurut Endrini (1995) untuk memisahkan sel bakteri dari media produksinya dapat

dilakukan dengan menggunakan sentrifugasi dingin sehingga didapatkan ekstrak kasar enzim. Sel akan terendapkan karena adanya gaya sentrifugasi sedangkan enzim tetap berada dalam supernatan yang selanjutnya akan di gunakan untuk uji aktivitas enzim.

Aktifitas enzim didefinisikan sebagai kecepatan pengukuran substrat atau kecepatan pembentukan produk pada kondisi optimum. Satu unit aktifitas enzim amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dihasilkan dari satu mikromol pati menghasilkan satu mikromol gula reduksi (glukosa) setiap menit (Lehninger, 1993). Aktifitas amilase dapat diukur dengan menggunakan metode asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS). Prinsip dari metode ini yaitu didasarkan pada peristiwa DNS menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat oleh senyawa gula pereduksi (glukosa) yang akan memberikan warna merah kecoklatan (Asadullah, 2014).

Pengujian aktivitas amilase pada penelitian ini dilakukan dengan mereaksikan enzim kasar dengan larutan soluble starch 1% dalam buffer fosfat (penggunaan buffer pH 7 merupakan penyesuaian terhadap lingkungan tempat bakteri diisolasi) kemudian diinkubasi pada suhu 50° C selama 30 menit. Selama proses inkubasi, terjadilah reaksi antara enzim dengan substrat yang kemudian menghasilkan gula reduksi berupa glukosa. Reaksi ini merupakan reaksi hidrolisis amilosa menjadi glukosa dengan menggunakan enzim amilase. Glukosa yang dihasilkan dengan pereaksi DNS dan dipanaskan dalam air mendidih untuk menyempurnakan reaksi yang terjadi, untuk menstabilkan warna yang terbentuk, garam rochelle atau KNa-Tartrat 40 % ditambahkan kedalam campuran enzim dan DNS. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm untuk menentukan

kadar glukosa yang terbentuk. Kadar glukosa yang diperoleh inilah yang menunjukkan aktivitas ekstrak kasar amilase dalam menghasilkan glukosa.

Tabel 4.6. Hasil Uji Aktifitas Ekstrak Kasar Amilase Dari Tiap Isolat

Isolat	Aktifitas enzim (Unit/mL)
<i>E. agglomerans</i> (A1)	0,419
<i>E. Coli</i> (A3)	0,855
<i>E. agglomerans</i> (A5)	1,664

Berdasarkan data pada tabel 4.6, isolat yang memiliki aktifitas enzim tertinggi adalah isolat A5 dengan aktifitas enzim sebesar 1,664 Unit/ml, sedangkan aktifitas enzim terendah pada isolat A1 yaitu sebesar 0,419 Unit/mL. Resmi (2011), berhasil mengukur aktifitas enzim amilase pada bakteri termofilik pada sumber air panas Cangar sebesar 2,175 Unit/mL. Sedangkan Cristina (2008) berhasil mengukur aktifitas enzim amilase pada sumber air panas dengan suhu 50°C, aktifitas enzimnya sebesar 0,105 Unit/mL. Margaretta (2003), berhasil mengukur aktifitas enzim amilase dari bakteri termofilik dengan aktifitas enzim sebesar 0,479 Unit/mL. Sutiamihardja (2008), berhasil mengukur aktivitas enzim amilase pada suhu 50°C sebesar 0,157 Unit/mL. Syafriani (2013), berhasil mengukur aktivitas amilase tertinggi yaitu 5,63 U/mL.

Hasil uji kualitatif bakteri amilolitik dengan hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa isolat A5 memiliki aktivitas enzim amilase yang tertinggi yaitu 1,664 Unit/ml serta memiliki zona bening paling besar yaitu 0,15 mm. namun pada isolat A1 dan A3 memiliki hasil yang tidak sesuai antara hasil uji kualitatif dengan uji kuantitatifnya. Uji kualitatif pada isolat A1 lebar zona bening lebih lebar dibandingkan dengan lebar zona bening isolat A3, namun pada uji

kuantitatif nilai aktifitas enzim isolat A3 lebih tinggi dibandingkan nilai aktifitas enzim pada isolat A1. Perbedaan zona bening dan nilai aktivitas enzim pada isolat A1 dan A5 yang teridentifikasi sebagai spesies yang sama yaitu *E. agglomerans* kemungkinan disebabkan karena perbedaan strain dari kedua isolat tersebut. Ward dalam Pakpahan (2009), mengindikasikan bahwa tidak selalu terdapat korelasi yang baik antara zona jernih di sekitar koloni pada media padat dengan aktivitas enzim organisme tersebut. Hastuti (2012), dalam penelitiannya juga tidak ada korelasi antara hasil uji kualitatif dengan hasil uji kuantitatif.

Hasil yang tidak korelasi tersebut kemungkinan karena faktor ketelitian dari penelitian dalam pengukuran zona bening yang bentuk koloni bakterinya tidak teratur atau tidak bulat. Dan selisih perbedaan pengukuran uji kualitatifnya juga sangat kecil sekali.

4.7 Kajian Islam Terkait Bakteri Amilolitik Termofilik

Bakteri merupakan mikroorganisme bersel satu yang hidup bebas dan dapat bereproduksi sendiri. Bakteri dapat dibedakan berdasarkan suhu lingkungan tempatnya hidup yaitu bakteri psikrofilik, bakteri mesofilik dan bakteri termofilik (Hidayat, 2006). Bakteri termofilik memiliki beberapa keunggulan diantaranya bakteri ini memiliki membran sel yang stabil, protein yang tahan terhadap denaturasi (Cristina, 2008) dan memiliki enzim termostabil (Hidayat, 2006).

Allah memberikan keperluan yang dibutuhkan untuk hidup pada setiap makhluk-Nya termasuk bakteri termofilik, sebagaimana yang telah difirmankan Allah dalam al-Qur'an surat Al-Hijr ayat 20, yaitu :

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشًا وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya : “dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya”.

Menurut tafsir Al-Maraghi (Maraghi, 1987), Allah memberikan rezki pada mereka bukan mereka yang memberikan rezki itu. Disini benar-benar terdapat pemberian dan karunia yang besar serta rahmat yang luas bagi para hamba-Nya. Rezki itu semua adalah ditangan pencipta, bukan ditangan kalian. Kalian hanya mengambil manfaat daripadanya, sedangkan rezkinya ada di tangan Allah.

Bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim termostabil yang berguna bagi bakteri tersebut dan dapat dimanfaatkan oleh manusia. Salah satu enzim yang dapat dimanfaatkan adalah enzim amilase yang digunakan pada bidang-bidang industri, antara lain industri tekstil, industri makanan dan industri kertas (Palmer, 1985). Untuk memaksimalkan manfaat tersebut perlu dilakukan penelitian-penelitian khususnya eksplorasi spesies-spesies baru bakteri amilolitik termofilik. Penelitian adalah salah satu bentuk tafakkur yang sejalan dengan ciri-ciri manusia yang ulul albab. Sebagaimana disebutkan oleh Allah dalam firman-Nya pada surat Ali Imran ayat 190-191 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya : *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.*

Menurut tafsir Al-Maraghi (Maraghi, 1986), orang-orang yang tidak melalaikan Allah Subhanahu Wata'ala dalam sebagian besar waktunya. Mereka merasa tenang dengan mengingat Allah dan hanya dengan melakukan dzikir kepadaNya, hal itu masih belum cukup untuk menjamin hadirnya hidayah. Tetapi, harus pula dibarengi dengan memikirkan keindahan ciptaan dan rahasia-rahasia ciptaanNya yang menunjukkan adanya Yang Maha Mengetahui lagi Maha Kuasa. Seorang mukmin yang menggunakan akal pikirannya selalu berdzikir setelah ia melihat bukti-bukti yang menunjukkan kepada keindahan hikmah.

Allah tidak menciptakan segala sesuatu dengan sia-sia, bagi manusia yang mau berfikir. Diantara faidah yang dapat diambil dari ayat diatas yaitu penciptaan langit dan bumi beserta isinya akan dapat diambil hikmahnya oleh manusia yang senantiasa berfikir. Hasil proses berfikir menjadikan manusia semakin memahami bahwa tiada ciptaan Allah yang sia-sia, orang beriman tidak pernah lalai dari mengingat Allah. Mereka selalu berdzikir dalam segala aktifitasnya ketika berdiri, duduk dan dalam keadaan berbaring dan orang mukmin senantiasa takut akan siksa neraka sehingga memohon ampun dijauhkan dari siksa neraka. Karena neraka disediakan Allah bagi orang yang kufur terhadap nikmat-Nya dan merasa sombong dengan kemampuan akalnya.

Allah berfirman dalam al-qur'an surat Al-Mu'min ayat 60, yang berbunyi :

وَقَالَ رَبُّكُمْ ادْعُونِي أَسْتَجِبْ لَكُمْ إِنَّ الَّذِينَ يَسْتَكْبِرُونَ عَنْ عِبَادَتِي سَيَدْخُلُونَ جَهَنَّمَ

دَاخِرِينَ ﴿٦٠﴾

Artinya : dan Tuhanmu berfirman: "Berdoalah kepada-Ku, niscaya akan Kuperkenankan bagimu. Sesungguhnya orang-orang yang menyombongkan diri dari menyembah-Ku akan masuk neraka Jahannam dalam Keadaan hina dina".

Dengan adanya penelitian ini diharapkan kita semakin memahami keagungan Allah yang KemahakuasaanNya dalam menciptakan dan mengatur tak tertandingi oleh siapapun. Sehingga tidak ada hasil penelitian yang terbaik melainkan menjadikan pelakunya untuk semakin dekat kepada Allah dan semakin banyak manfaat untuk manusia. Sebagaimana sabda Rasulullah Shallallahu Alaihi Wasallam

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

Artinya : “Sebaik-baik manusia adalah orang yang paling bermanfaat bagi orang lain.” (HR. Ahmad, Thabrani, Daruqutni. Dishahihkan Al Albani dalam *As-Silsilah As-Shahihah*).