

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Bakteri Proteolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Pacet Mojokerto

Isolasi bakteri merupakan teknis pemisahan jenis bakteri satu dengan jenis bakteri lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba. Isolasi bakteri dari sumber air panas Pacet dilakukan untuk mendapatkan bakteri yang memiliki potensi untuk mendegradasi protein. Bakteri yang memiliki potensi tersebut disebut bakteri proteolitik termofilik. Jenis bakteri ini mampu menghasilkan enzim protease yang tahan panas. Protease bakteri termostabil menjadi pusat perhatian karena stabilitasnya pada suhu yang lebih tinggi. Enzim termofilik secara optimal aktif jauh di bawah kondisi terdenaturasi (Gupta dkk., 2002).

Pengambilan sampel air panas dilakukan pada bagian sumber air panas yang disalurkan disebuah saluran pipa dengan suhu 47°C dan pH 7. Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 90 ml media skim milk cair (pengenceran 10^{-1}), kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 50°C. Selanjutnya dibuat seri pengenceran 10^{-2} - 10^{-10} dengan mengambil 1 ml dari pengenceran sebelumnya lalu diencerkan dengan 9 ml aquadest steril. Sebanyak 1 ml dari tiap pengenceran dicawakan pada media *Skim Milk Agar* (SMA) menggunakan metode *pour plate*. Media yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu 50°C selama 48 jam dan diamati setiap 24 jam. Hasil isolasi yang telah dilakukan diperoleh 5 isolat bakteri yang memiliki karakterisasi morfologi koloni yang berbeda

satu sama lain, dan mampu tumbuh pada media SMA. Koloni yang berbeda dipindahkan pada agar miring untuk pemurnian. Bakteri yang berhasil di isolasi ditumbuhkan di media seleksi yaitu SMA. Susu merupakan media yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba karena kaya akan nutrisi.

Menurut Susanti (2002) susu skim mengandung kasein yang disertakan ke dalam medium pertumbuhan bakteri berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperlihatkan aktivitas hidrolitik protease. Protease mengkatalisis degradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptida CO-NH dengan masuknya air ke dalam molekul.

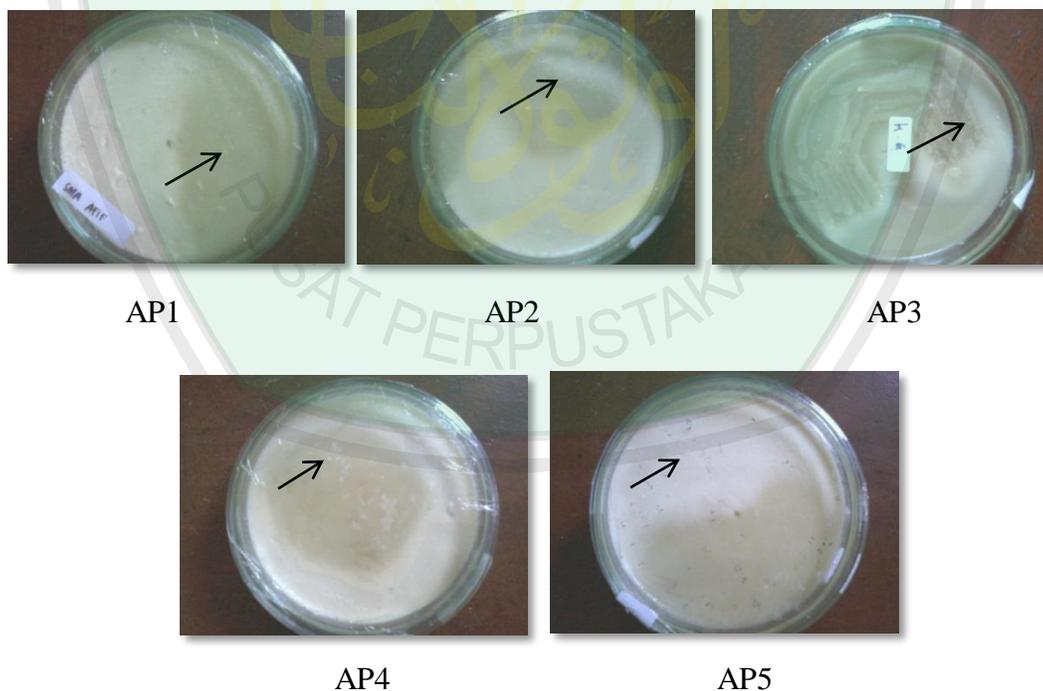
4.2 Karakterisasi Morfologi Koloni Isolat Bakteri Proteolitik Termofilik

Lima isolat yang dimurnikan pada media agar miring, selanjutnya ditumbuhkan pada media SMA dengan metode *streak kuadran* untuk dilakukan karakterisasi morfologi koloni. Dwidjoseputro (1989) menjelaskan bahwa karakteristik morfologi koloni bakteri pada suatu media yaitu bentuk koloni berupa bulat (circular), berbenang (filamentous), tidak teratur (irregular), serupa akar (rhizoid), dan serupa kumparan (spindel). 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 (curcled), dan warna koloni bakteri berupa keputih-putihan, kelabu, kekuning-kuningan atau hampir bening. Pada penelitian ini juga dilakukan pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis meliputi bentuk koloni,

permukaan koloni, tepi koloni dan warna koloni. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri disajikan pada Tabel 4.1. dan Gambar 4.1.

Tabel 4.1 Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Termofilik Proteolitik Hasil Isolasi dari Sumber Air Panas Pecet Mojokerto

Kode isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk koloni	Permukaan koloni	Tepi koloni	Warna koloni
AP1	bulat	timbul datar	utuh	krem
AP2	bulat	membukit	utuh	krem
AP3	berbenang	timbul datar	berombak	krem
AP4	bulat kecil-kecil	rata	utuh	krem
AP5	tidak teratur	timbul datar	berombak	krem



Gambar 4.1 Morfologi Koloni Bakteri Hasil Isolasi

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa diperoleh sebanyak 5 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari sumber air panas Pacet Mojokerto dengan ciri-ciri makroskopis yang berbeda. Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa AP1 dan AP2 memiliki bentuk bulat, AP3 memiliki bentuk menyerupai benang, AP4 memiliki bentuk menyerupai titik-titik dan AP5 berbentuk tidak teratur. AP1, AP3, dan AP5 memiliki permukaan koloni timbul datar, AP2 memiliki permukaan koloni membukit dan AP4 memiliki permukaan koloni rata. Tepi koloni AP1, AP2, dan AP4 adalah utuh, sedangkan AP3 dan AP5 memiliki tepi koloni berombak atau bergerigi. Berdasarkan ciri-ciri makroskopis semua isolat koloninya berwarna krem. Isolat tunggal bakteri ditunjukkan anah panah pada Gambar 4.1.

4.3 Uji Kemampuan Aktivitas Proteolitik Bakteri Termofilik Secara Kualitatif

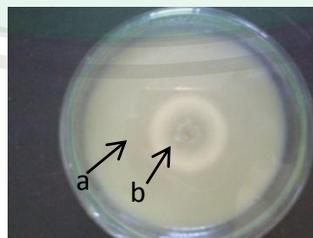
Aktivitas hidrolisis secara kualitatif merupakan gambaran dari kemampuan isolat bakteri proteolitik merombak protein dengan membandingkan besarnya zona jernih di sekitar koloni dengan besarnya diameter koloni (Widhyastuti & Dewi, 2001). Isolat-isolat bakteri yang diperoleh pada tahap isolasi, diuji secara kualitatif pada media seleksi. Uji kualitatif bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik. Media seleksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu skim. Menurut Widhyastuti & Naiola (2002), media yang digunakan untuk seleksi bakteri proteolitik mengandung susu skim dan agar. Susu merupakan media yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba karena kaya akan nutrien. Degradasi protein susu oleh protease menjadi asam amino menyebabkan perubahan warna dari putih menjadi

tidak berwarna. Jika isolat bakteri yang diuji secara kualitatif pada media seleksi memiliki protease, maka akan membentuk daerah bening disekitar koloni (Amelinda, 2010).

Hasil uji aktivitas proteolitik secara kualitatif dari 5 isolat yang mampu menghasilkan zona bening disekitar koloni yaitu AP1 memiliki nilai aktivitas kualitatif 9,6 mm, AP2 memiliki nilai aktivitas kualitatif 4 mm, AP3 memiliki nilai aktivitas kualitatif 14 mm, AP4 memiliki nilai aktivitas kualitatif 25 mm dan AP5 memiliki nilai aktivitas kualitatif 12 mm. Hasil hidrolisis lima isolat terhadap protein dalam media susu skim dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Kemampuan Aktivitas Proteolitik Bakteri Termofilik Secara Kualitatif

Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)
AP1	9,6
AP2	4
AP3	14
AP4	25
AP5	12



Gambar 4.2 Kemampuan Aktivitas Proteolitik Bakteri Termofilik Secara Kualitatif

Keterangan: a. Zona bening b. Koloni

Besar aktivitas enzim proteolitik ditunjukkan dengan semakin lebarnya zona bening, tetapi besarnya aktivitas enzim proteolitik yang berperan merombak protein dalam medium padat tidak dapat diketahui dan diukur secara kuantitatif. Hasil perombakan polimer protein hanya ditunjukkan dengan adanya zona bening yang menandakan protein telah dirombak menjadi senyawa peptida dan asam amino yang sifatnya terlarut dalam medium. Aktivitas hidrolisis secara kualitatif merupakan gambaran dari kemampuan isolat bakteri proteolitik merombak protein dengan membandingkan besarnya zona bening disekitar koloni dengan besarnya diameter koloni (Widhyastuti & Naiola, 2002).

Isolat bakteri termo-proteolitik yang ditemukan pada sumber air panas Sungai Medang Jambi memiliki zona bening tertinggi adalah MII_{2.1} yaitu 14,8 mm. (Dina, 2012). Isolasi bakteri termofilik dari sumber air panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara, diperoleh 3 isolat dengan zona bening terbesar yaitu SP1 dengan nilai aktivitas kualitatif 5,81 mm, SP2 dengan nilai aktivitas kualitatif 5,96 mm dan SP3 dengan nilai aktivitas kualitatif 5,22 mm yang berpotensi menghasilkan enzim proteolitik termofil (Rosliana, 2009). Menurut Lehninger (1998) aktivitas suatu enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu pH, konsentrasi substrat dan enzim, suhu dan adanya aktivator atau inhibitor.

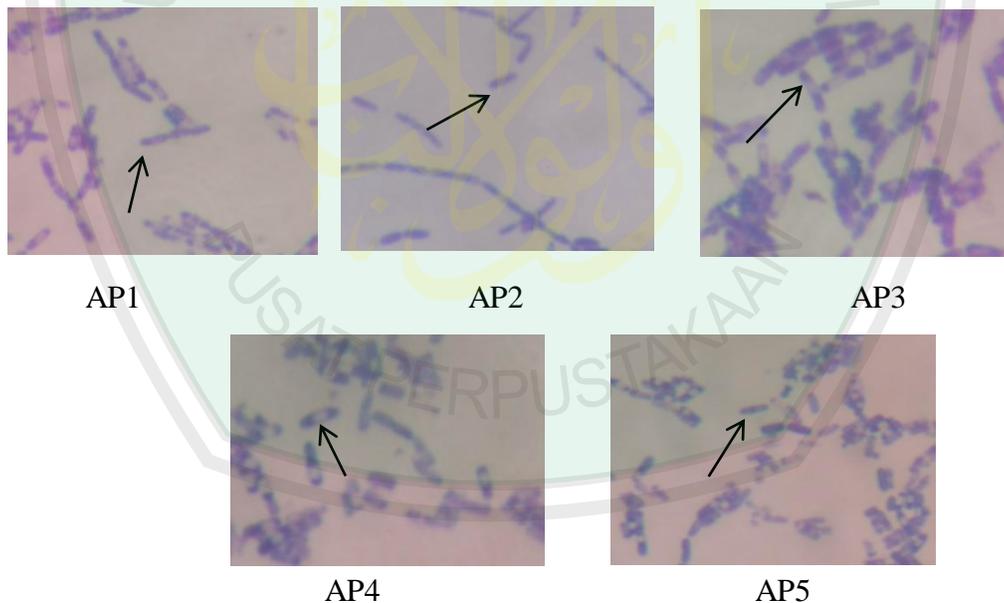
4.4. Hasil Uji Mikroskopis dengan Pewarnaan Gram

Lima isolat terpilih masing-masing dilakukan uji biokimia sederhana, yaitu meliputi pewarnaan Gram, dan pengamatan bentuk sel bakteri. Hasil uji pewarnaan Gram dan bentuk sel bakteri disajikan pada Tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.3 Hasil Uji Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Proteolitik Termofilik

Kode Isolat	Pewarnaan Gram	Bentuk sel
AP1	+	Basil
AP2	+	Basil
AP3	+	Basil
AP4	+	Basil
AP5	+	Basil

Berdasarkan hasil uji pewarnaan Gram yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri bersifat Gram positif yang ditandai dengan sel berwarna ungu. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bentuk sel bakteri dari AP1 sampai AP5 berbentuk basil. Hasil uji pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 4.3.

**Gambar 4.3** Hasil Uji Pewarnaan Gram

Perbedaan warna Gram menunjukkan perbedaan struktur dinding sel bakteri. Umumnya bakteri Gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipida yang

tinggi. Lipida larut oleh aseton alkohol sehingga kompleks zat warna kristal violet pada dinding sel tidak dapat dipertahankan dan mengikat zat warna merah safranin pada waktu pewarnaan. Warna merah yang tetap dipertahankan mengindikasikan bakteri Gram negatif. Pada bakteri Gram positif dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yang tidak larut oleh aseton alkohol sehingga warna biru kompleks zat warna kristal violet tetap dipertahankan pada waktu pewarnaan (Lay, 1994).

Pengujian pewarnaan Gram dilakukan untuk menentukan karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Lapisan peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri Gram positif lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif akan dihasilkan warna ungu, dengan tebal dinding sel bakteri Gram positif sebesar 20-80 nm sebagian besar tersusun dari peptidoglikan yang berakibat pada banyaknya kristal violet yang diserap oleh bakteri Gram positif lebih besar (Prescott dkk., 1999).

Kristal iodine yang terjebak pada polisakarida peptidoglikan (dinding sel bakteri) yang semakin menambah pekat warna ungu. Ketika ditambahkan alkohol, maka hanya sedikit kristal violet dan iodine yang lepas, itu disebabkan karena tebal dinding sel bakteri Gram positif sebesar 20-80 nm. Sehingga, ketika ditambahkan safranin, dimungkinkan safranin tersebut akan mengambil alih posisi kristal violet yang kemudian membentuk ikatan ion dengan dinding sel bakteri, walaupun demikian warna dari kristal iodine dan kristal violet lebih mendominasi karena tebalnya dinding sel bakteri Gram positif. Sedangkan pada bakteri Gram negatif menghasilkan warna merah, dengan tebal peptidoglikan bakteri Gram negatif hanya

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

Adanya perbedaan morfologi maupun fisiologi bakteri proteolitik termofilik, mengakibatkan adanya variasi atau keanekaragaman bakteri dalam fungsinya. Perbedaan tersebut diperjelas dalam firman Allah *Subhanahu wa Ta'ala* Al-Qur'an surat Al-Furqan [25]: 2 sebagai berikut:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُن لَّهُ شَرِيكٌ فِي الْمَلِكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: "Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya" (QS. Al-Furqan [25]: 2).

Menurut Wassil (2001) lafadz *قَدَر* merupakan bentuk kata kerja (*fi'il madli*).

Makna kata ini sudah lebih sempit cakupannya, yaitu kata kerja yang berarti menentukan atau mengukur. Dalam makna menentukan tersimpul pula makna

mengukur, karena ketentuan yang menjadi tujuan adalah sesuatu yang ada ukurannya, termasuk perbedaan struktur dalam suatu organisme memiliki fungsi yang berbeda pula. Segala sesuatu yang diciptakan Allah *Subhanahu wa Ta'ala* diberi-Nya perlengkapan-perengkapan dan persiapan-persiapan, sesuai dengan naluri, sifat-sifat dan fungsinya masing-masing dalam hidup.

4.5 Identifikasi Isolat Bakteri Proteolitik Termofilik dari Sumber Air Panas Pacet

Lima isolat bakteri proteolitik termofilik hasil isolasi dari sumber air panas Pacet perlu diidentifikasi sampai tingkat spesies untuk mengetahui jenis bakteri yang didapat. Identifikasi sampai tingkat spesies dilakukan dengan menggunakan Kit *Microbact* 12B. Evaluasi hasil identifikasi dilihat melalui sumur-sumur *Microbact* dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *patient record* (Oxoid, 2004).

Berdasarkan hasil karakterisasi dan uji biokimia menggunakan Kit *Microbact* terhadap 5 isolat yaitu isolat AP1, AP2, AP3, AP4, dan AP5 menunjukkan bahwa dari 5 isolat tersebut hanya 2 spesies yang berbeda, yaitu isolat AP1, AP3, dan AP4 termasuk dalam spesies *Bacillus firmus*. Sedangkan isolat AP2 dan AP5 termasuk dalam spesies *Bacillus cereus*. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa kedua spesies bergenus *Bacillus*. Bentuk sel genus *Bacillus* batang lurus, berukuran antara 0,5-0,25 x 1,2-10 μm dan kebanyakan hidup koloni atau berantai. Bersifat Gram positif dan endospora berbentuk oval atau kadang-kadang bulat atau silinder. Golongan bakteri

ini bersifat aerob atau anaerob fakultatif, dan mempunyai kemampuan fisiologis terhadap suhu, pH, dan salinitas yang beragam. Biasanya katalase positif, dapat melakukan metabolisme fermentasi karbohidrat dan beberapa spesies bersifat patogen (Holt dkk., 1994).

4.5.1 *Bacillus firmus*

Berdasarkan karakteristik isolat AP1, AP3 dan AP4, ketiga isolat mempunyai kesamaan yaitu secara makroskopis permukaan koloni timbul datar dan warna koloni krem. Sedangkan secara mikroskopis kedua isolat bersifat Gram positif, uji katalase positif, dan terdapat endospora. Marga *Bacillus* merupakan bakteri yang berbentuk batang dapat dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. *Bacillus spp* membentuk endospora, merupakan Gram positif, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik serta bersifat katalase positif (Pelczar dkk.,1976). Selanjutnya dilakukan uji *Microbact* dengan menganalisa kemampuan metabolismenya menggunakan suatu metode uji biokimia. Hasil uji biokimia isolat AP1, AP3 dan AP4 menggunakan Kit *Microbact* disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Biokimia Isolat AP1, AP3, dan AP4 Menggunakan Kit *Microbact*

Kode Isolat	Jenis Tes	Hasil Tes	Hasil Identifikasi
AP1, AP3, dan AP4	Bakteri Gram positif	Positif	<i>Bacillus firmus</i>
	Spora	Positif	
	Ferment Gula-gula		
	Glukosa	Negatif	

Lanjutan Tabel 4.4

Xylosa	Negatif
Mannitol	Negatif
Laktosa	Positif
Sukrosa	Negatif
Maltosa	Positif
Arabinosa	Negatif
Tumbuh Di	
Nutrient Broth	Positif
MCA (<i>Mac Conkey Agar</i>)	Negatif
TSI (<i>Triple Sugar Iron</i>)	A/a,h ₂ s-
Citrat	Negatif
Indol	Negatif
MR (<i>Methyl Red</i>)	Negatif
VP (<i>Voges Proskauer</i>)	Positif
Motilitas	Positif
Starch hydrolysis	Positif
Penicillin	Resisten
Beta-Hemolisa	Positif
Katalase	Positif
Oksidase	Negatif
Reduksi Nitrat	Positif
Reduksi Methylene Blue	Positif

Berdasarkan hasil pengamatan karakteristik secara makroskopis maupun mikroskopis dan uji *Microbact* menunjukkan bahwa isolat AP1, AP3, dan AP4 termasuk dalam jenis *Bacillus firmus*. Klasifikasi bakteri *Bacillus firmus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus firmus*

Berdasarkan hasil uji biokimia dengan *Microbact* pada Tabel 4.4 dapat diketahui bahwa *Bacillus firmus* bersifat Gram positif dan mempunyai endospora. Pada uji fermentasi gula-gula, bakteri *B. firmus* hanya mampu memfermentasi xylosa dan arabinosa. Sedangkan uji glukosa, mannitol, laktosa, sukrosa, dan maltosa hasilnya negatif. Selain itu dalam uji enzim, bakteri ini positif terhadap uji katalase dan oksidase. Pada uji *Voges Proskauer* (VP) hasilnya negatif, artinya bakteri ini tidak dapat memproduksi 2,3-butanediol sebagai hasil fermentasi dari glukosa (Cappuccino & Sherman 2005). Begitu juga pada uji indol hasilnya negatif. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini tidak dapat mendegradasi triptopan yang merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi karena proses enzimatik oleh beberapa bakteri (Cappuccino & Sherman 2005). *B. firmus* dapat mereduksi nitrat, dapat menghidrolisis kasein dan pati serta bersifat motil dan sensitif terhadap penisilin. Nitrat merupakan senyawa yang cukup potensial untuk menggantikan peran oksigen sebagai akseptor hidrogen final selama pembentukan energi (Cappuccino & Sherman 2005). Menurut Rao (2007), *Bacillus firmus* MTCC 7728 penghasil enzim protease alkalin, pada uji *Methyl Red* (MR) positif, *Voges Proskauer* (VP) negatif, hidrolisis kasein positif, hidrolisis gelatin positif, hidrolisis pati positif, uji katalase positif, uji indol negatif, terdapat endospora, Gram positif dan bersifat motil serta dapat mereduksi nitrat.

Bacillus firmus adalah bakteri Gram positif yang bersifat anaerob fakultatif (Safitri, 2011). Kebanyakan bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif akan memproduksi hidrogen peroksida yang bersifat toksik terhadap bakteri yang masih

hidup. Untuk menjaga kelangsungan hidupnya, sejumlah bakteri mampu menghasilkan enzim katalase yang memecah H_2O_2 menjadi air dan oksigen sehingga sifat toksiknya hilang (Pelczar, 1986).

Ada tidaknya pembentukan enzim katalase dapat membantu membedakan kelompok-kelompok bakteri tertentu. Pada uji katalase, kebanyakan bakteri aerob menggunakan oksigen H_2O_2 yang sesungguhnya bersifat racun bagi sistem-sistem enzim sendiri. Namun, mereka tetap dapat hidup dengan adanya racun tersebut karena akan menghasilkan enzim katalase (Hadieotomo, 1993). *Bacillus firmus* juga diketahui memiliki potensi dalam mendegradasi limbah cair tahu dengan mereduksi amilum dan protein (Lestari, 2011).

4.5.2 *Bacillus cereus*

Berdasarkan karakteristik isolat AP2 dan AP6, kedua isolat mempunyai kesamaan yaitu secara makroskopis permukaan koloni timbul datar dan warna koloni krem. Sedangkan secara mikroskopis kedua isolat bersifat Gram positif, uji katalase positif, dan terdapat endospora. *Bacillus* spp. menunjukkan bentuk koloni yang berbeda-beda pada medium agar cawan *Nutrien Agar*. Warna koloni pada umumnya putih sampai kekuningan atau putih suram, tepi koloni bermacam-macam namun pada umumnya tidak rata, permukaannya kasar dan tidak berlendir, bahkan ada yang cenderung kering berbubuk, koloni besar dan tidak mengkilat. Bentuk koloni dan ukurannya sangat bervariasi tergantung dari jenisnya (Ariani, 2000). Selanjutnya dilakukan uji *Microbact* dengan menganalisa kemampuan metabolismenya

menggunakan suatu metode uji biokimia. Hasil uji biokimia isolat AP2 dan AP5 menggunakan Kit *Microbact* disajikan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil uji biokimia isolat AP2 dan AP5 menggunakan Kit *Microbact*

Kode Isolat	Jenis Tes	Hasil Tes	Hasil Identifikasi
AP2 dan AP5	Bakteri Gram positif	Positif	<i>Bacillus cereus</i>
	Spora	Positif	
	Ferment Gula-gula		
	Glukosa	Positif	
	Xylosa	Negatif	
	Mannitol	Negatif	
	Laktosa	Positif	
	Sukrosa	Negatif	
	Maltosa	Positif	
	Arabinosa	Negatif	
	Tumbuh Di		
	Nutrient Broth	Positif	
	MCA(<i>Mac Conkey Agar</i>)	Negatif	
	TSI(<i>Triple Sugar Iron</i>)	A/a,h2s-	
	Citrat	Negatif	
	Indol	Negatif	
	MR(<i>Methyl Red</i>)	Negatif	
	VP (<i>Voges Proskauer</i>)	Positif	
	Motilitas	Positif	
	Starch hydrolysis	Positif	
	Penicillin	Resisten	
	Beta-Hemolisa	Positif	
	Katalase	Positif	
Oksidase	Negatif		
Reduksi Nitrat	Positif		
Reduksi Methylene Blue	Positif		

Berdasarkan hasil pengamatan karakteristik secara makroskopis maupun mikroskopis dan uji *Microbact* menunjukkan bahwa isolat AP2 dan AP5 termasuk

dalam jenis *Bacillus cereus*. Klasifikasi bakteri *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut (Todar, 2008):

Kingdom : Bacteria

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus cereus*

Berdasarkan hasil uji biokimia dengan *Microbact* pada Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa *Bacillus cereus* bersifat Gram positif dan mempunyai endospora. Pada uji fermentasi gula-gula, bakteri ini positif pada uji glukosa, laktosa, dan maltosa. Sedangkan pada uji xylosa, mannitol, sukrosa, dan arabinosa hasilnya negatif. Selain itu dalam uji enzim, bakteri ini positif terhadap uji katalase dan negatif pada uji oksidase. Pada uji VP (*Voges Proskauer*) hasilnya positif, artinya bakteri ini dapat memproduksi 2,3-butanediol sebagai hasil fermentasi dari glukosa (Cappuccino & Sherman 2005). Hasil isolasi dari tiram *Saccostrea cucullata* juga menemukan bakteri *Bacillus cereus* strain SU12 sebagai penghasil protease (Umayaparvathi, 2013).

Uji MR (*Methyl Red*) hasilnya negatif, hal menunjukkan bahwa bakteri ini tidak dapat memproduksi asam organik hasil metabolisme glukosa. *Methyl red* ini digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam campuran (Cappuccino & Sherman 2005). Begitu juga pada uji indol hasilnya negatif, hal ini menunjukkan

bahwa bakteri ini tidak dapat mendegradasi triptopan yang merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi karena proses enzimatik oleh beberapa bakteri (Cappuccino & Sherman 2005). *B. cereus* dapat menghidrolisis pati, hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini mampu menghasilkan enzim amilase yang berfungsi untuk menghidrolisis pati menjadi molekul yang lebih sederhana agar lebih mudah masuk ke dalam sel (Cappuccino & Sherman 2005). Bakteri ini juga dapat mereduksi nitrat, nitrat merupakan senyawa yang cukup potensial untuk menggantikan peran oksigen sebagai akseptor hidrogen final selama pembentukan energi (Cappuccino & Sherman 2005).

Bacillus cereus merupakan bakteri Gram positif, bersifat aerob fakultatif, dan motil. Beberapa bakteri Gram positif seperti genus *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium*, *Sporosarcina*, dan *Thermoactinomyces* merupakan bakteri yang mampu membentuk endospora. Pembentukan endospora bagi bakteri sangat penting, karena struktur endospora yang tebal dapat berfungsi sebagai pelindung panas (Atlas dan Richard, 1987). *Bacillus cereus* jarang menghasilkan urease, sebagian besar strain menghidrolisis amilum, kasein dan gelatin. Pada kadar NaCl rendah pertumbuhan bakteri ini akan terhambat. *Bacillus cereus* dapat tumbuh pada suhu 5–45°C dengan suhu optimal antara 30-37°C, sporanya pada media akim *milk*, fosfat buffer atau makanan dengan kadar asam yang rendah dan akan mati pada suhu 100° C selama 2-8 menit. Pada keadaan kering, spora tersebut relatif akan tahan pemanasan, dan akan mati pada pemanasan 12°C selama 17-30 menit (Wibowo, 1998).

Sebagian bakteri Gram positif dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan yang berlapis-lapis, membentuk struktur dinding sel yang tebal dan kokoh. Namun kandungan lipopolisakarida, lemak serta lipoproteinnya rendah (Tortora dkk., 2001). Dengan struktur dinding sel yang seperti ini, larutan asam akan mudah menembusnya dan menyebabkan kerusakan yang berkala pada sitoplasma sel. Bakteri ini motil dan mampu menghancurkan sel darah merah (*hemolytic*).

Bakteri *Bacillus cereus* adalah bakteri patogen yang seringkali mencemari bahan pangan dan menyebabkan gangguan saluran pencernaan (gastrointestinal). Menurut Buckle dkk., (2010), *B.cereus* merupakan genus *Bacillus* yang lebih sering mengkontaminasi makanan, terutama mengkontaminasi makanan yang mengandung bahan dasar nasi.

4.6 Uji Kemampuan Aktivitas Proteolitik Bakteri Termofilik Secara Kuantitatif

Aktivitas enzim didefinisikan sebagai kecepatan pengurangan substrat atau kecepatan pembentukan produk pada kondisi optimum (Lehninger, 1993). Aktivitas enzim dapat ditentukan secara kualitatif dengan reaksi kimia yaitu dengan substrat yang dapat dikatalisis oleh enzim tersebut, dan secara kuantitatif ditentukan dengan mengukur laju reaksinya. Aktivitas enzim protease yang dihasilkan secara kualitatif tidak selalu menjadi dasar yang baik untuk melihat aktivitas enzim-enzim proteolitiknya, sehingga perlu dilakukan uji lanjutan terhadap aktivitas protease secara kuantitatif. Aktivitas protease dihitung dalam satuan U (unit) per mL ekstrak enzim. Satu unit protease (U) didefinisikan sebagai banyaknya mL enzim yang

dibutuhkan untuk menghasilkan 1 μmol tirosin tiap menit dengan kasein sebagai substrat (Yusriah dan Nengah, 2013).

Media produksi untuk menghasilkan enzim harus memenuhi kebutuhan dasar untuk menghasilkan sel serta produk. Unsur utama yang paling dibutuhkan adalah nitrogen dan karbon. Nitrogen diperlukan untuk pertumbuhan sel, sedangkan karbon digunakan untuk meningkatkan energi biosintesis. Media produksi yang digunakan pada penelitian ini adalah susu skim cair. Susu skim mengandung 37,40% protein, 1% lemak, dan 49,20% laktosa (Hartono, 2003).

Menurut Fardiaz (1988) dalam memproduksi enzim dalam suatu bioproses memerlukan beberapa faktor, antara lain jenis mikroba, kurva pertumbuhan, dan kondisi optimum untuk meningkatkan aktivitas enzim. Kemampuan bakteri memperbanyak sel dalam medium ditunjukkan oleh kekeruhan yang terbentuk pada medium. Kekeruhan terjadi karena sel bakteri tumbuh, memperbanyak diri, dan mensekresikan enzim ke medium (Sutandi 2003).

Berdasarkan kurva pertumbuhan, fase eksponensial terjadi pada jam ke-1 hingga jam ke-22 (Amelinda, 2010). Pada fase eksponensial sel-sel bakteri sangat aktif membelah dan metabolisme sel berlangsung cepat. Ekstrak kasar enzim diperoleh dengan mensentrifugasi kultur pada kecepatan 6000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang diperoleh adalah ekstrak kasar enzim protease dan digunakan untuk penentuan aktivitas enzim (Apriyantono dkk., 1989).

Aktivitas protease diukur dengan metode Bergmeyer (1983). Prinsip pengukuran aktivitas protease dengan metode Bergmeyer adalah hidrolisis substrat

oleh protease menjadi asam amino dan peptida. Substrat yang digunakan adalah kasein (Suhartono 1992). Kasein merupakan protein susu yang terdiri atas fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kaseinat. Asam amino yang dihasilkan dari hidrolisis kasein oleh protease, dipisahkan dari protein yang belum terhidrolisis menggunakan asam trikloroasetat (TCA). Asam amino dan peptida akan dilarutkan dengan TCA, sedangkan protein yang memiliki bobot molekul yang besar akan mengendap. TCA juga berfungsi menginaktifkan protease dan menghentikan waktu inkubasi protease. Tahap pemisahan asam amino dan peptida yang terbentuk selama inkubasi dengan protein yang mengendap atau dengan substrat yang belum terhidrolisis dibantu oleh sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang terbentuk melalui tahap pemisahan tersebut merupakan asam amino hasil hidrolisis kasein oleh protease (Irena, 2010).

Supernatan ditambahkan Na_2CO_3 0,5 M dan pereaksi Folin *Ciocalteu* sehingga warna berubah menjadi hijau kekuningan. Larutan dibaca pada panjang gelombang 578 nm. Besarnya serapan berbanding lurus dengan konsentrasi asam amino yang terbentuk. Hasil pengujian aktivitas protease dari lima isolat terpilih menunjukkan kelima isolat memiliki aktivitas protease secara kuantitatif yang berbeda. Hasil uji aktivitas protease disajikan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil Uji Aktivitas Enzim Protease

No.	Kode Isolat	Aktivitas (U/mL)
1.	AP1 (<i>Bacillus firmus</i>)	0,4870
2.	AP2 (<i>Bacillus cereus</i>)	0,4615
3.	AP3 (<i>Bacillus firmus</i>)	0,3850
4.	AP4 (<i>Bacillus firmus</i>)	0,4020
5.	AP5 (<i>Bacillus cereus</i>)	0,6910

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa dari kelima isolat, yang memiliki nilai aktivitas enzim tertinggi yaitu isolat AP5 sebesar 0,6910 U/mL, dan yang memiliki aktivitas enzim terendah yaitu isolat AP3 sebesar 0,3850 U/mL. Sedangkan secara kualitatif, zona bening tertinggi dimiliki oleh isolat AP4 yaitu sebesar 25 mm, dan zona bening terendah dimiliki oleh isolat AP2 yaitu sebesar 4 mm. Besarnya aktivitas enzim protease menunjukkan bahwa bakteri dapat menghasilkan enzim protease yang mampu mendegradasi kasein menjadi asam amino dan peptida.

Hasil uji aktivitas enzim protease isolat AP1 sebesar 0,4870 U/mL, AP3 sebesar 0,3850 U/mL, dan AP4 sebesar 0,4020 U/mL. Ketiga isolat tersebut termasuk dalam spesies *Bacillus firmus*. Sedangkan hasil uji aktivitas enzim protease isolat AP2 sebesar 0,4615 U/mL dan AP5 sebesar 0,6910 U/mL, dan kedua isolat tersebut termasuk dalam spesies *Bacillus cereus*. Perbedaan aktivitas enzim pada spesies yang sama tetapi dengan isolat yang berbeda tersebut kemungkinan disebabkan karena perbedaan strain.

Dina (2012), berhasil mengisolasi bakteri termo-proteolitik dari sumber air panas Sungai Medang, Sungai Penuh Jambi, memiliki nilai uji aktivitas enzim protease tertinggi terdapat pada isolat MI_{2,3} yaitu sebesar 13,592 U/mL. Hasil pengujian aktivitas protease kasar isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara, menunjukkan bahwa isolat SP3 memiliki aktivitas protease tertinggi secara kuantitatif dengan nilai aktivitas protease optimum sebesar 11.6 U/mL. Aktivitas optimum protease kasar isolat SP2 sebesar 14.94 U/mL. Aktivitas protease terendah dihasilkan oleh isolat SP1 dengan nilai aktivitas protease optimum sebesar 9.50 U/mL (Pakpahan, 2009). Aktivitas enzim *Bacillus firmus* MTCC 7728 hasil isolasi dari sampel tanah dikawasan pabrik kulit Nacharam, Hyderabad India yaitu sebesar 215 U/mL (Rao, 2007). Hasil uji aktivitas protease yang di dapat nilainya lebih kecil dibandingkan hasil penelitian-penelitian terdahulu sehingga kurang optimal.

Berdasarkan data hasil uji aktivitas protease secara kualitatif dan hasil uji aktivitas protease secara kuantitatif tidak terdapat korelasi. Beberapa faktor yang diduga menjadi penyebab tidak terkorelasinya aktivitas tersebut yaitu pada uji aktivitas protease secara kualitatif besarnya zona bening di ukur menggunakan penggaris dan pengamatan dilakukan secara visual. Sedangkan pada uji aktivitas secara kuantitatif diukur menggunakan alat-alat laboratorium dan perlakuannya lebih intensif. Ward (1985) mengindikasikan bahwa tidak selalu terdapat korelasi yang baik antara zona bening protein disekitar koloni pada media padat dengan kemampuan organisme tersebut. Sian (1992) mengukur aktivitas protease *Bacillus licheniformis*

hasilnya hanya mampu menghasilkan zona bening yang kecil, namun mempunyai kemampuan yang besar dalam menghasilkan protease. Isolat SP2 dengan hidrolisis tertinggi secara kualitatif sebesar 5,96 mm hanya menghasilkan aktivitas enzim secara kuantitatif sebesar 9,93 Unit, sedangkan SP3 dengan aktivitas hidrolisis secara kualitatif terendah sebesar 5,22 mm, memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi dari SP2 (Pakpahan, 2009).

Adanya aktivitas enzim yang berbeda nilainya setiap isolat kemungkinan disebabkan oleh setiap jenis mikroorganisme menghasilkan enzim yang berbeda jumlah dan urutan asam amino pembentuk enzim tersebut. Suhartono (1991), menyatakan bahwa aktivitas dari enzim protease dari mikroorganisme dipengaruhi oleh jumlah enzim dan sekuen asam amino dari enzim yang dihasilkan. Menurut Agustien (2010), bahwa aktivitas spesifik enzim yang berbeda dari isolat *Bacillus* spp. kemungkinan disebabkan jumlah enzim dan asam amino protein enzim yang dihasilkan masing-masing isolat *Bacillus* spp. berbeda satu sama lain.

4.7 Kajian Islam Terkait Bakteri Proteolitik Termofilik

Salah satu jenis mikroorganisme yang banyak dieksplorasi adalah mikroorganisme termofilik yang hidup di daerah sekitar gunung berapi dan sumber air panas. Mikroorganisme yang dapat hidup pada suhu termofilik hanyalah prokariot dari kelompok Arkaea dan Bakteri (Madigan dan Mairs, 1997). Pada sumber air panas, terdapat keragaman mikroorganisme yang sangat menarik untuk dikaji.

Mikroorganisme tersebut merupakan kelompok bakteri yang memiliki kondisi pertumbuhan optimum pada suhu tinggi (Nam dkk., 2004).

Keberadaan mikroorganisme di bumi sebelumnya telah dijelaskan oleh Allah *Subhanahu wa Ta'ala* dalam QS. Al-Baqarah [2]: 26 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ
 الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا
 وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: "Sesungguhnya Allah tiada segan membuat **perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu**. adapun orang-orang yang beriman, Maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan Ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik"(QS. Al-Baqarah [2]: 26).

Al-Maraghi (1993) menjelaskan bahwa yang dimaksud dengan lebih kecil dibanding nyamuk ialah sesuatu yang tampak lebih kecil bentuknya dibanding nyamuk, menurut peneliti misalnya mikroorganisme. Mikroorganisme tidak bisa dilihat dengan mata telanjang namun hanya bisa dilihat dengan bantuan mikroskop. Allah Yang Maha Mengetahui lebih mengetahui hikmah yang terkandung dalam pengungkapan perumpamaan ini. Bagi orang-orang yang sudah terbiasa melakukan kebaikan, mereka akan sadar dan mempunyai pandangan secara seksama, maka ketika mendengar perumpamaan tersebut mereka justru mendapatkan suatu petunjuk

dan inspirasi. Sebab, mereka akan selalu menghargai sesuatu sesuai dengan kemanafaatannya masing-masing.

Allah *Subhanahu wa Ta'ala* telah menjelaskan beberapa tanda (fenomena) di alam yang menunjukkan bukti keesaan Allah, kodrat-Nya dan ilmu-Nya. Fenomena-fenomena tersebut akan dapat diambil hikmah dan manfaatnya bagi siapa saja yang mau berfikir. Karenanya Allah *Subhanahu wa Ta'ala* tidak segan-segan meninggikan derajat bagi orang yang beriman dan berilmu, dalam arti memikirkan dan mentadaburi ayat-ayat Allah sebagai sarana memperkuat iman dan ilmu tersebut. Allah *Subhanahu wa Ta'ala* berfirman dalam surat Ali-Imran: 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ 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 keadaan 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”*. (Q.S. Ali-Imran : 190-191).

Hasil penelitian ini terinspirasi dari konsep “*ulul albab*” seperti yang disebutkan pada surat Ali-Imran ayat 190-191 di atas. Pada ayat tersebut, *ulul albab* diartikan sebagai orang-orang yang berakal, yang senantiasa mengingat Allah dalam

kondisi apapun dan memikirkan penciptaan-Nya. Memikirkan bukan berarti hanya selalu diam berfikir, akan tetapi kita sebagai mahasiswa biologi yang dibekali dengan berbagai disiplin ilmu tentang makhluk hidup dapat melakukan pengembangan dan penelitian-penelitian sejauh hal tersebut tidak bertentangan dengan syari'at Islam. Menurut Shihab (2002) sebagai insan ulul albab harus mampu mengintegrasikan semua yang telah diperoleh dalam kehidupan sehari-hari, mau berfikir dan memikirkan bahwa semua yang diciptakan Allah tidaklah sia-sia. Sehingga harapan ke depan akan banyak dikembangkan penelitian-penelitian yang kompeten di bidangnya, khususnya mengenai mikrobiologi yang dikaji secara mendalam yang semua gagasan idenya bersumber dari Al-Qur'an dan As-Sunnah. Sehingga di masa depan hasil penelitian tersebut tidak diselewengkan serta dapat digunakan sebagai sarana untuk lebih mengetahui kebesaran-Nya.

Menurut Al-Jazairi (2008) lafadz رَبَّنَا مَا جَاءَتْ هَذَا بِطَلَاْ maksudnya yaitu Allah *Subhanahu wa Ta'ala* menciptakan makhluk-Nya tanpa sia-sia, yakni sia-sia tanpa adanya hikmah yang bisa dijadikan pelajaran dan tanpa ada tujuan, tetapi Allah *Subhanahu wa Ta'ala* menciptakan semua ini dengan kebenaran, untuk tujuan-tujuan yang sangat luhur dan mulia. Dibalik keberadaan sesuatu yang dianggap merugikan terkandung manfaat yang mungkin manusia sering mengabaikannya. Dengan penelitian ini dapat diketahui bahwa bakteri yang sering dianggap merugikan ternyata memiliki banyak manfaat. Penelitian ini menunjukkan bahwa disumber air panas ditemukan banyak jenis bakteri termofilik yang memiliki potensi menghasilkan enzim protease yang bersifat termostabil yang berperan dalam mendegradasi kasein

dan merubahnya menjadi produk bernilai ekonomis dan bermanfaat. Protease adalah enzim yang banyak digunakan dalam industri, misalnya industri farmasi, kulit, deterjen, makanan dan pengolahan limbah (Pastor dkk, 2001; Ward, 1985).

Penelitian ini juga mengandung hikmah bahwa Allah *Subhanahu wa Ta'ala* menciptakan sesuatu dalam keadaan seimbang. Allah berfirman dalam surat Al-Mulk [67]: 3 sebagai berikut:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۗ فَأَرِجِ الْعَبَصَرَ ۗ هَلْ تَرَىٰ
مِن فُطُورٍ ۚ

Artinya: “yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu Lihat sesuatu yang tidak seimbang?” (Q.S. Al-Mulk [67]: 3).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah *Subhanahu wa Ta'ala* menciptakan segala sesuatu dengan seimbang. Menurut Ibnu Katsir dalam tafsirnya (2004) ialah semuanya saling bersesuaian dan seimbang tidak ada pertentangan, benturan, ketidakcocokan, kekurangan, aib, dan kerusakan. Seperti halnya bakteri termofilik yang hidup dilingkungan panas dapat menghasilkan enzim yang juga tahan terhadap panas. Jadi, Allah menciptakan makhluknya dalam keadaan seimbang, serasi dan tiada yang sia-sia. Allah juga berfirman dalam surat Al-Baqoroh ayat 164 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَحْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلُكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٦٤﴾

Artinya: *”Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan”* (Q.S. Al-Baqoroh[2]: 164).

Ayat tersebut menjelaskan tentang pentingnya air hujan, menghidupkan bumi yang telah mati. Bila hujan datang bumi pun hidup kembali. Dengan adanya hujan atau turunnya air segala jenis makhluk hidup akan tumbuh, baik tumbuh-tumbuhan atau berbagai jenis binatang, termasuk manusia sendiri dan tidak terkecuali mikroorganismenya. Air merupakan sumber kehidupan dan merupakan komponen penyusun terbanyak dalam tubuh makhluk hidup. Air juga merupakan salah satu faktor atau nutrisi yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Menurut Dwidjoseputro (1989) air tanah mengandung zat-zat anorganik maupun zat-zat organik yang merupakan tempat yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganismenya (kehidupan mikroorganismenya). Inilah merupakan salah satu bukti kekuasaan-Nya bagi orang-orang yang berfikir.

Berdasarkan surat Al-Baqarah ayat 164 dapat kita pahami bahwa begitu banyak tanda-tanda kekuasaan Allah *Subhanahu wa Ta'ala* yang dalam penelitian ini yaitu kebesaran Allah dapat menciptakan bakteri yang tahan dan dapat hidup dilingkungan panas. Struktur bakteri yang sangat kecil dapat menghasilkan enzim, diantaranya enzim protease yang tahan terhadap panas dan memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan umat manusia.

