

**SKRINING BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL AMILASE ASAL  
SUMBER AIR PANAS PTPN XII BLAWAN  
KABUPATEN BONDOWOSO**

**SKRIPSI**

Diajukan Untuk Memenuhi Persyaratan Penyelesaian Program Sarjana Sains Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Jember

**Oleh:**

**MUHAMMAD HIDAYAT  
001810401108**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
Juli, 2005**

## **MOTTO**

Yang terpenting keikhlasan, kemudian terjadilah apa yang seharusnya terjadi  
(Abu Musa AL- Asyari)

Dengan Keberhasilan yang kita raih, kita belajar berbesar hati dan menjadi lebih  
sederhana lagi (Al-Hikmah)

## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengharap ridho Allah SWT, kupersembahkan Skripsi ini untuk:

Ayahanda Sutomo dan Ibunda Rokhimah yang selalu memberi kasih sayang hanya untukku, do'a restu serta pelajaran berharga tentang hidup. Adikku Arif Kurniawan. Keluarga besar Bani Anas yang setiap saat selalu menjadikanku orang yang berharga dan bersemangat untuk terus berjuang meraih cita-cita dan masa depan. Yessi NurmalaSari yang selalu menemaniku. Semua guru-guruku dan Almamater tempatku menimba ilmu.

## **DEKLARASI**

Skripsi ini berisi hasil kerja/penelitian mulai bulan Juli 2004 sampai dengan Maret 2005 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Bersama ini saya menyatakan bahwa isi skripsi adalah hasil pekerjaan saya sendiri kecuali jika disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi lain. Sebagian dana penelitian ini dibiayai dari dana penelitian Hibah Bersaing (HB) XI DIKTI No. 252/DPPM/PHBXI/2003 Tanggal 28 Maret 2003.

Jember, Juli 2005

Muhammad Hidayat

## **ABSTRAK**

**Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Amilase Asal Sumber Air Panas PTPN XII Blawan Kabupaten Bondowoso.** Muhammad Hidayat, 201810401108, Skripsi, Maret 2005, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

Industri pengolahan amilum umumnya memerlukan amilase yang termostabil, yang dapat dihasilkan bakteri termofilik. Isolasi bakteri dari sumber air panas PTPN XII Blawan Kabupaten Bondowoso bertujuan untuk mendapatkan bakteri termofilik amilolitik yang termostabil. Penelitian dilakukan dengan uji aktivitas amilase secara semikuantitatif pada media SSA (*Soluble Starch Agar*) dengan perlakuan suhu secara bertahap, dilanjutkan dengan uji aktivitas secara kuantitatif. Hasil isolasi didapatkan 20 isolat bakteri termofilik, dari 20 isolat bakteri terdapat 12 isolat bakteri bersifat amilolitik. isolat MZK-HDY 1tumbuh sampai suhu  $70^{\circ}\text{C}$  dengan indeks aktivitas amilase terbesar pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  yaitu 6,4. Pada uji aktivitas secara kuantitatif dengan *Blue Value Method*, amilase dari isolat MZK-HDY 1 yang diproduksi pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 8 jam mampu menghidrolisis amilum terbesar yaitu 8, 36% (125,45 mg/ml.mnt). Pengamatan mikroskopis isolat MZK-HDY 1 dilakukan dengan pengecatan Gram, didapatkan isolat MZK-HDY 1 termasuk bakteri Gram positif dengan bentuk selnya batang.

Kata kunci: *skrining, bakteri, termofilik, amilase*

## **ABSTRACT**

**The Screening of Amylase producer Thermophilic Bacteria Which is From Hot Water Source PTPN XII Blawan Bondowowo Regency.** Muhammad Hidayat, 001810401108, Thesis, March 2005, Biology Department, Science Faculty, Jember University.

The industry of amyllum utilization generally needs amylase which is thermostable, is produced by thermophilic bacteria. Bacteria isolation from hot water source at PTPN XII Blawan Bondowoso regency is intended to get Thermophilic bacteria which can produce thermostable amylase. Research by way of doing amylase activity test in the way of semiquantitative in the media of SSA (*Soluble Starch Agar*) with the treatment in the temperature of gradual steps, it is continued with enzym activity test quantitatively. The result of isolation got 20 isolates of thermophilic bacteria, from 20 isolate got 12 isolates of amylolitic bacteria. The isolate MZK-HDY 1 can grow in the temperatere of  $70^{\circ}\text{C}$  which has

the biggest amylase activity index in temperature of 60°C is 6,4. The amylase activity test quantitatively in the amylase of bacteria isolate MZK-HDY 1 by using *Blue Value Method*, After got hydrolization power of the highest amylose that is 8,36% (125,45 mg/ml.mnt) in the production of 8 hours in temperature of 60°C incubation. Microscopic observation to isolate MZK-HDY 1 was done by painting Gram, it is known that isolate MZK-HDY 1 includes positive Gram bacteria in the form stick.

Key Words: screening, bacteria, Thermophilic, amylase

## **HALAMAN PENGESAHAN**

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Jember pada :

Hari :

Tanggal : .....

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Jember

Tim Pengaji

Ketua

Sekretaris

Dr. Kahar Muzakhar, S. Si  
NIP. 132 083 605

Drs. Siswanto, M. Si  
NIP. 132 046 350

Anggota I

Anggota II

Esti Utarti, S. P., M. Si  
NIP. 132 243 344

Sattyra Arimurti, S. P., M. Si  
NIP. 132 240 149

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Jember

Ir. Sumadi, M. S  
NIP. 130 368 784

**KATA PENGANTAR**

Alhamdulillah, segala puji tertuju bagi Alloh SWT Penguasa Alam Semesta. Atas berkat rahmat dan hidayahnya penulis akhirnya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Amilase Asal Sumber Air Panas PTPN XII Blawan Kabupaten Bondowoso”.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan sarjana pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Kahar Muzakhar, S. Si selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberi kesempatan penulis untuk tetap berkarya dan Drs. Siswanto, M. Si selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa memberi semangat dan pengarahan kepada penulis demi kesempurnaan penyusunan skripsi ini.
2. Esti Utarti, S. P., M. Si selaku dosen penguji I dan Satty Arimurti, S. P., M.Si selaku dosen penguji II yang telah memberi saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Dra. Umiyah, M. Sc. agr. selaku ketua Jurusan Biologi yang setiap saat memberikan semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Dwi Setyati, M. Si sebagai dosen wali yang telah membimbing dan mengarahkan penulis di dalam pemrograman tiap-tiap mata kuliah.
5. Ir. Endang Susetyowati dan Sutrisno yang telah membantu dan memberi dorongan semangat hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Seluruh Guruku yang telah memberikan bimbingan ilmu yang tidak terkira kepada penulis.
7. Teman seperjuangan Kurnia Palupi, Norman Syarif, Della, Renna, Nonik, Titik dan Arik yang telah membantu penyelesaian skripsi ini.
8. Sahabat-sahabatku di “Pondokan Lembah Sofa”, *Microbiology Research Team* dan seluruh angkatan 2000.

Besar harapan penulis semoga penulisan skripsi ini bermanfaat untuk semua pihak yang peduli pada ilmu pengetahuan.

Jember, Juli 2005

Penulis

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| <b>JUDUL .....</b>                     | i       |
| <b>MOTTO .....</b>                     | ii      |
| <b>PERSEMBERAHAN .....</b>             | iii     |
| <b>ABSTRAK.....</b>                    | v       |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>        | vi      |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>             | vii     |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                 | viii    |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>              | x       |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>              | xi      |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>           | xii     |
| <b>I. PENDAHULUAN</b>                  |         |
| 1.1 Latar Belakang .....               | 1       |
| 1.2 Perumusan Masalah.....             | 2       |
| 1.3 Batasan Masalah .....              | 2       |
| 1.4 Tujuan Penelitian .....            | 2       |
| 1.5 Manfaat Penelitian.....            | 2       |
| <b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>            |         |
| 2.1 Bakteri Termofilik.....            | 3       |
| 2.2 Amilum.....                        | 4       |
| 2.3 Amilase.....                       | 4       |
| 2.4 Bakteri Termofilik Amilolitik..... | 5       |
| <b>III. METODE PENELITIAN</b>          |         |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....   | 7       |
| 3.2 Alat dan Bahan.....                | 7       |
| 3.3 Metode Penelitian.....             | 7       |
| 3.3.1 Pengambilan sampel.....          | 7       |
| 3.3.2 Isolasi Bakteri.....             | 8       |
| 3.3.3 Pemurnian Bakteri.....           | 8       |

|  |    |
|--|----|
| 3.3.4 Uji Semikuantitatif Aktivitas Amilase .....  | 8  |
| 3.3.5 Analisis kurva pertumbuhan .....   | 9  |
| 3.3.6 Produksi Amilase .....   | 9  |
| 3.3.7 Uji Kuantitatif Aktivitas Amilase .....  | 10 |
| 3.3.8 Kurva Standar Amilum.....  | 10 |
| 3.3.9 Pengamatan Mikroskopis dengan Pengecatan Gram pada<br>Isolat Bakteri Terpilih..... | 10 |
| <b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>  |    |
| 4.1 Seleksi Bakteri Termofilik Penghasil Amilase.....                                    | 12 |
| 4.2 Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri MZK-HDY 1 .....                                     | 14 |
| 4.3 Aktivitas Amilase Ekstrak Kasar Isolat Bakteri MZK-HDY 1                             | 15 |
| 4.4 Pengamatan Mikroskopis dengan Pengecatan Gram pada<br>Isolat Bakteri MZK-HDY 1.....  | 16 |
| <b>V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>   |    |
| 5.1 Kesimpulan .....   | 17 |
| 5.2 Saran.....   | 17 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 18 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....  | 20 |

## **DAFTAR TABEL**

| No   | Halaman |
|--|---------|
| 1. Data Hasil Uji Aktivitas Amilase Secara Semikuantitatif pada Suhu $40^{\circ}\text{C}$ , $50^{\circ}\text{C}$ , $60^{\circ}\text{C}$ dan $70^{\circ}\text{C}$ pada Media SSA..... | 14      |

## **DAFTAR GAMBAR**

| No. |  | Halaman |
|-----|--|---------|
| 1.  | Kurva Pertumbuhan Isolat MZK-HDY 1 pada Suhu 60 <sup>0</sup> C<br>Dalam Media LB.....                        | 15      |
| 2.  | Kurva Aktivitas Amilase Ekstrak Kasar Isolat<br>MZK-HDY 1 pada Suhu 60 <sup>0</sup> C pada Media Amilum..... | 16      |

## **DAFTAR LAMPIRAN**

| No. |   | Halaman |
|-----|---|---------|
| 1.  | Komposisi Media <i>Soluble Starch Agar</i> (SSA).....   | 20      |
| 2.  | Komposisi Media <i>Yest Extract Agar</i> (YEA).....   | 20      |
| 3.  | Komposisi Media Kultur untuk Produksi Amilase.....  | 20      |
| 4.  | Komposisi Media <i>Soluble Starch Substrate</i> (SSS).....                                      | 21      |
| 5.  | Komposisi Larutan Buffer Fosfat pH 7.....   | 21      |
| 6.  | Komposisi <i>Stop Solution</i> .....  | 21      |
| 7.  | Komposisi Larutan Penguji.....  | 21      |
| 8.  | Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Standar Amilum.....   | 21      |
| 9.  | Kurva Standar Amilum.....   | 22      |
| 10. | Tabel Data Kemampuan Amilase Ekstrak Kasar<br>Isolat MZK-HDY 1 Untuk Menghidrolisis Amilum..... | 22      |
| 11. | Tabel Data Pertumbuhan Sel Isolat MZK-HDY 1<br>Pada Media Pengkayaan (LB).....                  | 23      |
| 12. | Gambar Sel Isolat MZK-HDY 1 Pada Pengecatan Gram<br>Perbesaran 400X.....                        | 23      |
| 13. | Gambar Zona Bening Isolat MZK-HDY 1 pada<br>Media SSA Suhu 40 <sup>0</sup> C.....               | 24      |
| 14. | Gambar Zona Bening Isolat MZK-HDY 1 pada<br>Media SSA Suhu 50 <sup>0</sup> C.....               | 24      |
| 15. | Gambar Zona Bening Isolat MZK-HDY 1 pada<br>Media SSA Suhu 60 <sup>0</sup> C.....               | 25      |
| 16. | Gambar Zona Bening Isolat MZK-HDY 1 pada<br>Media SSA Suhu 70 <sup>0</sup> C.....               | 25      |