

## Isolasi Dan *Screening* Proteolitik Bakteri Termofilik Lumpur Panas Danau Linow Tomohon

Sonia Septika Manik<sup>1\*</sup>, Suddin Simanjuntak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Manado

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Manado

Kampus Unima di Tondano

\*Korespondensi penulis, email: soniamraja@gmail.com

Diterima 1 Maret 2020/Disetujui 2 Juni 2020

### ABSTRACT

Thermophilic bacteria have economic value because they produce thermostable enzymes useful for the industry. Linow Lake is a volcanic site located in the town of Tomohon, in northern Sulawesi. The research was conducted at the Microbiology Laboratory of the Department of Biology of FMIPA Manado State University from April to September 2019. This study aims to obtain isolates of thermophilic bacteria and proteolytic activity. This research uses descriptive qualitative research methods. The data obtained were presented in a descriptive way, covering macroscopic characteristics and qualitative qualitative tests. The proteolytic test was performed qualitatively by measuring the diameter of the clear zone created around the colony. The stages of the research were bacterial isolation, the thermo-tolerance test and the bacterial proteolytic test. According to the results of the study, we obtained 18 bacterial isolates capable of developing in the temperature range between 45°C and 60°C. It has a proteolytic capacity by producing clear areas on media skimmed milk agar. The results of the qualitative test of the proteolytic activity of 18 isolates, two isolates with the largest clear-zone diameter, were DLII.13 isolates with a qualitative activity of 6 mm and DLI.2 isolates, of 5 mm.

Keywords: Thermophilic bacteria, Linow Lake, proteolytic test.

### ABSTRAK

Bakteri termofilik bernilai ekonomis karena menghasilkan enzim termostabil yang berguna untuk industri. Danau Linow adalah salah satu situs Vulkanik yang terletak di Kota Tomohon, Sulawesi Utara. Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Manado dari bulan April sampai September 2019. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri termofilik serta aktivitas Proteolitik. Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif kualitatif. Data yang diperoleh di sajikan secara deskriptif meliputi karakteristik makroskopis dan uji proteolitik secara kualitatif. Uji proteolitik dilakukan secara kualitatif dengan mengukur diameter zona bening yang dihasilkan di sekitar koloni. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah isolasi bakteri dan uji thermo-toleran dan uji proteolitik bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, diperoleh 18 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada kisaran suhu 45°C-60°C. Memiliki kemampuan proteolitik dengan menghasilkan zona bening pada media skim milk agar. Hasil uji aktivitas proteolitik secara kualitatif dari pada 18 isolat, dua isolat dengan diameter zona bening terbesar adalah isolate DLII.13 memiliki aktifitas kualitatif 6 mm dan isolat DLI.2 memiliki aktifitas kualitatif 5 mm.

Kata kunci: Bakteri termofilik, danau Linow, uji proteolitik.

## PENDALUHUAN

Dewasa ini bioteknologi berkembang dengan sangat pesat. Salah satu produk bioteknologi yang menjadi primadona sekarang ini adalah enzim. Enzim merupakan biokatalis yang beragam bentuk, ukuran, sifat, dan peranannya dalam sel. Berdasarkan peranan enzim dalam sel hewan, tumbuhan dan mikroba, maka enzim berperan dalam setiap reaksi biokimia, yaitu mulai dari konversi energi, metabolisme makanan, mekanisme pertahanan sel, komunikasi antar sel hingga konversi sifat-sifat keturunan. Karena itulah enzim mempunyai potensi bioteknologi yang tinggi dan dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri (Suhartono 2000).

Bakteri termofilik mempunyai potensi untuk menghasilkan enzim termostabil yang sangat penting dalam proses industri dan bioteknologi. Enzim termostabil pada saat ini sedang mendapatkan perhatian besar, karena enzim ini sangat cocok untuk proses industri yang memerlukan suhu tinggi (Rakshit 2003).

Danau linow merupakan danau vulkanik merupakan bagian dari kawasan vulkanik Gunung lokon dengan aktivitas belerang dan lumpur panas yang tinggi. Danau linow terletak di kecamatan lahendong-Tomohon Selatan, Kota Tomohon dan berdekatan dengan kawasan pengembangan listrik tenaga panas bumi (*geothermal*). Selain dikembangkan sebagai objek wisata karena keindahan danau dengan fenomena perubahan warna air, di danau Linow juga hidup biota endemik antara lain dan sayok (nama lokal) merupakan anggota ordo odonata, ikan kabos (*channa striata*) dan biota lainnya (Prasetyo 2014).

Eksplorasi bakteri termofilik di Indonesia menjadi bidang kajian yang hampir tidak terbatas karena Indonesia kaya dengan situs-situs vulkanik yang spesifik atau berbeda antar daerah. Selain itu bakteri merupakan organisme mikro

yang memiliki kemampuan adaptasi dan modifikasi genetik yang tinggi karena bersifat uniseluler dengan material genetik yang sederhana dan kecil. Hingga saat ini, identifikasi mikroba tersebut belum dilakukan secara menyeluruh, karena hanya bergantung pada isolasi dari kultur murni yang diikuti dengan analisis sifat-sifat fisiologi dan biokimianya. Kondisi ini disebabkan, karena sebagian besar bakteri belum dapat dikultivasi (Dimawan *et al.* 2000).

Tujuan penelitian adalah untuk memperoleh data ilmiah tentang screening proteolitik dari isolat bakteri yang diperoleh dari Kawasan vulkanik lumpur panas Danau Linow, Tomohon.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Manado pada bulan April-September 2019. Alat yang digunakan adalah cawan petri, erlemeyer 250 ml, erlenmeyer 1000 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass 250 ml, thermometer, jarum ose crussable tang, spraying, magnetic stirrer, Bunsen, jarum ose, spatula, Bunsen, pH meter, micropipette eppendorf, mikropipet & yellow tip, kertas label, timbangan analitik, hotplate, autoclave electric, laminar air flow, incubator mammert, vortex mixer, kulkas, mikroskop, kertas koran, alat-alat gelas, kaleng yang dimodifikasi menjadi gayung. Bahan yang digunakan sampel lumpur panas yang diambil dari kawasan vulkanik danau linow Tomohon, aquades, skim milk, Nutrient agar(NA) p.a(merck), Nutrient broth(NB) p.a(merck), Bacto agar(BA).

### Pengambilan Sampel Lumpur Panas Danau Linow

Sampel diambil secara aseptis dari 2 titik pengambilan yang berbeda. Setiap lokasi pengambilan sampel diukur suhu *in situ*

menggunakan thermometer. Sampel lumpur diambil sebanyak 100 ml dan selanjutnya dimasukkan ke dalam termos steril berukuran 500 ml untuk mempertahankan suhu. Sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi FMIPA-UNIMA untuk segera dilakukan pengukuran parameter fisika dan kimianya sebelum dilanjutkan dengan proses isolasi dan seleksi mikroba.

### **Isolasi dan Kultur Murni Bakteri Termofilik**

Setelah dihomogenkan sebanyak 30 ml sampel yang di preservasi pada termos digunakan sebagai sumber biakan. Isolasi bakteri termofilik dilakukan dengan metode gores, setelah itu di inkubasi pada suhu konstan 45°C selama 2 x 24 jam.

Penapisan bakteri termofilik dilakukan pada media tumbuh NA dan media NB dengan suhu inkubasi 45°C. Isolat-isolat yang diperoleh kemudian dikultur murni pada media miring NA dengan suhu tumbuh 45°C. Kultur murni setiap isolat menunjukkan pertumbuhan yang konsisten pada suhu 45°C dengan waktu inkubasi 2 x 24 jam.

### **Karakterisasi Isolat Bakteri Termofilik**

Karakterisasi morfologi isolat bakteri termofilik lumpur panas Danau Linow Tomohon secara makroskopis yaitu dengan pengamatan morfologi setiap isolat meliputi bentuk koloni, permukaan koloni (elevasi) dilihat dari samping, tepi koloni dilihat dari atas dan warna koloni.

### **Uji Thermo-toleran dan Uji Metabolisme Bakteri**

Setiap isolat murni yang di Uji thermo-toleransi dimaksudkan untuk melihat suhu tumbuh optimum bakteri dan memastikan bahwa isolat bakteri yang diperoleh benar-benar termasuk ke dalam bakteri termofilik. Isolate murni yang berasal dari kultur murni yang sama, diremajakan terlebih dahulu pada media tumbuh NA, di inkubasi pada suhu tumbuh 45°C selama 24 jam. Isolat yang tumbuh di uji kembali pada

suhu 50°C selama 24 jam kemudian di uji lanjut pada suhu yang lebih tinggi yaitu 55°C dan 60°C.

### **Uji kemampuan aktivitas proteolitik isolat**

Isolat bakteri terpilih diinokulasikan menggunakan tusuk gigi steril pada media selektif agar susu skim (pH: 6,5) secara aseptik, di inkubasi pada suhu 50°C selama ± 24 jam. Zona hidrolisis protein diukur dengan membandingkan diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri.

### **Analisis Data**

Data hasil penelitian yaitu karakteristik morfologi isolat bakteri dianalisis secara deskriptif. Uji aktivitas proteolitik isolat bakteri dianalisis secara kualitatif dengan melihat diameter bening yang terbentuk.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Karakteristik Fisiokimia Sampel Lumpur Panas Situs Vulkanik Danau Linow**

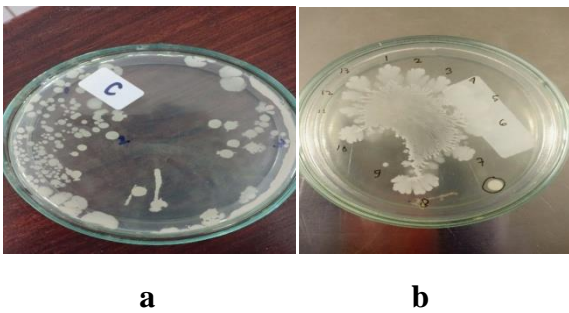
Hasil pengamatan yang pada sampel lumpur yang diperoleh dari kawasan situs Vulkanik Lumpur Panas Danau Linow Tomohon stasiun I memiliki warna abu abu, suhu 67°C, tekstur semi solid dengan pengukuran *ex situ* memiliki suhu 42°C dengan pH 6,54, dan salinitas 1,1 ppt. Pada stasiun II sampel lumpur panas yang diperoleh memiliki warna abu abu, suhu 84°C, tekstur semi solid dengan pengukuran *ex situ* 74 °C dengan pH 6,68 dan salinitas 2,1 ppt (Tabel 1).

Pada lokasi pengambilan sampel lumpur panas tersebut aroma belerang dan lumpur sangat terasa, lumpur dipinggiran tempat pengambilan sampel terasa hangat dengan suhu sekitar 45-50°C, warna air panas terlihat agak keruh dengan pH 6. Gambaran kondisi lingkungan kawasan lumpur panas di Danau Linow tersebut merupakan habitat yang baik bagi Bakteri termofilik. Bakteri termofilik adalah bakteri yang mampu hidup pada kondisi ekstrim baik suhu, pH maupun salinitas. Bakteri termofilik mampu hidup pada kisaran suhu 45°C ke atas (Pelzar & Chan, 2001). Karakteristik fisiokimia sampel

lumpur in situ dan *ex situ* dapat dilihat dari Tabel 1.

**Isolasi dan Kultur Murni Bakteri Termofilik**

Hasil isolasi bakteri dari kawasan situs Vulkanik Lumpur panas danau linow Tomohon diperoleh 18 isolat, dimana 5 isolat diperoleh dari stasiun I, 13 isolat diperoleh dari stasiun II. Isolat dari stasiun I diberi kode DLI(DLI.1, DLI.2, DLI.3, DLI.4 dan DLI.5) isolat dari stasiun II diberi kode DLII (DLII.1, DLII.2, DLII.3, DLII.4, DLII.5, DLII.6, DLII.7, DLII.9, DLII.10, DLII.11, DLII.12, DLII.13, dan DLII.14).Pengamatan koloni pada kultur murni yang ditumbuhkan pada media umum Nutrient Agar (NA) dapat dilihat pada gambar 1.a dan 1.b serta Tabel 2 dan Tabel 3.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri dari sampel lumpur panas Danau Linow: (a) titik pengambilan stasiun I (b) titik pengambilan stasiun II

**Uji ThermoToleran**

Uji Thermo-toleran dilakukan bertujuan pada kultur murni isolat bakteri yang diperoleh bertujuan untuk mengetahui suhu optimum isolat bakteri. Uji thermo-toleran dilakukan menurut metode yaitu dengan teknik gores pada media Nutrient agar, kemudian di inkubasi pada suhu konstan selama 24 jam.

Hasil uji suhu thermo-toleran pada isolat bakteri yang telah dimurnikan tersebut pada suhu konstan 45°C diperoleh 18 isolat yang tumbuh masing masing adalah 5 isolat dari stasiun I yaitu (DLI.1, DL.2, DLI.3, DLI.4, DLI.5) dan 13 isolat

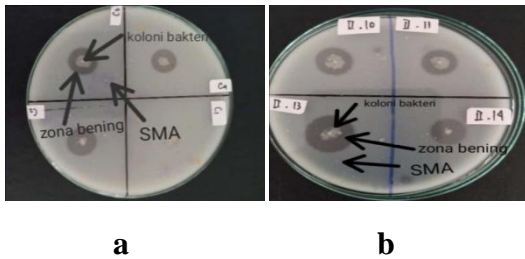
Tabel 1. Karakteristik Fisiologis sampel Lumpur panas pada titik pengambilan stasiun I dan II.

Parameter	Stasiun	
	I	II
<b>In situ</b>		
Suhu	67°C	84 °C
Warna	Abu abu	Abu abu
Bau	Berbau sulfur	Berbau sulfur
Tekstur	Semi solid	Semi solid
<b>Ex situ</b>		
<b>Parameter</b>		
<b>Stasiun</b>		
<b>I</b>		
<b>II</b>		
<b>Fisika/Kimia</b>		
Suhu	42 °C	74 °C
pH	6,54	6,68
Salinitas	1,1	2,1
Warna	Abu abu	Abu abu
Bau	Berbau sulfur	Berbau sulfur
Tekstur	Semi solid	Semi solid

dari stasiun II yaitu (DLII.1, DLII.2, DLII.3, DLII.4, DLII.5, DLII.6, DLII.7, DLII.8, DLII.9, DLII.10, DLII.11, DLII.12, DLII.13, DLII.14). Kemudian pada suhu uji thermo toleran 50°C dihasilkan 18 isolat yang tumbuh 5 isolat dari stasiun I yaitu (DLI.1, DLI.2, DLI.3, DLI.4, DLI.5) dan 13 isolat dari stasiun II yaitu (DLII.1, DLII.2, DLII.3, DLII.4, DLII.5, DLII.6, DLII.7, DLII.9, DLII.10, DLII.11, DLII.12, DLII.13, DLII.14). Pada suhu 55 °C terdapat 18 isolat yang tumbuh masing masing yaitu 5 isolat dari stasiun I yaitu (DLI1, DLI.2, DLI.3, DLI. 4, DLI.5) dan 13 isolat dari stasiun II yaitu (DLII.1, DLII.2, DLII.3, DLII.4, DLII.5, DLII.6, DLII.7, DLII.9, DLII.10, DLII.11, DLII.12, DLII.13, DLII.14). dan pada suhu 60°C terdapat 6 isolat yang tumbuh yaitu 2 isolat dari stasiun I yaitu (DLI.1 dan DLI.3) dan 4 isolat dari stasiun II yaitu (DLII.2, DLII.4, DLII.5, DLII.11).

Dari hasil uji Thermo-toleran didapatkan bahwa suhu yang berhasil dikultivasi dari situs vulkanik Danau Linow berkisar antara 45°C-60°C dengan suhu optimum pertumbuhan yaitu 50°C - 55 °C.

Pertumbuhan koloni bakteri berdasarkan morfologi koloni (bentuk koloni) disajikan dalam Tabel 4 dan 5.



Gambar 2. Hasil uji proteolitik isolat bakteri termofilik sampel lumpur panas Danau Linow : (a) isolat stasiun I. (b) isolat stasiun II

Dari 18 isolat yang diuji secara kualitatif, didapatkan bahwa semua isolat menunjukkan adanya aktivitas proteolitik. Aktivitas proteolitik dapat dilihat dari adanya zona bening yang muncul atau dapat ditunjukkan oleh indeks hidrolisis, dimana indeks hidrolisisnya dapat dihitung dengan cara membandingkan diameter lingkaran zona bening dengan diameter koloni bakteri (Tabel 6).

Pengambilan sampel dilakukan di kawasan Situs Vulkanik Lumpur Panas Danau Linow yang terletak di kecamatan Lahendong-Tomohon Selatan, Kota Tomohon. Sampel diambil di dua titik berbeda. Pengambilan sampel dilakukan pada bagian tengah di bawah permukaan cekungan kawah. Bertujuan untuk mendapatkan bakteri dengan suhu yang maksimal. Hasil pengamatan fisiologis terhadap sampel lumpur dari dua titik pengambilan yang berbeda memiliki parameter yang berbeda-beda (Tabel 1). Suhu lumpur *in situ* pada lokasi pengambilan sampel situs Vulkanik lumpur panas Danau Linow Tomohon pada stasiun I berada di suhu 67°C, sedangkan suhu lumpur setelah dibawa di

laboratorium (*ex situ*) memiliki penurunan suhu menjadi 42°C. Sedangkan pada titik pengambilan sampel Stasiun II suhu lumpur *in situ* berada pada suhu 84°C dan suhu setelah dibawa di laboratorium (*ex situ*) memiliki penurunan suhu menjadi 74°C.

Bakteri termofilik adalah bakteri yang mampu hidup pada kondisi yang ekstrim baik pada suhu, pH, dan salinitas yang tinggi. Bakteri termofilik mampu hidup pada kisaran suhu 45°C ke atas (Pelzar and Chan, 2001).

Dari hasil penelitian ini diperoleh isolat yang dapat hidup di rentang suhu 45°C - 60°C. Adanya bakteri yang dapat di isolasi pada rentang suhu *in situ* 67°C - 84°C, membuktikan bahwa pada situs Vulkanik lumpur Panas Danau Linow Tomohon hidup bakteri termofilik pada kondisi suhu tersebut. Tingkat pH sampel Lumpur panas berada antara 6,54 – 6,68.

Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan mikroba adalah mempengaruhi laju reaksi enzimatik dan kimia dalam sel. Semakin meningkat suhu, maka laju reaksi akan semakin cepat. Namun, pada taraf suhu tertentu, komponen sel akan mengalami kerusakan. Suhu akan meningkatkan metabolisme sampai pada titik terjadinya denaturasi. Ketika mencapai titik tersebut, fungsi sel akan menurun sampai ke titik nol. Berdasarkan hal tersebut, ada tiga tingkatan suhu yang mempengaruhi mikroorganisme. Suhu minimum adalah batas terendah bagi suatu mikroba masih dapat hidup, suhu optimum adalah suhu optimal bagi suatu mikroba untuk melakukan pertumbuhan, dan suhu maksimum adalah batas tertinggi bagi suatu mikroba untuk dapat hidup (Madigan dkk,2012).

Bentuk koloni serta ukuran koloni yang didapat dari uji termo toleran pada suhu yang berbeda-beda menunjukkan hasil yang sangat bervariasi disebabkan oleh bakteri yang berasal dari genus berbeda dan spesies yang berbeda dan juga suhu inkubasi yang berbeda.

Tabel 2. Hasil pengamatan Karakteristik makroskopis morfologi isolat bakteri termofilik dari titik pengambilan stasiun I pada media Nutrient Agar (NA)

Lokasi	Kode isolat	Suhu awal	B. koloni	Warna	Tepi	Elevasi
Stasiun I	DLI.1	45°	Bulat	Putih	Tidak beraturan	Umbonate
	DLI.2	45°	Menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Flat
	DLI.3	45°	Bulat	Putih gading	Tidak beraturan	Umbonate
	DLI.4	45°	Bulat	Putih gading	Tidak beraturan	Umbonate
	DLI.5	45°	Bulat Menyebar	Putih gading	Bergerigi	Umbonate

Tabel 3. Hasil pengamatan Karakteristik makroskopis morfologi isolat bakteri termofilik dari titik pengambilan stasiun II pada media Nutrient Agar (NA)

Lokasi	Kode isolat	Suhu awal	B. koloni	Warna	Tepi	Elevasi
Stasiun II	DLII.1	45°	Tidak beraturan dan menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Raised
	DLII.2	45°	Tidak beraturan dan menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Raised
	DLII.3	45°	Menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Flat
	DLII.4	45°	Menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Flat
	DLII.5	45°	Tidak beraturan dan menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Raised
	DLII.6	45°	Tidak beraturan	Putih gading	Tidak beraturan	Flat
	DLII.7	45°	Menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Flat
	DLII.9	45°	Bulat	Putih gading	Bergelombang	Umbonate
	DLII.10	45°	Tidak beraturan	Putih gading	Bergerigi	Umbonate
	DLII.11	45°	Tidak beraturan dan menyebar	Putih gading	Bergerigi	Umbonate
	DLII.12	45°	Menyebar	Putih gading	Bergerigi	Umbonate
	DLII.13	45°	Menyebar	Putih gading	Tidak beraturan	Flat
	DLII.14	45°	Menyebar	Putih gading	Halus	Umbonate

Tabel 4. Karakteristik Morfologi Bakteri Termofilik Hasil Uji ThermoToleran pada lokasi titik pengambilan stasiun I

Kode isolat	Suhu 45°C		Suhu 50 °C		Suhu 55 °C		Suhu 60 °C	
	(+)/(-)	Morfologi koloni	(+)/(-)	Morfologi koloni	(+)/(-)	Morfologi koloni	(+)/(-)	Morfologi koloni
DLI.1	(+)	Bulat	(+)	Bulat	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan
DLI.2	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(-)	(-)
DLI.3	(+)	Bulat	(+)	Bulat	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan
DLI.4	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(-)	(-)
DLI.5	(+)	Bulat menyebar	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(-)	(-)

Keterangan: (+) Tumbuh (-) Tidak tumbuh

Tabel 5. Karakteristik Morfologi Bakteri Termofilik Hasil Uji ThermoToleran pada lokasi titik pengambilan stasiun II

Kode isolat	Suhu 45°C		Suhu 50 °C		Suhu 55 °C		Suhu 60 °C	
	(+)/(-)	Morfologi koloni	(+)/(-)	Morfologi koloni	(+)/ (-)	Morfologi koloni	(+)/(-)	Morfologi koloni
DLII.1	(+)	Menyebarkan	(+)	Menyebarkan	(+)	Menyebarkan	(-)	(-)
DLII.2	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan
DLII.3	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(-)	(-)
DLII.4	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan
DLII.5	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Bulat menyebar	(+)	Bulat menyebar
DLII.6	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(-)	(-)
DLII.7	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan menyebar	(-)	(-)
DLII.8	(+)	Menyebarkan tidak beraturan	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
DLII.9	(+)	Bulat	(+)	Bulat	(+)	Bulat	(-)	(-)
DLII.10	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(-)	(-)
DLII.11	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan
DLII.12	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan menyebar	(+)	Tidak beraturan menyebar	(-)	(-)
DLII.13	(+)	Tidak beraturan	(+)	Tidak beraturan	(+)	Menyebarkan	(-)	(-)
DLII.14	(+)	Bulat	(+)	Bulat	(+)	Menyebarkan tidak beraturan	(+)	Menyebarkan Tidak beraturan

Keterangan: (+) Tumbuh (-) Tidak tumbuh

Tabel 6. Hasil Uji Proteolitik Isolat Bakteri Thermofilik dari sampel lumpur panas Danau Linow padatitik pengambilan stasiun I dan II

Kode titik pengambilan	Kode isolat	Diameter koloni bakteri	Diameter zona bening
Stasiun I	I.I	4 mm	4 mm
	I.2	3 mm	5 mm
	I.3	6 mm	2,75 mm
	I.4	4 mm	3,75 mm
	I.5	9 mm	4,25 mm
Stasiun II	II.1	4 mm	4,5 mm
	II.2	3 mm	3,25 mm
	II.3	4 mm	3,75 mm
	II.4	3 mm	5 mm
	II.5	5 mm	4 mm
	II.6	4 mm	4,75 mm
	II.7	4,25 mm	3 mm
	II.9	2,25 mm	5 mm
	II.10	7 mm	2 mm
	II.II	4,5 mm	3 mm
	II.12	6,75 mm	3 mm
	II.13	7,5 mm	6 mm
	II.14	2 mm	4,5 mm

Kondisi yang optimum akan mempengaruhi pertumbuhan sel mikroorganisme. Semakin optimum kondisi lingkungan maka semakin banyak jumlah isolat mikroorganisme yang mampu hidup di lingkungan yang sama (Simanjuntak dkk, 2018). Pengaruh suhu lingkungan berhubungan dengan pertumbuhan mikroorganisme (Ginting, 2009).

Pada penelitian yang dilakukan di lokasi Gunung Pancar Bogor memperoleh 18 isolat

bakteri termofilik pada suhu 70 °C (Dirmawan dkk,2000). Suhu optimum bagi bakteri termofilik berada pada temperature 55-70 °C (Lestari, 2000)

Uji proteolitik pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bahwa isolat bakteri termofilik yang di isolasi mampu menguraikan protein serta aktivitas proteolitiknya. Susu skim mengandung kasein yang berfungsi sebagai substrat enzim, kasein merupakan protein susu yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kalseinat (Pakpahan, 2009). 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 situs Vulkanik Lumpur Panas Danau Linow Tomohon memiliki zona bening tertinggi adalah DLII.13 yaitu 6 mm. Isolasi bakteri termofilik dari sumber air panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara, diperoleh 3 isolate 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).

Aktivitas suatu enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu pH, konsentrasi substrat dan enzim, suhu dan adanya activator atau inhibitor (Lehninger, 1998).

## KESIMPULAN

Dari 18 isolat koloni bakteri yang diperoleh dari isolasi lumpur panas yang



berasal dari titik pengambilan stasiun I dan stasiun II pada situs vulkanik Lumpur Panas Danau Linow Tomohon menggunakan media Nutrient agar pada suhu tumbuh 45 °C menunjukkan hasil karakterisasi yang bervariasi secara morfologi.

Seluruh isolat menunjukkan adanya aktivitas proteolitik pada saat di tumbuhkan pada media skim milk agar yang ditandai dengan adanya zona bening yang dihasilkan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Dirnawan H. 1999. Isolasi bakteri termofil penghasil enzim hidrolitik ekstraseluler dari sumber air panas Gunung Pancar *skripsi*. Bogor: 13 Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Ginting Y. 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Semangat Gunung Kabupaten Karo Sumatera Utara. Tesis tidak diterbitkan. Pascasarjana: USU Medan.
- Lehninger AL. 1988. Dasar-dasar Biokimia Jilid 1. Terjemahan. Penerjemah: MaggyThenawidjaja. Jakarta: Erlangga.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP. 2012. *Biology of Microorganisms*. Tokyo: Benjamin Cummings.
- Pakpahan R. 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara. *Tesis* Magister pada Sekolah Pascasarjana USU Medan: tidak diterbitkan.
- Pelczar Jr MJ, Chan ECS. 2001. *Element of Microbiology*. Terjemahan Hardiutomo SR, Teja I. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Rakshit SK, Haki GD. 2003. Development in industrially Important Thermostable Enzymes: a review. Bioproses Technology Program. Asian Institut of the Technology (AIT). Thailand.
- Simanjuntak S, Mokusuli YS, Marcellina W, Naharia O, Kapahang A. 2018. Molecular Barcoding Based 16S rRNA Gene of Thermophilic Bacteria from Volcanic sites. Linow Lake, Tomohon in Materials Science forum Vol : 967.
- Suhartono MT. 2000. Eksplorasi Protease Bakteri Asal Indonesia untuk Aplikasi dan Riset Bioteknologi, Prosiding Seminar Nasional Industri Enzim dan Bioteknologi II. Hlm 125-133.