

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

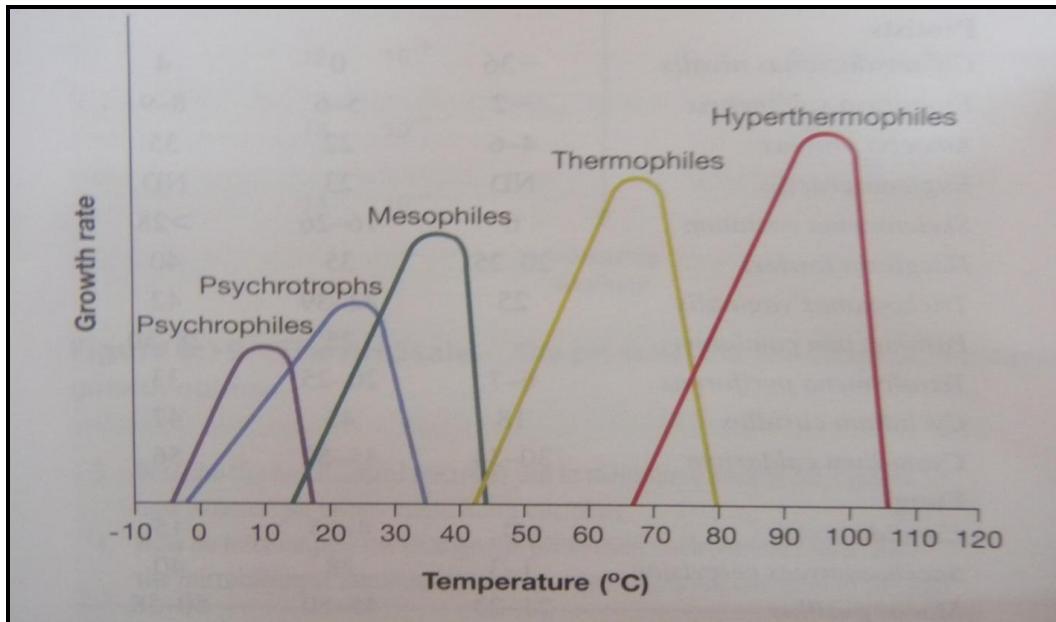
1. Mikroorganisme Termofilik

Suhu lingkungan sangat mempengaruhi mikroorganisme, seperti halnya untuk semua organisme yang lain. Mikroorganisme biasanya rentan karena suhu mereka bervariasi pada lingkungan eksternal. Faktor paling penting yang mempengaruhi adalah pengaruh suhu pada pertumbuhan, dimana sensitivitas temperatur pada reaksi enzim-katalis. Setiap enzim memiliki suhu dalam fungsi optimal. Pada beberapa suhu di bawah optimal, menjadikan proses katalitik berhenti. Kenaikan suhu dari suhu rendah, tingkat kenaikan katalisis yang teramat sama untuk suhu yang optimal. Kecepatan reaksi kira-kira akan berlipat ganda untuk setiap kenaikan 10 °C suhu (Prescott *et al.*, 2008: 136).

Sel-sel mikroba tidak dapat mengontrol suhu mereka dan karena itu menganggap suhu lingkungan sebagai habitat alami mereka. Kelangsungan hidup mikroba tergantung pada kemampuan beradaptasi pada berbagai variasi suhu yang ditemui di habitanya. Suhu kisaran untuk pertumbuhan mikroba dapat dinyatakan sebagai tiga suhu kardinal. Suhu minimum adalah suhu terendah yang memungkinkan metabolisme mikroba dan di bawah suhu tersebut aktivitasnya terhambat. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi dimana pertumbuhan dan metabolisme dapat dilanjutkan. Jika suhu naik atas maksimum, pertumbuhan akan berhenti, tapi jika terus naik melampaui titik itu, enzim dan asam nukleat akhirnya akan menjadi permanen tidak aktif atau dikenal sebagai denaturasi, dan sel akan

mati. Berdasarkan hal tersebut diketahui mengapa panas bekerja dengan baik sebagai agen untuk mengendalikan mikroba. Suhu optimum mencakup rentang kecil, menengah antara minimum dan maksimum, yang menunjukkan tingkat tercepat pertumbuhan dan metabolisme (Kathleen, 2005: 201).

Pada sebagian besar mikroorganisme pertumbuhan mencapai optimal pada suhu sekitar 20-45 °C yang disebut mesofilik. Lain halnya untuk termofilik yang telah menyesuaikan tidak hanya kemampuannya untuk bertahan, tetapi berkembang pada temperatur yang lebih tinggi. Termofilik akan mampu tumbuh dalam rentangan suhu sekitar 40-80 °C, dengan pertumbuhan optimal pada kisaran suhu 50-65 °C. Termofilik ekstrim memiliki suhu optimal lebih dari termofil, dan dapat bertoleransi pada suhu lebih dari 100 °C. Pada tahun 2003, anggota dari kelompok bakteri primitif yang disebut Archaea, diketahui dapat tumbuh pada suhu 121 °C, hal tersebut merupakan sebuah rekor dunia baru. Psichrofil menempati rentangan suhu ekstrim yang lain, mereka dapat tumbuh pada suhu 0 °C, dengan pertumbuhan optimal yang terjadi pada suhu 15 °C atau dibawahnya. Organisme tersebut tidak dapat tumbuh pada suhu di atas 25 °C atau lebih (Stuart, 2005: 97).



Gambar 1. Kisaran Suhu Pertumbuhan Mikroba (Prescott *et al.*, 2008: 138)

Bakteri termofilik dikelompokkan ke dalam beberapa genus yang merupakan bakteri aerob dan yang lainnya merupakan bakteri anaerob. Beberapa kelompok yang termasuk ke dalam bakteri termofilik diantaranya (Perry, J.J., dkk., 2005: 510):

a. Aquificae (Aquifex, Hidrogenobakter, dan Desulfobakterium)

Aquificae, bakteri yang termasuk di dalamnya kebanyakan merupakan bakteri termofilik moderat. Suhu maksimum untuk beberapa spesies mendekati 95 °C, yang dikelompokkan dalam hipertermofilik. Semua kultur yang telah dibiakkan tidak tumbuh pada bahan organik, karena merupakan bakteri autotrof obligat.

Aquificae merupakan genus yang paling banyak dipelajari, merupakan bakteri hipertermofilik sejati yang dapat hidup pada suhu maksimum 95 °C, mengikat karbondioksida lewat siklus asam sitrat reduktif. Selain menggunakan H₂ sebagai sumber energi, bakteri ini juga dapat menggunakan tiosulfat dan sulfur,

yang kemudian dioksidasi menjadi asam sulfat, juga menggunakan nitrat sebagai aseptor elektron dan menghasilkan nitrit dan gas N₂.

Hidrogenobakter, mempunyai metabolisme yang serupa dengan Aquifex, yaitu dengan siklus *tricarboxylic acid* (TCA) reduktif. Desulfobakterium, tumbuh dengan cara kemoautotrof dengan mengoksidasi hidrogen sebagai sumber energi dan mereduksi tiosulfat, S, atau sulfit menjadi H₂S, merupakan bakteri anaerob obligat.

b. Thermodesulfobakteria

Bakteri lonjong pereduksi sulfat, merupakan bakteri heterotrof, menggunakan laktat dan piruvat sebagai sumber energi dan sulfat atau tiosulfat sebagai aseptor elektron. Molekul H₂S dibentuk dari metabolisme reduksi sulfat. Asam-asam organik tidak sepenuhnya dioksidasi menjadi asam asetat dan CO₂. Bakteri ini banyak terdapat pada sumber air panas dan ladang minyak.

c. Thermotogae (Thermotogae dan Thermosiphon)

Merupakan organisme anaerob yang diisolasi dari lingkungan bersuhu tinggi dasar laut. Thermotogae memfermentasi gula seperti glukosa menjadi laktat, asetat, CO₂, dan H₂. Thermosiphon tumbuh pada media yang lebih kaya seperti yeast ekstrak.

d. Nitrospirae

Kelompok bakteri ini mencakup berbagai jenis bakteri, kebanyakan diantaranya mesofilik, satu-satunya genus yang merupakan termofilik adalah Thermodesulfovibrio.

e. Thermodesulfovibrio

Thermodesulfovibrio, seperti namanya kelompok bakteri ini merupakan bakteri pereduksi sulfat, yang menggunakan sumber karbon organik sebagai sumber energi dan mereduksi sulfat, tiosulfat, dan sulfit, menjadi H_2S . Laktat dan piruvat digunakan sebagai sumber energi. Suhu optimal untuk pertumbuhan adalah 65 °C.

f. Defferibakter (Defferibakter dan Geovibrio)

Kelompok bakteri yang dikenali mempunyai respirasi aerob dengan aseptor elektron ion logam atau nitrat. Genus termofilik moderat mempunyai suhu optimal pertumbuhan 50-65 °C.

Geovibrio, merupakan bakteri vibrioid anaerob yang mempunyai metabolisme serupa dengan Defferibakter. Mengoksidasi asetat dengan ion logam sebagai aseptor electron.

g. Thermomicrobium (Thermomicrobium)

Thermomicrobium merupakan bakteri aerob yang tumbuh pada suhu 74 °C. Thermomicrobium tumbuh pada media komplek dengan konsentrasi nutrien. Genus Dikioglomus merupakan bakteri anaerob, dengan sel berbentuk lonjong, tumbuh pada sumber air panas dengan rentang suhu pertumbuhannya antara 50-80 °C. Merupakan bakteri fermentatif yang menggunakan berbagai gula sebagai sumber energi.

h. Deinococcus dan Thermus

Deinococci merupakan bakteri mesofilik, tidak termasuk dalam termofilik karena suhu optimal pertumbuhannya 25-35 °C. Mempunyai permukaan berwarna

merah muda sampai merah yang merupakan karotenoid. Deinococci merupakan bakteri yang resistan terhadap radiasi sinar gamma.

Thermus berbeda dengan Deinococci, merupakan bakteri non-motil aerob, koloninya biasa berwarna merah muda, jingga, atau merah, yang merupakan karotenoid. Thermus tersebar luas dan telah diisolasi dari semua kondisi lingkungan panas dari seluruh dunia. Kondisi optimal untuk pertumbuhan Termus adalah 70-75 °C.

2. Habitat Mikroorganisme Termofilik

Termofilik adalah mikroba yang tumbuh optimal pada suhu lebih tinggi dari 45 °C. Habitat bakteri termofilik adalah pada tempat-tempat yang mempunyai kondisi lingkungan panas, dapat hidup dan berkembang biak pada lingkungan yang ekstrem. Beberapa habitat ekstrem bagi bakteri termofilik diantaranya adalah sumber air panas, kawah gunung berapi, dan di celah hidrotermal kedalaman air laut. Celaht tersebut merupakan rekahan permukaan bumi di bawah laut tempat magma merembes dan memanaskan air. Bakteri termofilik pertama kali ditemukan pada tahun 1960 oleh Thomas Brock di sumber air panas Yellow Stone. Termofilik bervariasi dalam persyaratan panas, dengan kisaran umum pertumbuhan 45-80 °C. Pada sebagian besar eukariotik tidak dapat bertahan di atas suhu 60 °C, tetapi beberapa bakteri termofilik disebut hipertermofil, tumbuh antara kisaran suhu 80 °C dan 110 °C (saat ini suhu dianggap membatasi enzim dan struktur sel) (Kathleen, 2005: 201).

Pada mata air panas, karena air mendidih sehingga meluap dan tepi mata air mengalir jauh dari sumbernya, secara bertahap mendingin, menyiapkan

gradien termal. Seiring gradien ini, berbagai mikroorganisme tumbuh, dengan rentang suhu yang berbeda. Dengan mempelajari distribusi spesies di sepanjang gradien termal tersebut dan dengan memeriksa sumber air panas dan habitat termal lainnya di temperatur berbeda di seluruh dunia, memungkinkan untuk menentukan batas suhu atas untuk setiap jenis organisme (Madigan *et al.*, 2009: 163-164).

Bakteri termofilik pertama kali diisolasi tahun 1879 oleh Miquel, menemukan bakteri yang mampu berkembang pada suhu 72 °C (162 °F). Miquel menemukan bakteri ini pada tanah, debu, kotoran badan, tempat pembuangan limbah, dan lumpur sungai. Tidak lama kemudian, ditemukan varietas bakteri termofilik pada tanah yang tumbuh subur pada temperatur tinggi tetapi tidak dapat tumbuh pada suhu kamar. Bakteri ini ditemukan di gurun pasir Sahara, tetapi tidak ditemukan di tanah pada hutan yang dingin. Pada tanah perkebunan yang mengandung pupuk terdapat 1-10% bakteri termofilik, sementara tanah lapang yang luas biasanya hanya mengandung 0,25% atau kurang. Tanah yang tidak ditumbuhi tanaman kemungkinan sama sekali tidak terdapat bakteri termofilik (Heru Prasetyo, 2006: 2).

3. Adaptasi Mikroorganisme Termofilik

Mikroorganisme termofilik telah dipelajari secara intensif dalam pengaruhnya untuk menentukan mekanisme dimana organisme ini tidak hanya bertahan, tetapi juga menyukai suhu yang lebih tinggi untuk pertumbuhannya. Secara kimia perbedaan lipid ditemukan di mikroorganisme termofilik. Organisme termofilik mengandung lipid dengan titik lebur yang lebih tinggi dari yang

ditemukan pada mesofil. Komposisi membran lipid pada organisme termofilik dibedakan dengan persentase lebih tinggi (30-40%) dari asam lemak jenuh dibandingkan dengan spesies mesofilik dan psikrofilik. Psikrofilik mengandung sekitar 90% asam lemak tak jenuh, 55% di antaranya adalah asam linolenat (Albert, 2002: 606-607).

Selain enzim dan makromolekul lain di dalam sel, membran sitoplasma dari organisme termofilik dan hipertermofilik harus tahan terhadap panas. Psikrofilik memiliki membran lipid kaya asam lemak tak jenuh, sehingga membuat membran setengah cair fungsional pada suhu rendah. Termofilik biasanya memiliki lipid kaya asam lemak jenuh. Hal tersebut memungkinkan membran untuk tetap stabil dan fungsional pada suhu tinggi. Asam lemak jenuh membentuk lingkungan hidrofobik kuat daripada asam lemak tak jenuh, yang membantu menjelaskan stabilitas membran (Brock, 2009: 164).

Kemampuan hidup dari mikroorganisme termofilik ini berhubungan dengan struktur selnya yang memiliki kelebihan dalam beberapa hal, yaitu :

a. Struktur membran sel

Membran sel setiap makhluk hidup tersusun atas senyawa lipid dan protein yang disebut lipoprotein. Pada umumnya bagian lipid dari membran sel makhluk hidup dihubungkan oleh ikatan ester, sedangkan pada organisme termofilik senyawa lipid membran selnya mengandung ikatan eter yang terbentuk lewat proses kondensasi dari gliserol atau senyawa poliol kompleks lainnya dengan alkohol isoprenoid yang mengandung 20, 25 atau 40 atom karbon (de Rossa N., 1986: 70-80).

b. Struktur protein

Chaperonin merupakan suatu jenis protein yang merupakan jenis protein yang tidak umum dijumpai pada protein-protein fungsional lainnya di dalam sel. Protein ini berperan dalam mempertahankan kembali struktur tiga dimensi dari protein fungsional sel dari denaturasi suhu lingkungan yang bersifat ekstrim. Protein ini memiliki struktur yang tetap stabil, tahan terhadap denaturasi, dan proteolisis (Kumar and Nussinov, 2001: 216). Protein ini dapat membantu organisme termofilik mengembalikan fungsi aktifitas enzimnya bila terdenaturasi oleh suhu yang tinggi. *Chaperonin* tersusun oleh molekul yang disebut *chaperone*, yang membentuk struktur *chaperonin* seperti tumpukan kue donat pada sebuah drum. Tiap cincin donat terdiri atas 7, 8 atau 9 subunit *chaperone* tergantung jenis organisme. Aktivitasnya untuk dapat mempertahankan struktur protein fungsional agar tetap stabil, *chaperonin* membutuhkan molekul ATP (Everli and Alberto, 2000: 780).

c. Struktur DNA Gyrase

DNA gyrase merupakan salah satu anggota kelompok enzim topoisomerase yang berperan dalam mengontrol topologi DNA suatu sel dan memegang peran penting dalam proses replikasi dan transkripsi DNA. Semua jenis topoisomerase dapat merelaksasikan DNA tetapi hanya DNA gyrase yang dapat mempertahankan struktur DNA tetap berbentuk supercoil (Maxwell, 1999 dalam Dassy, 2008: 38). Enzim DNA gyrase dapat menginduksi terjadinya supercoiling positif pada molekul DNA dan mempengaruhi mekanisme perbaikan melalui pelapisan protein tertentu pada daerah yang rusak.

Organisme termofilik dan hipertermofilik menawarkan beberapa keuntungan terutama untuk proses industri dan bioteknologi, banyak yang dapat berjalan lebih cepat dan efisien pada suhu tinggi. Sebagai contoh, enzim dari termofilik dan hipertermofilik yang banyak digunakan dalam industri mikrobiologi. Enzim tersebut dapat mengkatalisis reaksi biokimia pada suhu tinggi dan biasanya atau pada umumnya lebih stabil dari pada enzim dari mesofil, sehingga memperpanjang masa simpan untuk dimurnikan pada persiapan enzim. Contoh klasik dari enzim tahan panas yang sangat penting bagi biologi adalah DNA polimerase terisolasi dari *Thermus aquaticus*. Kegunaan lain enzim tahan panas adalah produk tahan panas, yang juga dikenal atau sedang dikembangkan untuk aplikasi industri (Brock, 2009: 164-165).

4. Amilum

Amilum adalah polimer karbohidrat dengan rumus $(C_6H_{12}O_6)_n$. Karbohidrat golongan polisakarida ini banyak terdapat di alam. Terutama pada sebagian besar tumbuhan. Amilum disebut juga pati yang terdapat pada umbi, daun, batang, dan biji. Amilum merupakan kelompok terbesar karbohidrat cadangan yang dimiliki oleh tumbuhan sesudah selulosa. Butir-butir pati apabila diamati dengan mikroskop ternyata berbeda-beda bentuk dan ukurannya, tergantung dari tumbuhan apa pati tersebut diperoleh (Poedjadi, 1994 dalam Dassy, 2008: 26).

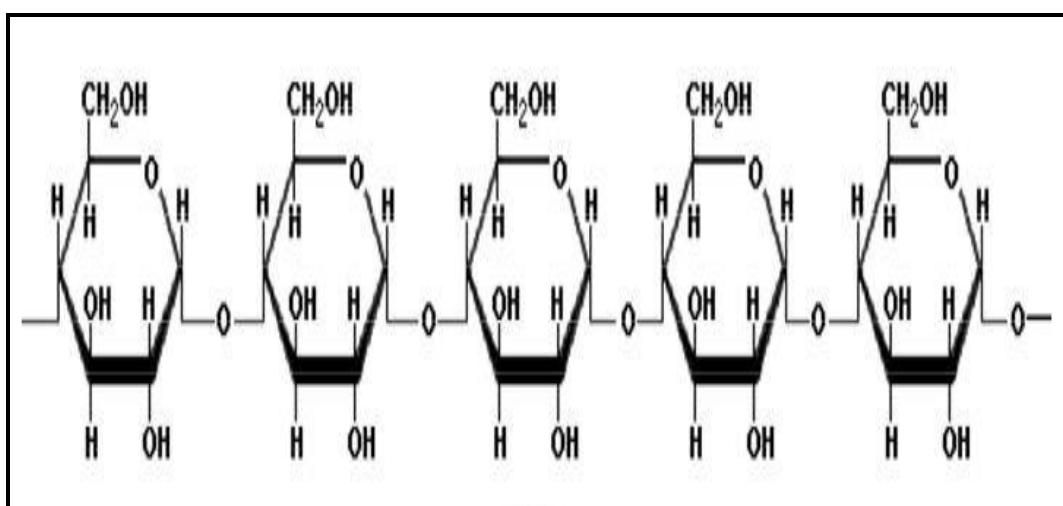
Molekul amilum terdiri dari dua jenis polimer glukosa yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan molekul linier dengan ikatan α -D-1,4 glukopiranosa sedangkan amilopektin memiliki ikatan α -D-1,4 glukopiranosa

sebagai rantai utama dan α -D-1,6 glukopiranosa sebagai ikatan percabangan (Shih and Labbe, 1995: 776).

Amilosa dan amilopektin umumnya disimpan di dalam benih, akar, dan umbi dari tanaman serta dapat membentuk 30% dari berat keseluruhan tanaman. Amilosa dipisahkan dari amilopektin dengan cara menambahkan 1-pentanol ke dalam larutan amilum dalam air. Amilosa bersifat kurang larut dibandingkan dengan amilopektin sehingga tidak dapat larut ketika alkohol ditambahkan, sedangkan amilopektin larut. Berbeda halnya ketika amilosa dilarutkan dalam air panas, maka amilosa akan larut sedangkan amilopektin tidak dapat larut.

a. Amilosa

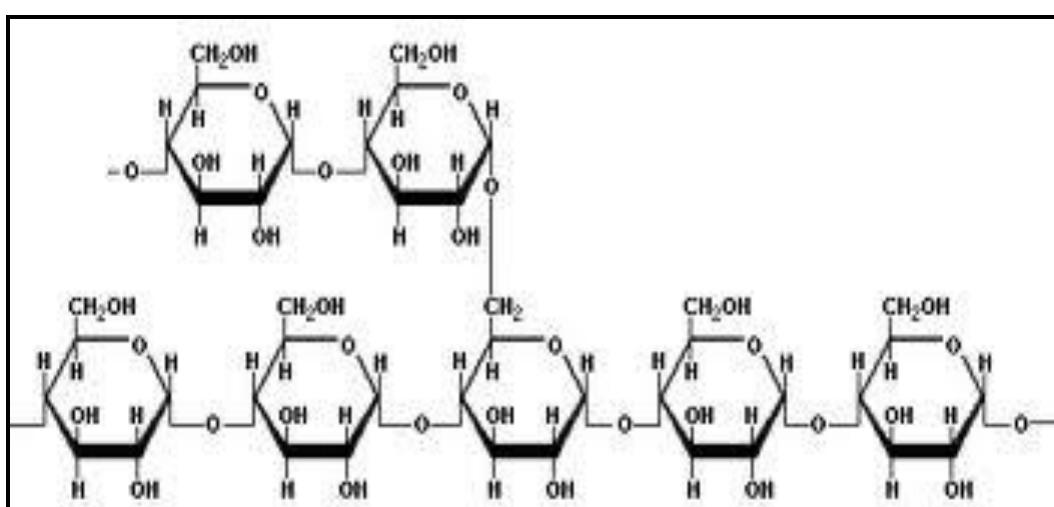
Amilosa terdiri atas rantai D-glukosa yang tidak bercabang, pada kedudukan 1,4 berhubungan secara α -glikosidik dan ter gulung bagaikan sekrup; derajat polimersisasinya 200-5000 (Schlegel, 1994: 476). Amilum yang dilarutkan dalam air membentuk misel. Amilosa dalam misel ada dalam konformasi helisal, yang dapat menangkap iodium dan memberikan warna biru yang khas.



Gambar 2. Struktur Kimia Amilosa (Fessenden, 2010: 644)

b. Amilopektin

Amilopektin berbentuk rantai cabang, dimana cabangnya dengan pita polimer yang lain terletak pada atom C-6. Setiap 20 hingga 25 satuan α -D-glukopiranosa baru terdapat percabangan. Massa molar amilopektin adalah 200.000 hingga 2.000.000 g/mol. Amilopektin mengembang dalam air, dan pada pemanasan terbentuk lem amilum; dengan iod amilopektin berwarna lembayung atau coklat (Riswiyanto, 2009).



Gambar 3. Struktur Kimia Amilopektin (Fessenden, 2010: 646)

5. Enzim

Enzim merupakan katalis seluler, hal itulah yang membuat reaksi biokimia dapat berlanjut berkali-kali lebih cepat. Selain mampu meningkatkan reaksi, enzim memiliki dua sifat lain sebagai katalis sejati. Pertama, enzim tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya. Kedua, walaupun mempercepat reaksi, enzim tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia. Dengan kata lain, enzim dapat membantu mempercepat pembentukan produk, tetapi akhirnya jumlah

produk tetap sama dengan produk yang diperoleh tanpa enzim (Madigan *et al.*, 1992: 244).

Berbagai enzim yang digunakan secara komersial berasal dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang terseleksi. Oleh karena itu, peningkatan sumber enzim sedang dilakukan yaitu dari mikroba penghasil enzim yang sudah dikenal atau penghasil enzim-enzim baru lainnya (Smith, 1990: 132-133).

Tabel 1. Sumber Mikroba dan Penggunaan Beberapa Enzim Komersial yang Penting

Enzim	Sumber mikroba	Penggunaan
Alkohol dehidrogenase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Pengujian Alkohol
α -Amilase	<i>Aspergillus oryzae, Bacillus subtilis</i>	Digunakan luas dalam dan industri makanan, tenunan pabrik
Amiloglukasidase	<i>Aspergillus niger, A. oryzae</i>	Produksi glukosa dari sirup jagung
Asparaginase	<i>A. niger, Bacillus coagulans, Penicillium camemberti</i> <i>A. niger, P. vitale,</i>	Pengobatan penyakit leukemia getah bening akut
Katalase	<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	Pemisahan hidrogen yang digunakan dalam banyak proses
Selulase	<i>Trichoderma viride</i>	Pembuatan sayur-sayuran yang didehidrasi, “drain cleaner”
Glukosa isomerase	<i>B. coagulans, Streptomyces phacockromogens</i>	Produksi fruktosa dari sirup buah-buahan dan produk lain
Invertase	<i>Saccharomyces cerevisiae, S. carlsbergensis</i>	Pembuatan cokelat lunak
Lipase	<i>A. niger, Geotrichum candidum, Rhizopus arrhizus</i>	Memperbaiki wangi dalam es krim, keju, cokelat
Pektinase	<i>A. niger, A. oryzae</i>	Klasifikasi sari buah-buahan, fermentasi buah kopri.
Penisilinasilase	<i>Escherichia coli</i>	Produksi penisilin semi-sintetis
Penisilinase	<i>Bacillus subtilis</i>	Pengobatan alergi penisilin
Protease (dari bakteri)	<i>B. subtilis</i>	Pengobatan biologis, pengempuk daging
Protease (dari kapang)	<i>A. oryzae</i>	Pelunak adonan roti
Piruvat kinase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Menghasilkan ATP untuk sintesis protein
Pululanase	<i>Aerobacter aerogenes</i>	Pembasmi rumput
Rennin	<i>Mucor sp</i>	Produksi keju

(Sumber: Smith, 1990: 134)

Pemanfaatan enzim dalam bidang industri harus memperhatikan faktor penting yang sangat mempengaruhi efisiensi dan efektivitas dari enzim yang digunakan. Faktor-faktor tersebut mempengaruhi pembentukan aktivitas kerja suatu enzim. Apabila faktor tersebut berada dalam kondisi yang optimum, maka kerja enzim juga akan maksimal. Beberapa faktor yang mempengaruhi kerja enzim diantaranya:

a. Suhu

Suhu berpengaruh besar terhadap aktivitas enzim. Semua enzim bekerja dalam rentang suhu tertentu pada tiap jenis organisme. Peningkatan suhu eksternal secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu kerusakan struktur protein enzim, terutama kerusakan pada ikatan ion dan ikatan hidrogennya. Terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalis oleh enzim tersebut. Denaturasi enzim di atas suhu optimum akan menyebabkan terjadinya kematian pada sel organisme, tetapi beberapa organisme mampu bertahan hidup dan tetap aktif pada suhu yang sangat tinggi, dimana organisme lain sudah tidak mampu lagi hidup seperti bakteri dan alga yang ditemukan pada sumber-sumber air panas di taman Nasional Yellow Stone Amerika, suhu optimum untuk hidupnya yaitu 70 °C (Brock, 2009: 164).

b. pH

Aktivitas enzim dipengaruhi juga oleh pH lingkungan tempat enzim bekerja. Banyak enzim yang sensitif terhadap perubahan pH dan setiap enzim memiliki pH optimum untuk aktivitasnya. Perubahan pH dapat menyebabkan

berhentinya aktivitas enzim akibat proses denaturasi pada struktur tiga dimensi enzim (Stuart, 2005: 115). Umumnya enzim bekerja optimum pada rentang pH 6-8, tetapi beberapa jenis organisme dapat hidup pada pH yang lebih rendah yang dikenal dengan istilah asidofil ataupun pada pH yang lebih tinggi yang dikenal dengan istilah alkalisfil. Secara umum, kelompok mikroba yang berbeda memiliki pH karakteristik. Kebanyakan bakteri dan protista adalah neutrofil. Meskipun sering mikroorganisme tumbuh dari kisaran pH yang luas dan jauh dari optimum, terdapat batas-batas toleransi pada pertumbuhannya (Prescott *et al.*, 2008: 135).

c. Konsentrasi Enzim dan Substrat

Kecepatan reaksi dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, makin besar konsentrasi enzim makin tinggi pula kecepatan reaksi, dengan kata lain konsentrasi enzim berbanding lurus dengan kecepatan reaksi. Pertambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi apabila konsentrasi enzim tetap. Kompleks enzim substrat akan terbentuk apabila ada kontak antara enzim dengan substrat. Kontak ini terjadi pada suatu tempat atau bagian enzim yang disebut bagian aktif. Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim ini hanya menampung sedikit substrat. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut. Konsentrasi kompleks enzim substrat makin besar dan hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi. Pada keadaan bertambah besarnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi kompleks enzim substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar (Wuryanti, 2004: 84).

e. Aktivator dan Inhibitor

Aktivator merupakan molekul yang mempermudah ikatan antara enzim dengan substratnya, misalnya ion klorida yang bekerja pada enzim amilase. Inhibitor merupakan suatu molekul yang menghambat ikatan enzim dengan substratnya. Inhibitor akan berikatan dengan enzim membentuk kompleks enzim-inhibitor baik pada sisi aktif enzim maupun bagian lain dari sisi aktif enzim. Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatis. Terbentuknya kompleks enzim inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim terhadap substratnya (Poedjiadi, 1994 *dalam* Wuryanti, 2004: 84).

Aktivitas enzim juga terdapat pada berbagai sumber mikroorganisme seperti bakteri dan jamur. Mikroorganisme ini menghasilkan enzim intraseluler dan enzim ekstraseluler. Enzim intraseluler merupakan enzim yang berfungsi di dalam sel yaitu mensintesis bahan selular dan juga menguraikan nutrien untuk menyediakan energi yang dibutuhkan sel. Enzim ekstraseluler merupakan enzim yang dilepas dari sel ke lingkungan untuk menghidrolisis molekul polimer di lingkungan, seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, ataupun juga untuk memfasilitasi pengambilan suatu zat dari lingkungan bagi kebutuhan metabolismenya (Maier *et al.*, 2000 *dalam* Dassy, 2008: 30). Enzim ekstraseluler dapat dipisahkan dari lingkungan dengan filtrasi ataupun sentrifugasi, sedangkan enzim intraseluler dapat diekstrak dari dalam sel lewat proses pemecahan sel (Palmer, 1985 *dalam* Dassy 2008: 30).

6. Enzim Termostabil

Setiap organisme menghasilkan banyak enzim yang sebagian besar dibuat hanya dalam jumlah kecil dan fungsi dalam sel. Pertumbuhan mikroba pada suhu tinggi dan adanya beberapa prokariota tumbuh optimal pada suhu sangat tinggi disebut hipertermofil. Mikroba yang hipertermofil dapat tumbuh pada suhu tinggi karena kemampuannya menghasilkan enzim stabil. Ekstremozime adalah istilah yang diciptakan untuk menggambarkan enzim yang berfungsi pada beberapa lingkungan ekstrim, seperti suhu tinggi atau rendah dan pH. Organisme yang menghasilkan extremozime disebut ekstremofil (Madigan *et al.*, 2009: 747-748).

Ekstremofil lebih banyak menarik perhatian karena sifatnya yang stabil pada temperatur yang lebih tinggi. Pada suhu tinggi, kelarutan berbagai komponen reaksi meningkat secara signifikan. Selain itu, risiko kontaminasi terhadap komponen-komponen yang tidak dikehendaki dapat dikurangi (Van den Burg, 2003 *dalam* Sherly, 2003: 5).

Enzim termostabil memungkinkan terjadinya proses pada suhu tinggi, yang jelas menguntungkan sebab memiliki reaktifitas, stabilitas, dan hasil yang lebih tinggi, sedangkan viskositas dan masalah kontaminasi yang lebih rendah (Moszhaev, 1993 *dalam* Jusuf, 2009: 24). Isolasi enzim termostabil dari organisme termofilik memiliki sejumlah keuntungan secara komersial karena kestabilitasannya. Keuntungan bioproses yang berlangsung pada suhu tinggi adalah kecepatan difusi yang lebih tinggi, menurunkan viskositas substrat, kecepatan reaksi lebih tinggi, meningkatkan kelarutan reaktan, dan mengurangi

risiko terjadinya kontaminasi dengan mikroba patogen (Milo *et al.*, 1999 *dalam* Jusuf, 2009: 25).

7. Enzim Amilase

Enzim adalah molekul biopolimer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim memegang peranan penting dalam berbagai reaksi di dalam sel. Sebagai protein, enzim diproduksi dan digunakan oleh sel hidup untuk mengkatalisis reaksi, antara lain konversi energi dan metabolisme pertahanan sel. Amilase adalah kelompok enzim yang memiliki kemampuan memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada senyawa polimer karbohidrat. Hasil molekul amilum ini akan menjadi monomer-monomer yang lebih sederhana, seperti maltosa, dekstrin dan terutama molekul glukosa sebagai unit terkecil. Amilase dihasilkan oleh berbagai jenis organisme hidup, mulai dari tumbuhan, hewan, manusia bahkan pada mikroorganisme seperti bakteri dan fungi. Kelompok enzim ini memiliki banyak variasi dalam aktivitasnya, sangat spesifik, tergantung pada sumber organismenya dan tempatnya bekerja (Dessy, 2008: 30). Enzim amilase dikelompokkan menjadi tiga golongan enzim, yaitu:

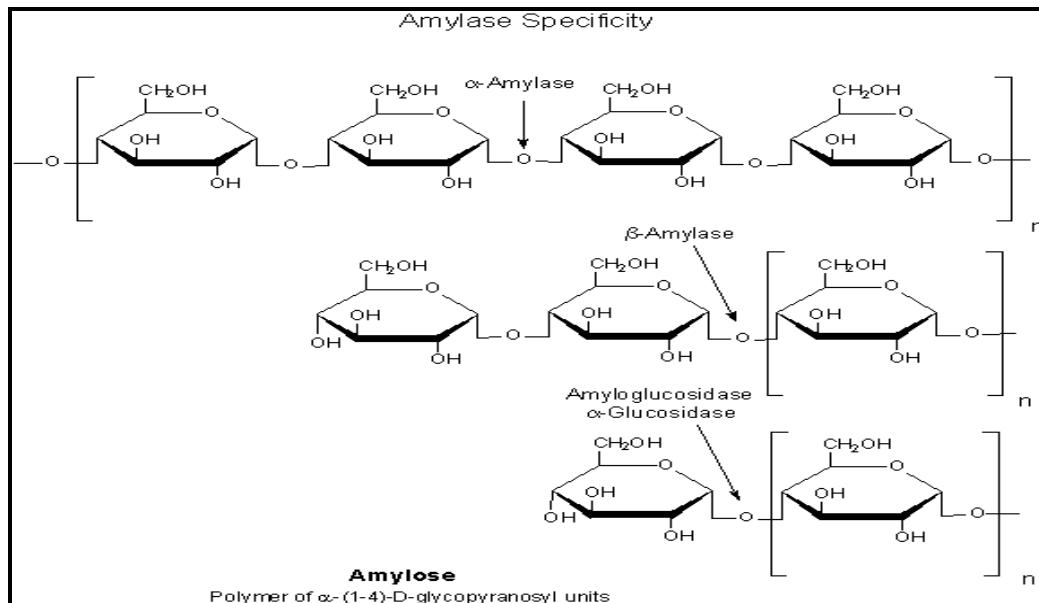
a. Alfa amilase (α -amilase)

Enzim α -amilase (α -1,4 glukan-4-glukan hidrolase) terdapat pada tanaman, jaringan mamalia, dan mikroba. α -amilase murni dapat diperoleh dari berbagai sumber, misalnya dari malt (barley), ludah manusia, pankreas serta dapat juga diisolasi dari *Aspergillus oryzae* dan *Bacillus subtilis*. Isolasi dan pemurnian enzim dilakukan berdasar fraksinasi dengan garam, juga dengan penggunaan

panas selektif (biasanya 70 °C, selama 15 menit). Aktivitas α -amilase ditentukan dengan mengukur hasil degradasi pati yang biasanya dari penurunan kadar pati yang larut atau dari kadar dekstrinnya dengan menggunakan substrat jenuh (Winarno, 1984: 57-58).

α -amilase mampu menghidrolisis pati dan glikogen melalui pemotongan internal ikatan α -1,4-glikosida secara acak, menghasilkan oligosakarida seperti maltosa, glukosa, dan α -dekstrin. Enzim α -amilase merupakan enzim yang penting dan dimanfaatkan secara luas dalam dunia industri seperti industri pangan, fermentasi, tekstil, kertas, obat-obatan, dan gula (Gupta *et al.*, 2003: 2).

Pemanfaatan enzim ini pada skala industri lebih dititikberatkan pada peningkatan produksi dan efisiensi prosesnya. α -amilase termostabil dipandang lebih penting dalam aplikasinya dibidang industri dibandingkan jenis α -amilase yang tidak tahan suhu tinggi. Termostabilitas α -amilase biasanya disesuaikan dengan pemanfaatannya, sebagai contoh α -amilase termolabil dapat digunakan pada proses sakarifikasi pati, sedangkan α -amilase termostabil lebih sesuai digunakan dalam likuifikasi pati (Richardson *et al.*, 2002: 277). Berbagai mikroba yang mampu menghasilkan α -amilase berhasil diisolasi dan dimurnikan, seperti *B. stearothermophilus*, *Streptococcus bovis* JB1 dan *Lactobacillus plantarum* (Giraud *et al.*, 1994 dalam Puji *et al.*, 2010: 57).



Gambar 4. Struktur Kimia α -amilase, β -amilase dan glukoamilase (Sumber: www.sigmaaldrich.com)

b. Beta amilase (β -amilase)

β -amilase (β -1,4 glukan maltohidrolase) terdapat pada berbagai hasil tanaman, tetapi tidak terdapat pada mamalia, dan mikroba. Secara murni telah dapat diisolasi dari kecambah barley, ubi jalar, dan kacang kedelai. Enzim β -amilase memecah ikatan glukosida β -1,4 pada pati dan glikogen dengan membalik konfigurasi karbon anomeri glukosa dari α menjadi β . Enzim β -amilase aktif pada pH 5,0-6,0 (Winarno, 1984: 59).

Sejumlah mikroorganisme juga menghasilkan amilase untuk mendegradasi pati ekstraseluler. Pada jaringan hewan tidak memiliki β -amilase, kecuali apabila mikroorganisme terdapat dalam saluran pencernaanya.

c. Gamma amilase (γ -amilase)

Gamma amilase mempunyai nama lain, yaitu glukan 1,4- α -glukosidase, 1,4- α -D-glukan glukohidrolase, exo-1,4- α -glukosidase, glukoamilase, amiloglukosidase, lisosomal α -glukosidase. Pemutusan ikatan akhir α (1-4)

glikosida pada ujung non reduksi dari amilosa dan amilopektin, untuk menghasilkan unit glukosa, γ -amilase sangat efisien pada lingkungan yang bersifat asam dan bekerja pada pH optimum 3.

Terdapat 3 macam subunit enzim amilase untuk memecah amilum (Sardjoko, 1994: 166), yaitu:

a. Endoamilase

Endoamilase adalah α -amilase yang memecahkan ikatan α -1,4-glikosida pada amilosa dan amilopektin untuk menghasilkan oligosakarida dengan panjang rantai yang bermacam-macam dan konfigurasi α pada unit pereduksi glukosa C₁. α -Amilase yang termostabil digunakan pada cairan yang bersuhu tinggi. Enzim dari *Bacillus amyloliquefaciens* mempunyai suhu optimum 70 °C, dibandingkan dengan 92 °C untuk enzim yang diisolasi dari *Bacillus licheniformis*.

b. Eksoamilase

Eksoamilase memecah ikatan α -1,4-glikosida. Eksoamilase glukogenik juga mampu menghidrolisis ikatan α -1,6-glukosida pada oligosakarida yang bercabang, sedang eksoamilase maltogenik (misalnya β -amilase padi-padian) tidak mampu melewati titik-titik percabangan. Pengambilan produk molekul rendah, berturut-turut seperti misalnya glukosa dan maltose dari ujung polimer pati yang tidak dapat direduksi menyebabkan secara perlahan-lahan turunnya viskositas dan produk yang demikian itu memiliki konfigurasi- β pada C₁ glukosa tereduksi.

c. Enzim penghilang cabang

Glukoamilase merupakan enzim yang memiliki kekhususan yang rendah, menghidrolisis ikatan α -1,3 dan α -1,6 pada laju lebih rendah daripada α -1,4. Enzim ini mampu mengadakan polimerisasi glukosa menjadi maltosa dan isomaltosa, tetapi proses pembentukan gula tidak pernah mencapai keseimbangan, dengan demikian reaksi ini tidak tampak nyata. Pengaruh enzim glukoamilase menyebabkan posisi α dapat diubah menjadi β , pH optimal 4-5, dan suhu optimal 50-60 °C (Winarno, 1984: 59). Enzim ini secara industri dipakai pada produksi sirup jagung dan glukosa (Smith, 1997: 457).

8. Enzim Amilase dari Mikroorganisme Termofilik

Amilase merupakan enzim yang paling penting dan keberadaanya paling besar pada bidang bioteknologi, enzim ini diperjualbelikan sebanyak 25% dari total enzim yang lainnya. Amilase didapatkan dari berbagai macam sumber, seperti tanaman, hewan, dan mikroorganisme. Amilase yang berasal dari mikroorganisme banyak digunakan dalam industri, hal ini dikarenakan dapat menekan biaya produksi, mengurangi risiko terjadinya kontaminasi, meningkatkan difusi masa, meningkatkan produktivitas, dan mempengaruhi daya larut saat pencampuran senyawa organik (Igarashi, *et al.*, 1998: 3282). Amilase pertama kali diproduksi adalah amilase yang berasal dari fungi pada tahun 1894 (Jusuf, 2009: 27). Enzim amilase dari bakteri mempunyai keunggulan dibanding enzim amilase dari tumbuhan, yaitu kestabilannya pada suhu yang tinggi, dan mudah untuk diproduksi dalam jumlah yang banyak (Siti Nur Jannah, 1995: 12).

Enzim amilase yang dihasilkan oleh mikroba tertentu dari bakteri merupakan jenis enzim ekstraseluler. Bakteri menghasilkan enzim amilase di dalam sel dan menggunakannya di luar sel, yaitu untuk menghidrolisis nutrisi yang mengandung amilum di lingkungannya. Ukuran molekul amilum yang sangat besar menyebabkan tidak dapat masuk ke dalam sel bakteri, karena hal itulah molekul amilum dihidrolisis terlebih dahulu oleh enzim amilase ekstraseluler menjadi molekul karbohidrat sederhana dengan ukuran molekul kecil yang selanjutnya digunakan sebagai sumber karbon bagi aktivitas pertumbuhan dan kehidupannya (Benson, 1994 *dalam* Dassy, 2008: 40). Enzim amilase ekstraseluler dapat diperoleh dari mikroba yang memproduksinya dengan sentrifugasi untuk mendapatkan supernatan yang mengandung enzim amilase ekstraselluler (Palmer, 1985 *dalam* Dassy, 2008: 40).

Enzim yang berasal dari mikroorganisme termofilik mempunyai nilai komersial yang cukup tinggi dalam bidang industri karena daya termostabilitasnya yang tinggi, stabil terhadap zat-zat yang bersifat mendenaturasi enzim seperti detergen dan senyawa organik lainnya, stabil dalam kondisi lingkungan yang asam maupun alkalis, sangat cocok untuk proses fermentasi dibidang industri. Konsep mengenai termostabilitas yang dimiliki oleh enzim yang berasal dari mikroorganisme termofil didasarkan pada struktur molekular pada selnya yang tersusun dari molekul protein termostabil dan asosiasi senyawa protein enzim dengan molekul lainnya seperti lipid, polisakarida, maupun protein lainnya yang menyebabkan terbentuknya suatu senyawa yang mempunyai mekanisme yang

memungkinkan tetap stabilnya ketika menghadapi kondisi yang dapat menginaktivasiannya (Hibino *et al.*, 1974: 555-556).

Amilase termostabil digunakan dalam skala yang cukup luas dalam proses industri. Enzim amilase yang digunakan tersebut berkisar pada α -amilase, β -amilase, glukoamilase, pululanase dan jenis lainnya (Illanes, 1999: 2). Kesemua jenis enzim amilase dari mikroorganisme termofilik mempunyai nilai aplikasi komersial paling tinggi dalam bidang industri makanan, minuman, pembuatan sirup yang mengandung glukosa, maltosa maupun oligosakarida.

Berbagai mikroba yang mampu menghasilkan α -amilase berhasil diisolasi dan dimurnikan, seperti *B. stearothermophilus* (Srivastava, 1984: 182), *Streptococcus bovis* JB1 dan *Lactobacillus plantarum* (Giraud *et al.*, 1994). Pemurnian dan karakterisasi α -amilase dari beberapa mikroba jenis *Bacillus* sp. (Mamo dan Gessesse, 1999 *dalam* Puji *et al.*, 2010: 57) ataupun *B. subtilis* (Das *et al.*, 2004) juga telah dilakukan.

Penelitian terhadap mikroorganisme termofilik penghasil enzim amilase termostabil pada akhir-akhir ini telah diarahkan bukan hanya yang bersifat termofil tetapi juga hipertermofil (mampu hidup di atas suhu 80 °C) seperti amilase yang diketahui terdapat pada *Pyrococcus furiosus*, *Pyrococcus woesei* yang memiliki aktifitas sampai suhu 130 °C (Carolina, 1999: 293). Pada umumnya mikroorganisme termofil ditemukan di sumber-sumber air panas, daerah aktif gunung berapi dan di dasar laut yang mempunyai sumber mata air panas.

9. Erupsi Gunung Merapi Tahun 2010

Gunung Merapi (\pm 2911 m dpl) merupakan bagian dari *Ring of Fire* yang terletak di sisi selatan kepulauan Nusantara (Pulau Jawa). Terletak di tengah-tengah empat wilayah geografis dua provinsi yang berbeda, meliputi Kabupaten Sleman di bagian selatan, Kabupaten Magelang yang melingkari di bagian utara ke barat, Kabupaten Boyolali yang melingkari di bagian utara ke timur sebagian, dan Kabupaten Klaten yang tepat di sebelah timur (Agung & Rio, 2011: 3).

Catatan aktivitas vulkanik menunjukkan bahwa Merapi adalah gunung paling aktif di Indonesia. Erupsi besar terjadi menjelang akhir Oktober 2010 yang lalu akibat dari letusan yang tidak hanya efusif tetapi juga sedikit eksplosif. Peristiwa letusan tersebut memberi dampak sangat signifikan bagi kondisi lingkungan sekitar Gunung Merapi. Perubahan ekstrim berupa rusak atau bahkan hilangnya vegetasi berakibat terjadinya ketidakseimbangan ekosistem. Ketiadaan vegetasi tentu menghilangkan fungsi ekologi produksi gas oksigen bagi wilayah hilir Gunung Merapi dan ini tentu memberi dampak bagi kehidupan yang ada di sana. Pasca erupsi, secara alamiah hutan di lereng selatan Merapi yang mengalami kerusakan akan kembali menuju ke kesetimbangan ekosistem yang baru melalui proses suksesi. Fakta suksesi ini sebelumnya telah ditemukan pasca erupsi tahun 2006 (Rio, 2008: 6). Proses suksesi yang terjadi di Merapi termasuk dalam kategori suksesi primer, akibat dari tidak tersisanya vegetasi di area yang terkena langsung dampak semburan produk vulkaniknya. Kecepatan suksesi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti luasan daerah komunitas awal yang rusak, spesies

tumbuhan yang muncul atau terdapat di lingkungan sekitar area tersuksesi, jenis substrat baru yang terbentuk dan kondisi iklim.

B. Kerangka Berfikir

Kini dan ke depan pemanfaatan enzim banyak diaplikasikan secara luas terutama dalam proses industri komersial, tetapi sebagian besar kebutuhan enzim masih dipenuhi dengan jalan impor. Oleh karena itu perlu dilakukan pencarian sumber enzim sehingga kebutuhan enzim dalam negeri dapat terpenuhi. Salah satu sumber enzim adalah Sungai Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010.

Pasca erupsi Merapi 2010 menciptakan suatu kondisi thermal di sekitar Sungai Gendol Atas yang berpotensi untuk ditemukannya bakteri termofilik. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim yang stabil terhadap panas dan bahkan enzim yang dihasilkannya mampu mengkatalis reaksi kimia dengan cepat pada suhu tinggi. Enzim termostabil sangat penting dalam proses industri. Salah satu enzim yang dihasilkan oleh bakteri termofilik yang bersifat stabil terhadap panas adalah enzim amilase.

Enzim amilase yang bersifat termostabil sangat dibutuhkan oleh industri pertanian, makanan, detergent hingga farmakologi. Studi mengenai enzim amilase yang berasal dari bakteri termofilik banyak menarik minat para peneliti karena pemanfaatannya yang sangat penting dalam berbagai bidang industri.

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi dan menguji aktivitas enzim amilase dari dua isolat bakteri termofilik amilolitik terpilih suhu inkubasi 70 °C dari sampel air dan pasir Sungai Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tujuh isolat

bakteri termofilik amilolitik untuk mengisolasi dan menguji aktivitas enzim amilase yang dihasilkan pada variasi suhu inkubasi dan pH berbeda.

Tahap isolasi enzim amilase dilakukan untuk memperoleh isolat enzim amilase dari isolat bakteri termofilik amilolitik pasca erupsi Merapi 2010. Isolat enzim amilase selanjutnya digunakan untuk mengetahui aktivitas enzim amilase tertinggi pada suhu inkubasi dan pH berbeda.

C. Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan serta tinjauan pustaka yang telah diuraikan maka dapat dirumuskan hipotesis yaitu:

1. Tujuh isolat bakteri termofilik Sungai Gendol pasca erupsi Merapi 2010 ada yang mempunyai potensi menghasilkan enzim amilase yang ditandai dengan indeks amilolitik yang berbeda.
2. Isolat bakteri termofilik Sungai Gendol pasca erupsi Merapi berasal dari genus yang berbeda.
3. Pada tingkat suhu dan pH yang berbeda maka aktivitas enzim amilase akan menunjukkan hasil yang berbeda pula, dikarenakan aktivitas enzim amilase yang dipengaruhi oleh suhu dan pH.
4. Enzim amilase yang diisolasi dari isolat bakteri termofilik Sungai Gendol Atas pasca erupsi Merapi memiliki suhu optimum pada kisaran 60-80 °C dan pH optimum pada kisaran 5-9 untuk aktivitasnya supaya memperoleh hasil optimal.