

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sumber air panas (SAP) tersebar luas di Indonesia, karena negara ini memiliki lebih dari 70 gunung berapi aktif dan sejumlah besar daerah panas bumi. Taman Nasional Kerinci Seblat (TNKS) yang terletak di kaki Gunung Kerinci Kecamatan Air Hangat, Kota Sungai Penuh, Provinsi Jambi, Indonesia, memiliki empat aliran air panas dari sumber yang berbeda satu sama lain, yaitu; dari Semurup, Sungai Medang, Sungai Abu (SA) dan Sungai Tutung (ST). Pada dua aliran SAP Semurup dan Sungai Medang telah dilakukan pengamatan oleh beberapa peneliti, sedangkan pada dua SAP SA dan ST, belum tersentuh sama sekali oleh peneliti. Dari hasil survey di lapangan menunjukkan kedua SAP SA dan ST ini memiliki keunikan, antara lain suhu airnya tinggi, bersifat basa dan terdapat beberapa jenis mineral. SAP bersifat basa ini sangat langka dijumpai, baik di Indonesia maupun di dunia. SAP bersifat basa kandungan mineralnya lebih tinggi, sehingga ada kemungkinan diversity mikrobanya lebih beragam dibandingkan yang bersifat asam (Pandey et al., 2014; Valverde et al., 2012). Eksplorasi bakteri termofilik dari SAP sangat perlu dilakukan, karena bakteri ini memiliki komponen molekul biokimia yang stabil, sehingga dapat mengungkap potensi termofil berbeda dalam aplikasi bioteknologi (Genc et al., 2015; Baltaci et al., 2017).

Kondisi hidrotermal dari SAP ini mengandung diversity bakteri termofilik berlimpah, namun sampai saat ini masih sedikit dilakukan isolasi, dan karakterisasi terhadap komunitas-komunitas termofiliknya. Berdasarkan kondisi suhu, pH, kandungan mineral dan komponen tumbuhan yang terdapat dikawasan kedua lokasi SAP SA dan ST, maka sangat mungkin digunakan untuk mengeksplorasi sumber bakteri penghasil protease serin alkali (PSA), dari genus yang paling populer, yaitu *Bacillus* spp. termofilik obligat. Genus ini biasanya hidup pada kisaran suhu 55 - 90⁰ C dan pH 7,5 - 12 (Adhikari et al., 2015; Agustien et al., 2015; Canganella dan Wiegel, 2014; Ebrahimpour dan Kariminik, 2015; Selim et al., 2014; Yilmaz et al., 2016).

Turki memiliki 133 SAP yang suhunya lebih dari 40⁰ C. Perhatian peneliti disini sangat luar biasa terhadap mikroba termofilik asal SAP (Yanmis et al., 2015). Baltaci et al. (2017) telah berhasil mengisolasi sebanyak 19 strain bakteri termofilik dari berbagai SAP di Turki, yang memiliki pH 5 - 9 dan suhu 50 -65⁰ C. SAP Tatopani Bhurug di Nepal yang bersifat alkali dengan suhu 60⁰ C memiliki 15 isolat bakteri termofilik (Adhikari et al., 2015). Dua aliran SAP yang bersifat basa di Kerinci Jambi, terisolasi bakteri termofilik, masing-masing di Sungai Medang; 39 isolat (Wahyuna et al., 2012), 48 isolat (Syafriyani et al., 2012) dan 28 isolat (Sari et al., 2012), dan dari Semurup 31 isolat (Hastuti et al., 2012).

SAP yang bersifat asam dari 6 lokasi di Sumatera Barat, ditemukan 7 jenis *Bacillus* termofilik berbeda dengan rata-rata 5.29 x 10² sel/mL, (Agustien, 2010), dari dua lokasi SAP di Jawa Barat, yaitu; dari Domas (suhu 82 – 90⁰C, pH 2) memiliki 4 isolat, dan dari Cimanggu (suhu 70⁰ C, pH 7) ada 12 isolat (Gilian, et al., 2001). Pada SAP di Tarabalo Odisha India terdapat 22 isolat bakteri termofilik (Panda et al., 2013).

Bacillus spp. termofilik tersebar luas pada habitat ekstrem, bersuhu tinggi, seperti pada SAP, kawah gunung berapi, geotermal, lumpur panas, bekas tambang, pengomposan, danau dan laut dalam, yang mempunyai suhu 60 - 80⁰ C, dan optimal pada 70⁰ C (Canganella dan Wiegel, 2014 ; Dalfard et al, 2015; Yilmaz et al., 2016). *Bacillus* spp. termofilik merupakan bakteri sumber penghasil protease termostabil. *Bacillus* spp. termofilik menjadi perhatian utama dalam bioteknologi, karena bakteri ini relatif mudah untuk diisolasi dari berbagai macam lingkungan, dan mampu untuk tumbuh dalam media sintetik (Adhikari et al., 2015; Madhuri et al., 2012; Sing dan Bajaj, 2018). Berbagai penelitian melaporkan banyak genus *Bacillus* penghasil protease yang umum digunakan dalam proses industri, antara lain; *B. amyloliquefaciens*, *B. alcalophilus*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. clausii*, *B. lentus*, *B. halodurans*, *B. licheniformis*, *B. stearothermophilus* dan *B. subtilis* (Jain, et al., 2012 ; Jaouardi, et al., 2009 ; Sarmiento, 2015).

Protease merupakan enzim yang paling penting, karena 60% produksi industri enzim di seluruh dunia adalah protease, dan 25% di antaranya bersifat termostabil (Dewan, 2011 dan Maurya, 2015; Yilmaz et al., 2016). Enzim protease serin alkali (PSA) yang berasal dari bakteri bentuk basil, menjadi perhatian utama, dan banyak

digunakan dalam berbagai bidang bioteknologi, terutama dalam industri deterjen, industri kulit, farmasi dan pengolahan makanan. Nilai penjualan protease dari mikroba di dunia mencapai 35 - 40 % (Bhunia et al., 2012).

Berbagai spesies *Bacillus* memiliki perberbedaan kemampuannya dalam melakukan fermentasi, pada kondisi pH asam, netral, dan basa. Sifat termofilik dari genus ini, mempunyai indikasi untuk dikembangkan dalam menghasilkan enzim yang stabil pada suhu tinggi (Adhikari et al., 2015; Ghareib et al., 2014; Yilmaz et al., 2016). Penggunaan *Bacillus* spp. termofilik yang tahan terhadap suhu tinggi, memiliki beberapa kelebihan antara lain; dapat diisolasi dari lingkungan termal dengan laju pertumbuhan sel yang tinggi, resiko kontaminasi dapat diminimalisasi, pemisahan senyawa volatil lebih mudah, viskositas larutan fermentasi lebih rendah, laju reaksi lebih cepat, proses kerjanya lebih efisien mengkatalisis reaksi tanpa produk samping, dan ramah lingkungan (Sinha dan Khare, 2013; Saggi dan Mishra, 2017).

Enzim PSA dari *Bacillus* spp. termofilik obligat, sangat penting dalam beberapa industri, karena aktivitas dan stabilitasnya stabil pada suhu tinggi dan pH alkali. Enzim PSA pada deterjen, berfungsi untuk meningkatkan kinerja dalam menghidrolisis bahan-bahan berupa protein pada proses pencucian, dan memiliki kestabilan pada suhu termal, karena itu bertahan dalam proses pencucian pada suhu tinggi (Niyonzima dan Sunil, 2015; Sakpal dan Narayan, 2015).

Khusus untuk industri deterjen ini diperlukan genus *Bacillus* yang bersifat termofilik obligat, yaitu yang mampu tumbuh optimal pada suhu di atas 60⁰ C dan di bawah 80⁰ C, maksimum pada kisaran suhu 65 - 70⁰ C, dan tidak dapat hidup di bawah suhu 40 - 42⁰ C. *Bacillus* termofilik obligat ini, tidak dapat bertahan pada suhu kamar lebih dari tujuh hari, dan kebanyakan penghuni air panas bertahan hidup pada suhu di atas 70⁰ C. Berdasarkan suhu optimalnya, mikroba termofil dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu; termofil dengan suhu optimal antara 50 - 64⁰ C, maksimum pada 70⁰ C, ekstremofil dengan suhu optimal antara 65 - 80⁰ C, dan hipertermofil dengan suhu optimal di atas 80⁰ C, maksimum di atas 90⁰ C. (Adhikari et al., 2015; Agustien et al., 2015 dan Panda et al., 2013; Vajna et al., 2012).

Enzim PSA dari *Bacillus* spp. termofilik sebagai aditif deterjen, banyak digunakan di negara maju dengan merek dagang yang terkenal adalah substilisin,

Novozymes, dari *B. amyloliquefaciens*. Subtilisin Carlsberg dari *B. licheniformis* penggunaannya dalam deterjen padat dan cair, namun di Indonesia belum ditemukan (Dewan, 2011; Ghareib et al., 2014; Ha et al., 2013; dan Maurya, 2015).

Kebutuhan industri terhadap enzim protease ini selalu meningkat, terutama protease alkali dari spesies mikroba, dengan nilai penjualan sepanjang tahun 2013-2014, menempati dua pertiga dari pasar enzim di dunia. Pada tahun 2014 penggunaan protease alkali dari *Bacillus* spp. termofilik mencapai 75 % dengan nilai perdagangan dunia melebihi USD 3,5 miliar/tahun, 4 - 5 juta USD berasal dari pasar Indonesia, dan setiap tahunnya meningkat 5 - 8 % (Dewan, 2011; Maurya, 2015). Selanjutnya menurut laporan Business Company Research (BCC Jan, 2017), pasar dunia untuk enzim industri sekitar 4,9 milyar USD pada tahun 2015 dan seharusnya mencapai sekitar 6,3 milyar USD pada tahun 2021 (Dewan, 2017).

Kebutuhan enzim di Indonesia diperoleh dari impor, dan ketergantungan terhadap impor enzim berlangsung sampai sekarang. Strategi untuk mengurangi impor enzim, adalah dengan meningkatkan produksi enzim dari mikroba. Eksplorasi dari sumber bakteri yang beranekaragam dari kawasan alam Indonesia, dari sumber-sumber mata air panas yang memiliki keanekaragaman mikroba yang berlimpah (Dalfard et al., 2015; Dewan, 2011; Maurya, 2015; Yilmaz et al., 2016). Menurut laporan Adhikari et al. (2015) hampir 99% bakteri termofilik berada pada lingkungan yang belum dijelajahi, atau diabaikan kulturnya di laboratorium, karena tidak jelas fungsinya, sehingga tidak dieksploitasi untuk bioteknologi aplikasi.

Sampai saat ini penggunaan deterjen oleh masyarakat di Indonesia, keseluruhannya masih memakai deterjen murni tanpa enzim, sehingga proses deterjenisasi belum sempurna, (Agustien, 2015; Soeka dan Sulistiani, 2014). Proses deterjen ini lebih optimal jika menggunakan zat aditif enzim PSA, karena selain dapat mengurangi volume penggunaan deterjen, juga dapat memberi impact yang baik terhadap lingkungan hidup (Singhal et al., 2012; Infante et al., 2010 Yilmaz et al., 2016).

Strategi untuk memperoleh *Bacillus* spp. termofilik obligat yang menghasilkan enzim PSA termostabil dengan aktivitas tinggi, dan memenuhi potensi dalam aplikasinya, jika berasal dari sumber daya alam, ini dapat dilakukan dengan pengisolasian bakteri dari lingkungan termal, seperti dari SAP SA dan ST, Kerinci,

Jambi, kemudian melakukan skrining bakteri penghasil enzim PSA, dengan menggunakan medium selektif “*Thermophilus Bacillus*” , dan memproduksi enzim dari isolat yang diperoleh, kemudian melanjutkan pengujian aktivitas spesifik dan stabilitasnya terhadap suhu tinggi dan pH alkali, diakhiri dengan optimisasi dan karakterisasi bakteri yang potensial (Yilmaz et al., 2016 ; Saggu dan Mishra, 2017).

Identifikasi jenis bakteri dapat dilakukan secara konvensional (biokimiawi), dan secara modern (molekular). Teknologi molekular dengan metoda 16S rRNA sangat tepat dan akurat untuk mengidentifikasi jenis bakteri yang dikulturkan sampai tingkat spesies, selain itu juga dapat menentukan karakteristik, fenotipik, genotipik dan klasifikasi berbagai jenis bakteri (Adhikari et al. 2015 ; Narayan et al., 2008 ; Rai et al., 2010 ; Padmapriya et al., 2012 ; Baltaci et al., 2017).

Isolasi dan skrining *Bacillus* spp termofilik obligat penghasil enzim PSA pada SAP, sangat diperlukan untuk menemukan strain baru *Bacillus* spp termofilik obligat, yang potensial penghasil enzim PSA dengan karakter yang sesuai (Ebrahimpour dan Kariminik, 2015; Ha et al., 2013 ; Selim et al., 2014).

Bertitik tolak dari permasalahan yang telah diuraikan di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang “Keanekaragaman *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya pada SAP SA dan ST Kerinci Jambi, untuk menghasilkan enzim PSA yang berpotensi sebagai aditif deterjen”. Pengembangan metode baru dalam mengeksplorasi keanekaragaman hayati dari lingkungan ekstrem, berguna sebagai sarana untuk penemuan enzim termostabil yang spesifik dari SAP yang belum ditemukan.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah;

- 1) Bagaimanakah keanekaragaman bakteri *Bacillus* spp. termofilik obligat dan kerabatnya pada SAP SA dan ST Kerinci Jambi sebagai penghasil enzim PSA.
- 2) Bagaimanakah kondisi lingkungan ekstrinsik yang dapat meningkatkan produktivitas *Bacillus* spp. termofilik obligat dalam menghasilkan enzim PSA.
- 3) Bagaimanakah karakteristik enzim PSA dari *Bacillus* spp. termofilik obligat dan kerabatnya yang berasal dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi.
- 4) Apakah enzim PSA dari *Bacillus* spp. termofilik obligat dan kerabatnya yang berasal dari SAP SA dan ST dapat digunakan sebagai aditif detergen.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk;

- 1) Menganalisis keanekaragaman *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi sebagai penghasil enzim PSA.
- 2) Mengoptimalkan kondisi lingkungan ekstrinsik untuk peningkatan produksi enzim PSA dari *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya yang berasal dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi.
- 3) Mendapatkan karakter enzim PSA dari *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya yang berasal dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi.
- 4) Mengaplikasikan enzim PSA yang berasal dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi sebagai bahan aditif deterjen.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian adalah;

- 1) Dapat ditemukan beberapa jenis *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi untuk menghasilkan enzim PSA.
- 2) Enzim PSA hasil isolasi berpotensi untuk digunakan sebagai aditif deterjen.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah;

- 1) Memberikan informasi bahwa di dalam SAP SA dan ST Kerinci Jambi, dapat diperoleh beranekaragaman *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya.
- 2) *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya dapat menghasilkan enzim PSA, enzim PSA berpotensi untuk aditif deterjen.

1.6. Kebaruan Penelitian

Ditemukan strain baru *Bacillus* termofilik obligat dan kerabatnya dari SAP SA dan ST Kerinci Jambi, untuk menghasilkan enzim PSA yang berpotensi sebagai aditif pada deterjen.