

# **I. PENDAHULUAN**

## **1.1. Latar Belakang**

*Pacific Ring of Fire* atau Cincin Api Pasifik merupakan zona seismik aktif yang mengelilingi Samudra Pasifik dan dikenal sebagai kawasan dengan frekuensi gempa bumi dan aktivitas vulkanik yang sangat tinggi (Sudarsana *et al.*, 2013). Zona ini membentang melewati sekitar 15 negara, termasuk Indonesia sehingga wilayah Indonesia memiliki banyak gunung api aktif (Masum dan Ali, 2019). Kondisi geografis tersebut mengakibatkan berbagai wilayah di Indonesia memiliki kawasan geotermal termasuk lingkungan ekstrem. Lingkungan ekstrem merupakan habitat yang ditandai dengan kondisi lingkungan yang berada di luar kisaran normal (Gomez, 2023). Gunung lumpur (*mud volcano*) merupakan salah satu bentuk lingkungan ekstrem yang terbentuk akibat adanya aktivitas geotermal dan tektonik.

Gunung lumpur memuntahkan material berupa lempung, gas, batuan dan cairan yang terdorong keluar oleh tekanan tinggi dari dalam bumi sehingga permukaannya membentuk kerucut menyerupai gunung berapi (Istiadi *et al.*, 2012). Metana dan karbon dioksida merupakan gas utama yang mendominasi sebagian besar gunung lumpur (Hsu *et al.*, 2021). Gunung lumpur aktif dapat ditemukan di Pulau Jawa salah satunya yaitu Bledug Kesongo yang terletak di Desa Gabusan, Kecamatan Jati, Kabupaten Blora, Jawa Tengah (Burhannudinnur, 2019).

Bledug Kesongo merupakan gunung lumpur aktif yang berada di dataran bergelombang dengan puncak berupa kubah yang hampir seluruh areanya tertutup oleh lumpur yang mengeras sehingga terlihat berwarna abu keputihan, sementara rerumputan tumbuh di sekitar area puncaknya. Bledug Kesongo mengeluarkan semburan gas secara periodik dan diketahui mengandung konsentrasi natrium yang tinggi (Novian *et al.*, 2013). Rerumputan yang sering dijumpai di area Bledug Kesongo yaitu *Typha angustifolia* L. dan *Juncus inflexus* L. (Sitinjak & Harbowo, 2024). Tumbuhan tersebut mengandung amilum, sehingga lingkungan ini berpotensi menjadi habitat bagi bakteri penghasil amilase (Saribu *et al.*, 2019). Bakteri amilolitik yang diisolasi dari habitat kaya amilum umumnya memiliki potensi besar dalam menghasilkan amilase yang berkualitas tinggi (Irsyadah dan Slamet, 2024).

Lumpur vulkanik yang berasal dari reservoir bawah tanah terbentuk akibat tekanan dalam bumi yang dipanaskan secara geotermal sehingga hanya mikroorganisme dengan adaptasi khusus yang mampu bertahan hidup dalam suhu tinggi (termofil) dan salinitas tinggi (halofil). Mikroorganisme yang ditemukan di lingkungan ini sebagian besar merupakan organotrof aerobik seperti *Halomonas*, *Marinobacterium*, dan *Marinobacter* (Mardanov *et al.*, 2020 dan Tu *et al.*, 2017). Beberapa bakteri tersebut seperti *Halomonas* sp. dan *Marinobacter* sp. merupakan kelompok bakteri haloalkalifilik atau haloalkalitoleran yaitu bakteri halofil yang dapat tumbuh optimal pada pH tinggi (alkalifilik) atau tetap hidup pada pH basa meskipun optimalnya di pH

netral (toleran-alkali) (Shivlata & Tulasi, 2015). Halofil dapat bersifat alkalifil yang tumbuh optimal pada pH 9 atau toleran-alkali yang optimal pada pH netral namun dapat tumbuh pada pH 10. Terjadinya alkalinitas jika pH antara 9,5 hingga 13 dan salinitas yang tinggi (Purohit *et al.*, 2013; Gräfe *et al.*, 2011).

Bakteri haloalkalifilik diketahui mampu menghasilkan enzim hidrolase yang tidak hanya aktif tetapi juga stabil di lingkungan ekstrem sehingga cocok untuk aplikasi di industri (Abdel-Hamed *et al.*, 2016; Purohit *et al.*, 2016; Yin *et al.*, 2015). Bakteri penghasil amilase dapat ditemukan di setiap habitat hipersalin tinggi dikarenakan dapat bertahan pada kondisi ekstrem (Purnawan *et al.*, 2015). Amilase adalah enzim yang menguraikan amilum (pati) menjadi gula sederhana sebagai sumber energi bagi bakteri. Bakteri yang hidup di lingkungan ekstrem (bakteri ekstremofil) memerlukan enzim yang stabil agar proses metabolisme tetap berjalan, salah satunya melalui produksi enzim ekstraseluler seperti amilase (Remijawa *et al.*, 2020).

Enzim yang dihasilkan oleh bakteri ekstremofil dikenal sebagai enzim ekstremozim dapat dijadikan sebagai sumber enzim potensial di dalam industri karena memiliki sifat poliektremofilik, stabil dan aktif dalam berbagai kondisi ekstrem (Cowan *et al.*, 2015). Berbagai penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi bakteri penghasil amilase dari lingkungan bersalinitas tinggi, seperti lumpur laut dalam, sedimen sumber air panas, sedimen mangrove, hingga lumpur dari gunung lumpur (Hamamoto

dan Koki, 1991; Budiharjo *et al.*, 2024; Rahmawati *et al.*, 2021; Hsu *et al.*, 2021).

Amilase merupakan salah satu enzim yang paling banyak digunakan di dunia, dengan kontribusi sekitar 25–30% dari total pasar enzim global (Rajagopalan dan Krishnan, 2008; Reddy *et al.*, 2003; Munoz *et al.*, 2011). Amilase yang dihasilkan oleh mikroba telah terbukti menjadi alternatif yang efektif menggantikan proses hidrolisis kimia, namun rendahnya hasil produksi enzim masih menjadi tantangan utama dalam produksi amilase secara komersial sehingga upaya eksplorasi melalui strategi bioprospeksi terus dilakukan untuk menemukan dan mengembangkan enzim-enzim baru dari sumber daya alam dengan tujuan meningkatkan efisiensi serta mendukung keberlanjutan di berbagai sektor industri termasuk pangan, farmasi, energi, dan lingkungan (Mongadan *et al.*, 2011; Rojo *et al.*, 2023).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan dengan mengeksplorasi bakteri haloalkalifilik dari lingkungan ekstrem Bledug Kesongo. Proses penelitian meliputi isolasi bakteri hingga diperoleh isolat murni, yang kemudian diseleksi melalui uji skrining menggunakan media selektif pati agar dan uji Lugol untuk mengetahui kemampuannya dalam menghasilkan amilase. Isolat terbaik yang menunjukkan aktivitas amilolitik selanjutnya diuji lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas enzim pada berbagai variasi suhu dan pH. Identifikasi molekuler dilakukan berdasarkan analisis gen 16S rRNA guna mengetahui spesies bakteri potensial penghasil amilase tersebut.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah yang dapat dikaji sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri haloalkalifilik yang berasal dari Bledug Kesongo?
- 1.2.2 Apakah isolat bakteri haloalkalifilik yang berasal dari Bledug Kesongo memiliki kemampuan dalam menghasilkan amilase?
- 1.2.3 Pada suhu dan pH berapa isolat bakteri amilolitik terbaik untuk optimal dalam menghasilkan amilase?
- 1.2.4 Bagaimana identitas isolat bakteri amilolitik terbaik dari Bledug Kesongo berdasarkan analisis molekuler gen 16S rRNA?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian sebagai berikut:

- 1.3.1 Menganalisis karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri haloalkalifilik yang berasal dari Bledug Kesongo
- 1.3.2 Menganalisis aktivitas bakteri haloalkalifilik yang berasal dari Bledug Kesongo dalam menghasilkan amilase
- 1.3.3 Mengetahui suhu dan pH yang diperlukan isolat bakteri amilolitik terbaik untuk optimal dalam menghasilkan amilase
- 1.3.4 Menentukan identitas bakteri amilolitik terbaik dari Bledug Kesongo berdasarkan analisis molekuler gen 16S rRNA.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai keragaman bakteri haloalkalifilik yang berasal dari lingkungan ekstrem Bledug Kesongo serta potensi isolat bakteri haloalkalifilik dalam menghasilkan amilase. Data mengenai suhu dan pH optimal aktivitas enzim yang dihasilkan juga diharapkan menjadi dasar yang berharga untuk pengembangan lebih lanjut, khususnya dalam penerapan di berbagai bidang industri yang memerlukan enzim yang tahan terhadap kondisi ekstrem.