

ABSTRAK

Lutfiah Munawaroh, 24020221140063. Isolasi, Skrining, dan Identifikasi Bakteri Amilolitik dari Tanah di sekitar Pohon Sukun (*Artocapus altilis*) di KHDTK Wanadipa Universitas Diponegoro Semarang. Dibawah bimbingan Nurhayati dan Susiana Purwantisari.

Kebutuhan amilase secara global terus meningkat seiring berkembangnya berbagai sektor industri yang memanfaatkan amilase, terutama pangan, pakan, deterjen, tekstil, kertas, dan bioenergi. Bakteri tanah di perakaran pohon sukun di KHDTK Wanadipa Undip berpotensi menjadi sumber penghasil amilase karena tanah di perakaran pohon sukun kaya amilum sebagai sumber substrat untuk bakteri amilolitik. Penelitian dilakukan bertujuan untuk mengisolasi bakteri amilolitik dari Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Wanadipa Universitas Diponegoro, serta menganalisis secara molekuler hasil skrining isolat amilolitik terbaik. Metode yang digunakan meliputi isolasi bakteri menggunakan metode pengenceran bertingkat dengan media NB (*Nutrient Broth*). Karakterisasi dilakukan secara makroskopis, mikroskopis bakteri dan uji katalase. Skrining amilolitik dengan media *Starch Agar* dan larutan yod. Pengukuran aktivitas amilase menggunakan metode spektrofotometer dengan mengukur kurva standar glukosa, kurva pertumbuhan dan aktivitas amilase dengan larutan DNS. Isolasi DNA bakteri amilolitik dilakukan dengan menggunakan kit *InstaGene Matrix*. Identifikasi secara molekuler isolat terbaik amilolitik melalui analisis gen 16S rRNA dengan primer 27F dan 1492R. Analisis sekuens dilakukan menggunakan BLAST dan MEGA untuk menyusun pohon filogeni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 7 isolat bakteri dari hasil skrining bakteri amilolitik. Isolat A2 sebagai penghasil amilase terbaik dengan nilai indeks amilolitik tinggi yaitu 3,35 yang menunjukkan kemampuan hidrolisis pati sangat kuat, sehingga dapat dikategorikan sebagai isolat amilolitik potensial. Uji kuantitatif aktivitas amilase isolat A2 dengan metode DNS menunjukkan aktivitas tertinggi pada jam ke-24 dengan aktivitas sebesar 0,2057 U/mL, yang menunjukkan titik optimum untuk produksi enzim. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat A2 diidentifikasi memiliki kemiripan yang tinggi dengan *Bacillus albus*.

Kata kunci: Amilase, Bacillus albus, bakteri amilolitik, KHDTK, 16S rRNA