

**POTENSI KONSORSIUM BIKULTUR BAKTERI
TERMOFILIK AIR PANAS MUDIAK SAPAN DALAM
MENGHASILKAN ENZIM XILANASE**

SKRIPSI



**Oleh
INDRAWANI MATONDANG
19032016/2019**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2023**

**POTENSI KONSORSIUM BIKULTUR BAKTERI
TERMOFILIK AIR PANAS MUDIAK SAPAN DALAM
MENGHASILKAN ENZIM XILANASE**

SKRIPSI

*Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Sains*



**Oleh
INDRAWANI MATONDANG
19032016/2019**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2023**

PERSETUJUAN SKRIPSI

POTENSI KONSORSIUM BIKULTUR BAKTERI TERMOFILIK AIR PANAS MUDIAK SAPAN DALAM MENGHASILKAN ENZIM XILANASE

Nama : Indrawani Matondang
NIM : 19032016
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 31 Juli 2023

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 197508152006042001

Disetujui oleh:
Pembimbing



Dr. Irdawati, M.Si
NIP. 197104302001122001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Indrawani Matondang
NIM : 19032016
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

POTENSI KONSORSIUM BIKULTUR BAKTERI TERMOFILIK AIR PANAS MUDIAK SAPAN DALAM MENGHASILKAN PRODUKSI ENZIM XILANASE

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Departemen
Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 31 Juli 2023

Tim Penguji

	Nama
Ketua	: Dr. Irdawati, M.Si
Anggota	: Prof. Dr. Azwir Anhar, M. Si.
Anggota	: Prof. Dr. Linda Advinda, M.Kes

Tanda Tangan



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

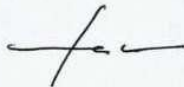
Nama : Indrawani Matondang
NIM/TM : 19032016/2019
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul **“Potensi konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik Air panas mudiak Sapan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase”** adalah benar merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis dan diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 31 Juli 2023

Diketahui oleh,
Ketua Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed
NIP. 19750815 2006042 001

Saya yang menyatakan,



Indrawani Matondang
NIM. 19032016

Potensi Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik Air Panas Mudiak Sapan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase

Indrawani Matondang

ABSTRAK

Enzim xilanase memiliki nilai komersial yang tinggi dalam bidang industri antara lain industri pangan, pakan ternak, pemutih bubuk kertas/pulp, biokonversi lignoselulosa sebagai bahan bakar, dan dibidang industri pangan yaitu industri keju, roti dan daging, sedangkan dalam bidang industri non-pangan ini dapat digunakan dalam deterjen. Enzim xilanase dapat diproduksi dari mikroorganisme salah satunya bakteri termofilik. Bakteri termofilik diketahui mampu menghasilkan enzim yang termostabil dan proteinnya yang tahan terhadap suhu panas. Produksi xilanase pada konsorsium bakteri yang kompatibel, lebih tinggi dibandingkan dengan monokultur. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kompatibilitas antar isolat bakteri termofilik Air Panas Mudiak Sapan dan menentukan konsorsium bikultur yang berpotensi dalam menghasilkan enzim xilanase.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen dan deskriptif. Untuk uji kompatibilitas bakteri menggunakan metode *disk diffusion* atau disebut difusi cakram merupakan metode untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pengujian aktivitas enzim menggunakan metode Miller dengan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 pengulangan, data hasil aktivitas xilanase dianalisis dengan uji ANOVA dan uji lanjut DMRT dengan taraf nyata 5%.

Hasil penelitian uji kompatibilitas bakteri menunjukkan terdapatnya satu konsorsium yang bersifat non kompatibel karena terdapatnya zona bening di sekitar kertas cakram tersebut yaitu isolat MSS15 & MSS11. Isolat bakteri termofilik pada konsorsium secara bikultur yang berpotensi menghasilkan enzim xilanase tertinggi adalah MS18 & MSS15 yaitu 34,292 U/ml, MSS15 & MS16 sebesar 32,464 U/ml dan MS18 & MS16 sebesar 29,651 U/ml.

Kata Kunci : *Konsorsium Bikultur, Bakteri Termofilik, Enzim Xilanase*

The Potential of Hot Water Mudiak Sapan Thermophilic Bactery Bicultur Consortium In Producing Xylanase Enzyme

Indrawani Matondang

ABSTRAK

The xylanase enzyme has high commercial value in the industrial sector, including the food industry, animal feed, bleaching of pulp/pulp, lignocellulosic bioconversion as fuel, and in the food industry, namely the cheese, bread and meat industries, while in the non-food industry this can be used in detergents. Xylanase enzymes can be produced from microorganisms, one of which is thermophilic bacteria. Thermophilic bacteria are known to be able to produce thermostable enzymes and proteins that are heat resistant. Xylanase production in compatible bacterial consortia was higher than monoculture. The purpose of this study was to determine the compatibility between isolates of thermophilic bacteria from Mudiak Sapan Hot Springs and to determine the bicultur consortium that has the potential to produce xylanase enzymes.

This research is an experimental research and deskriptif. To test the compatibility of bacteria using the disk diffusion method or called disc diffusion is a method to determine the sensitivity of bacteria to a substance that can inhibit microbial growth. Enzyme activity testing used the Miller method with DNS (Dinitrosalicylic acid) reagent using a completely randomized design (CRD) with 3 repetitions. Data on the results of xylanase activity were analyzed by ANOVA test and DMRT follow-up test with a 5% significance level.

The results of the bacterial compatibility test showed that there was one consortium that was non-compatible due to the presence of a clear zone around the disc paper, namely isolates MSS15 & MSS11. The thermophilic bacterial isolates in the bicultural consortium that have the potential to produce xylanase enzymes are MS18 & MSS15 were 34.292 U/ml, MSS15 & MS16 were 32.464 U/ml and MS18 & MS16 were 29.651 U/ml.

Keywords : *Biculture Consortium, Thermophilic Bacteria, Xylanase Enzyme*



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya serta kesehatan sehingga dengan ridho-Nya penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik Air Panas Mudiak Sapan dalam Menghasilkan Enzim Xilanase”. Sholawat beserta salam semoga senantiasa tetap tercurahkan kepada baginda rasulullah SAW, yang telah membawa ummatnya dari zaman kebodohan menuju zaman yang berilmu pengetahuan yang disinasri oleh iman dan islam.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Irdawati, M. Si., Pembimbing yang telah memberikan waktu, fikiran dan tenaga untuk membimbing serta mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Prof. Dr. Azwir Anhar, M.Si., dan Ibu Prof. Dr. Linda Advinda, M. Kes., selaku Tim peinguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi.
3. Ibu Dra. Des M, M.Si., Penasihat Akademik yang telah meluangkan waktu untuk memberikan arahan selama proses perkuliahan.
4. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, M.Biomed, Ketua Departemen Biologi.
5. Bapak dan Ibu Dosen, Pimpinan, dan Staf Departemen Biologi yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
6. Kedua Orang Tua yang yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini.
7. Abang dan Adik yang selalu memberikan semangat.

8. Kedua Rekan saya, Reza Sapitri dan Fahra yang selalu memberikan suport selama perkuliahan.
9. Bunde Wardah dan Om Afriadi yang menjadi suport di rumah selama saya di Padang.
10. Tite Ihdina Mukhlisah, Sari Ramadhani, Diva Ayunda sebagai suport sistem.
11. Seluruh rekan Tim Payung Xilanase (Shafa, Feby dan Ayas) dan Biofuel (Naya, Putri, Diqi, dan Fahra).
12. Sahabat dan orang-orang terdekat yang selalu memberikan dukungan
13. Keluarga besar Biologi Sains 2019 yang telah memberikan dukungan.

Semoga bantuan Bapak/Ibu dan rekan-rekan dapat bernilai ibadah dan mendapatkan balasan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua kalangan yang membaca dan untuk penelitian selanjutnya.

Padang, Mei 2023

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Hipotesis Penelitian	6
D. Tujuan Penelitian	6
E. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Konsorsium Bakteri dan Kompatibilitas Bakteri	8
B. Bakteri Termofilik	11
C. Enzim Xilanase dan Peranannya	14
BAB III METODE PENELITIAN	16
A. Jenis Penelitian	16
B. Waktu dan Tempat Penelitian	16
C. Alat dan Bahan	16
D. Rancangan Penelitian	17
E. Prosedur Penelitian	18
F. Pengamatan	23
G. Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	255
A. Hasil	255
B. Pembahasan	277
BAB V PENUTUP	333
A. Kesimpulan	333
B. Saran	333
DAFTAR PUSTAKA	344
LAMPIRAN	399

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik	18
2. Perlakuan pada Proses Fermentasi Konsorsium dan Monokultur	22
3. Hasil Uji Kompatibilitas Bakteri Termofilik MS	255
4. Aktivitas Xilanase pada Perlakuan Konsorsium Bikultur dan Monokultur	266

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Gambar Hasil Uji Kompatibilitas Isolat Bakteri MS	399
2. Tabel Kurva Standar Xilosa	40
3. Data Hasil Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik MS dalam Menghasilkan Enzim Xilanase	41
4. Dokumentasi Penelitian	488

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim merupakan biokatalisator dalam semua sistem kehidupan. Berperan penting dalam reaksi biokimia yang berlangsung di dalam sel mikroorganisme, tanaman, hewan, dan manusia. Enzim sebagai biokatalisator dapat mempercepat reaksi biokimia tanpa mengalami perubahan yang permanen (Sutrisno, 2017). Penggunaan enzim di bidang industri berkembang pesat seiring bertambahnya kemajuan bioteknologi. Penggunaan enzim dalam bidang industri berkisar 80% dari pemasaran enzim global (Melim *et al.*, 2013). Pada umumnya kebutuhan enzim didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti amilase, protease, katalase, lipase dan xylanase (Ningsih, 2012).

Enzim xilanase merupakan salah satu kelompok enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis xilan (hemiselulosa) atau polimer menjadi xilosa dan xylo-oligosakarida (Mardawati, 2017). Xilanase memiliki nilai komersial yang tinggi dalam bidang industri (Wahyudi *et al.*, 2010), antara lain industri pangan, pakan ternak, pemutih bubuk kertas/pulp, biokonversi lignoselulosa untuk bahan bakar (Susilowati, 2012), bidang industri pangan yaitu industri keju, roti dan daging, sedangkan dalam bidang industri non-pangan ini dapat digunakan dalam deterjen (Marisa, 2013), serta pada bidang industri minuman (Irdawati *et al.*, 2016). Enzim xilanase dapat dihasilkan oleh berbagai jenis khamir, kapang, protozoa, bakteri (Fawzya *et al.*, 2013).

Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu hidup pada suhu tinggi serta dapat menghasilkan enzim termostabil (Pratita dan Surya, 2012). Bakteri termofilik yang diketahui mampu menghasilkan xilanase termostabil adalah *Bacillus subtilis* (Li *et al.*, 2012), dan *Pseudomonas* (Susilowati *et al.*, 2012). Kelebihan lainnya dari mikroba termofilik memiliki sifat fisik medium yang menunjukkan penurunan tegangan permukaan dan viskositas serta peningkatan kelarutan substrat dan difusi pada suhu tinggi (Tolner *et al.*, 1997).

Pemanfaatan mikroba bakteri termofilik ini memiliki hubungan yang erat dengan enzim yang dihasilkan sehingga enzim digunakan sebagai katalis biologis dan banyak digunakan dalam dunia industri (Irdawati dan Fifendy, 2011). Ketahanan bakteri terhadap suhu tinggi disebabkan oleh adanya enzim-enzim dan protein yang tahan terhadap panas. Selain itu, pada bagian membran sel bakteri tersebut terdapat asam-asam lemak jenuh yang memungkinkan membran sel berfungsi dengan baik dan stabil pada suhu tinggi (Cappucino dan Natalie, 2002). Dalam Bergquits *et al.*, (2001) juga dikatakan enzim yang dihasilkan oleh bakteri lebih stabil pada suhu tinggi dibandingkan dengan jamur. Bakteri termofilik dapat bertahan dengan baik pada suhu 40°C ataupun pada suhu lebih dari 40°C disebabkan banyaknya asam amino dan atom sulfur (sintesis protein) sehingga mampu membentuk ikatan disulfida. Menurut Campbell (2010) dan Ngili (2009) enzim yang memiliki ikatan sulfida yang banyak akan meningkatkan kemampuan enzim tersebut dalam mempertahankan konfirmasi dan aktivitas katalitiknya dalam suhu lingkungan yang tinggi.

Bakteri termofilik memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan yang bersifat ekstrim, seperti temperatur, kadar garam, pH, tekanan dan oksigen (Primiadi, 2014). Menurut Tuntun dan Huda (2014) habitat alami bakteri termofilik tersebar luas di seluruh permukaan bumi, diantaranya pada sumber-sumber air panas, kawah gunung berapi atau daerah vulkanik.

Kabupaten Solok Selatan tepatnya sumber air panas Mudiak Sapan, Jorong Balun, Nagari Pakan Rabaa, Kecamatan Koto Parik Gadang di Ateh, Sumatera Barat ditemukan bakteri termofilik penghasil enzim xilanase. Sumber air panas ini memiliki suhu 93°C dengan pH 8. Vegetasi yang terdapat disekitar sumber air panas ini adalah rumput-rumputan yang mempengaruhi karakteristik profil pertumbuhan dari jenis isolat yang ditentukan. Derajat keasaman (pH) juga mempengaruhi varian isolat karena keadaan disekitar sumber air panas bersifat basa maka diperkirakan isolat bakteri termofilik lebih beragam (Irdawati *et al.* 2017).

Sumber air panas Mudiak Sapan tersebut menghasilkan 19 isolat yang terdiri dari 12 isolat bakteri berasal dari sampel air dan 7 isolat bakteri dari sampel sedimen. Dari 19 isolat bakteri termofilik menunjukkan karakteristik morfologi yang berbeda-beda. Setelah dilakukan pengujian terhadap aktivitas enzimnya terdapat 4 isolat bakteri termofilik yang mampu memproduksi enzim xilanase tertinggi yaitu isolat MS18, MSS11, MSS15, dan MS16 (Irdawati *et al.*, 2016). Untuk menghasilkan enzim xilanase yang lebih optimal tidak hanya dapat memanfaatkan bakteri tunggal atau monokultur tetapi juga bakteri dalam bentuk konsorsium (Komarawidjaja, 2009).

Konsorsium merupakan campuran populasi mikroba dalam bentuk komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal, dan mutualistik. Konsorsium mikroba cenderung memberikan hasil kerja yang lebih cepat dalam mendegradasi media hidupnya dibandingkan dengan kerja mikroba tunggal. Hal tersebut dikarenakan kerja enzim dari jenis mikroba dapat saling melengkapi untuk dapat bertahan hidup dalam lingkungannya dengan menggunakan sumber nutrient yang tersedia (Siregar *et al.*, 2016). Mikroba dalam konsorsium mempunyai peluang yang besar untuk memperoleh energi dan bertahan hidup, karena dapat saling memanfaatkan koenzim atau ekosoenzim yang diekskresikan oleh mikroba lainnya, selain itu mikroba lainnya dapat menguraikan substrat yang telah didegradasi sebelumnya oleh suatu mikroba (Septiningrum, 2011).

Konsorsium bakteri yang dipilih harus kompatibel, kompatibel adalah hubungan antara dua genus atau spesies bakteri tertentu yang aktivitasnya tidak bertentangan satu sama lain, tetapi berbagi sumber nutrisi yang sama dalam media hidup yang sama dan saling menguntungkan (Asri dan Zulaika, 2016). Isolat yang kompatibel ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambatan yang terbentuk, sedangkan isolat yang tidak kompatibel ditunjukkan dengan adanya zona hambatan yang terbentuk (Edy, 2011). Penentuan produksi enzim tertinggi dapat dilihat dari aktivitas xilanase tertinggi. Pada konsorsium bikultur memiliki produksi enzim xilanase yang lebih tinggi daripada monokultur (Vu *et al.*, 2022). Kondisi bakteri yang diletakkan pada suatu lingkungan tertentu atau media tumbuh yang sama (konsorsium) cenderung memicu masing-masing isolat bakteri dalam konsorsium tersebut

untuk menghasilkan berbagai macam senyawa tertentu yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri lain dalam media tersebut. Pada kondisi ini dapat terjadi hubungan *cross feeding* antar masing-masing kelompok bakteri. *Cross feeding* merupakan suatu simbiosis mutualistik sederhana yang terjadi dengan adanya produksi faktor tumbuh esensial tertentu dari setiap kelompok bakteri dalam konsorsium yang digunakan kelompok bakteri lain untuk menunjang pertumbuhannya sehingga menimbulkan hubungan saling ketergantungan antar masing-masing kelompok bakteri (Valentina *et al.*, 2018).

Menurut beberapa penelitian seperti Zhang *et al.*, (2016), konsorsium bikultur mikroba XDC-2 yang terdiri dari bakteri *Bacillus* sp., dan *Clostridium* sp. masing-masing mencapai 1,2 dan 0,8, 250 IL diinokulasi ke dalam 5 ml medium DSM dapat mendegradasi lignoselulosa alami, dan juga mensekresi xilanase ekstraseluler secara efisien, hal ini disebabkan terdapatnya massa sel serta aktivasi xylanase karna efek sinergis enzim xylanolitik pada substrat. Penelitian Vu *et al.*, (2022), konsorsium bikultur antara *Bacillus subtilis* (B.01162) dan *Bacillus coagulans* (B.01123) dengan rasio konsorsiumnya 1:1, menghasilkan aktivitas enzim xilanase hampir 2x lipat dan 3x lipat lebih tinggi daripada monokultur. Penelitian Anthony *et al.*, 2016, aksi sinergis dari dua strain bakteri untuk produksi xilanase menggunakan *Acetobacter xylinum* (NCIM 2526) dan *Cellulomonas* (NCIM 2523) menghasilkan 5,85 U/mL aktivitas xilanase yang 6,9 kali lipat lebih banyak dari hasil monokultur.

Konsorsium bikultur berpotensi menghasilkan enzim xilanase yang lebih tinggi daripada isolat monokultur, hal inilah yang mendasari untuk

dilakukannya penelitian tentang potensi konsorsium bikultur bakteri termofilik air panas mudiak sapan dalam menghasilkan enzim xilanase. Akan tetapi, dibutuhkan uji kompatibilitas terlebih dahulu untuk mengetahui apabila antar isolat bakteri saling berseinerjis. Sehingga Berdasarkan uraian di atas maka penulis melakukan penelitian dengan judul Potensi Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik Air Panas Mudiak Sapan Dalam Menghasilkan Enzim Xilanase.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah kompatibilitas antar isolat bakteri termofilik Air Panas Mudiak Sapan?
2. Apakah konsorsium bikultur bakteri termofilik terbaik Air Panas Mudiak Sapan berpotensi meningkatkan produksi enzim xilanase?

C. Hipotesis Penelitian

Konsorsium bikultur bakteri termofilik terbaik Air Panas Mudiak Sapan berpotensi meningkatkan produksi enzim xilanase

D. Tujuan Penelitian

1. Menentukan kompatibilitas antar isolat bakteri termofilik Air Panas Mudiak Sapan.
2. Menentukan konsorsium bikultur bakteri termofilik terbaik Air Panas Mudiak Sapan yang berpotensi meningkatkan produksi enzim xilanase.

E. Manfaat Penelitian

1. Menambah informasi mengenai kompatibilitas antar isolat bakteri termofilik Air Panas Mudiak Sapan.

2. Memberikan informasi mengenai konsorsium bikultur termofilik terbaik Air Panas Mudiak Sapan yang berpotensi meningkatkan produksi enzim xilanase.
3. Sebagai dasar pengembangan penelitian dalam bidang mikrobiologi.