

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Mikroorganisme

Mikroorganisme merupakan semua makhluk yang berukuran beberapa mikron atau lebih kecil lagi, yang termasuk golongan ini adalah bakteri, cendawan atau jamur tingkat rendah, ragi yang menurut sistematik masuk golongan jamur, ganggang, hewan bersel satu atau protozoa, dan virus yang hanya nampak dengan mikroskop elektron (Dwidjoseputro 1990).

Mikroorganisme sangat berperan dalam kehidupan yang terdapat di berbagai habitat. Mikroorganisme diperoleh dari lingkungan air, tanah, udara, substrat yang berupa bahan pangan, tanaman dan hewan (Fardiaz 1992). Mikroorganisme terdiri dari bakteri, jamur dan virus. Umumnya tiap mikroorganisme mempunyai morfologi dan struktur anatomi yang berbeda (Waluyo 2004). Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang memiliki peran penting sebagai penghasil enzim karena memiliki beberapa keunggulan antara lain, bakteri memiliki siklus hidup yang singkat, efisiensi waktu dan tempat produktivitas tinggi.

B. Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu suplai nutrient, suhu, pH, dan ketersediaan oksigen. Unsur-unsur dasar yang dibutuhkan oleh bakteri adalah karbon, nitrogen, hydrogen, oksigen, sulfur, zat besi, fosfor, dan sejumlah kecil logam lainnya. Kekurangan sumber nutrient dapat menyebabkan kematian pada bakteri. Suhu merupakan salah satu faktor penting bagi pertumbuhan bakteri. Apabila temperature naik atau turun secara drastis, maka tingkat pertumbuhan bakteri akan terhenti karena komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak sehingga sel-sel menjadi mati (Hajoeningtjas 2012). Nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, serta vitamin, air, dan energi (Radji 2011).

Kebutuhan utama bakteri akan oksigen menjadikan bakteri dibagi menjadi dua yaitu bakteri anaerob dan aerob. Bakteri anaerob dibagi lagi menjadi anaerob obligat, anaerob fakultatif dan bakteri mikroaerofilik. Bakteri anaerob obligat artinya adalah bakteri tersebut harus dalam kondisi bebas dari oksigen untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri anaerob fakultatif adalah bakteri yang dapat hidup dengan oksigen maupun tidak. Mikroaerofilik artinya bahwa bakteri bisa tumbuh dengan konsentrasi oksigen yang rendah namun bisa mati jika konsentrasi oksigen tinggi (Fox 2011). Bakteri aerob hanya tergolong kedalam aerob obligat, yaitu bakteri yang harus membutuhkan oksigen untuk kelangsungan hidupnya (Vasanthakumari 2007).

C. Tanah

Tanah adalah akumulasi tubuh alam bebas yang menempati sebagian besar permukaan bumi, yang mampu menumbuhkan tanaman, dan memiliki sifat sebagai akibat pengaruh iklim dan jasad hidup yang bertindak terhadap bahan induk dalam keadaan relief tertentu selama jangka waktu tertentu pula. Tanah terdiri dari empat komponen utama, yaitu bahan organik, mineral, air, dan udara (Isa Darmawijaya 1990).

Tanah merupakan salah satu habitat bagi mikroorganisme, dalam satu gram tanah terdapat jutaan mikroorganisme. Populasi mikroorganisme per gram tanah yang subur meliputi bakteri (2.500.000.000), fungi (400.000), algae (50.000) dan protozoa (30.000) (Budiyanto 2004). Tanah secara alamiah terbentuk sebagai hasil dari kombinasi proses fisik, kimia, dan biologi. Mikroba akan tetap tumbuh walaupun di tanah yang keras, kering, dan lembab. Sebagian besar mikroba tumbuh dan berkembang biak di permukaan tanah, bahkan pada segumpal tanah dapat tumbuh beranekaragam mikroorganisme (Panangan 2008).

D. Isolasi Bakteri

Isolasi merupakan kegiatan pemisahan mikroorganisme yang diperlukan untuk mengetahui jenis, morfologi, fisiologi, dan karakteristik mikroorganisme tersebut. Teknik pemisahan tersebut disebut isolasi yang disertai dengan pemurnian. Isolasi merupakan rangkaian proses pemisahan mikroorganisme agar

didapatkan kultur murni (isolat). Isolat-isolat tersebut kemudian ditumbuhkan pada medium terpisah agar dapat tumbuh dengan baik (Irianto 2006).

E. Identifikasi Bakteri

Identifikasi merupakan upaya untuk mengetahui nama suatu makhluk hidup dalam suatu kelompok tertentu berdasarkan karakteristik persamaan dan perbedaan yang dimiliki oleh masing-masing makhluk hidup. Identifikasi mikroorganisme yang baru diisolasi memerlukan perincian, deskripsi, dan perbandingan yang cukup dengan deskripsi yang telah dipublikasikan untuk jasad-jasad renik lain yang serupa (Pelczar *et al.* 1986).

Proses identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan terhadap mikroorganisme tersebut secara morfologi maupun fisiologi. Pengamatan morfologi secara makroskopis dapat dilakukan dengan mengamati (warna, koloni, bentuk koloni, ukuran, elevasi koloni, permukaan koloni, serta batas koloni), sedangkan pengamatan morfologi secara mikroskop dilakukan dengan pewarnaan Gram untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yaitu Gram positif dan Gram negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisika dinding sel bakteri. Pengamatan secara fisiologi bakteri dilakukan dengan cara uji biokimia. Uji biokimia yang dilakukan yaitu pengujian fermentasi karbohidrat, pengujian Metyl red, pengujian Vogest Paskauer, pengujian indol, pengujian oksidase, pengujian H₂S, pengujian amilase, pengujian katalase dan pengujian protease (Cappucino & Sherman 1987).

F. Enzim

1. Definisi Enzim

Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran lingkungan dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi, bersifat spesifik dan tidak beracun. Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri produk pertanian, kimia dan industri obat-obatan. Tiga sifat utama dari biokatalisator adalah menaikkan

kecepatan reaksi, mempunyai kekhususan dalam reaksi dan produk serta kontrol kinetik (Akhdiya 2003).

Enzim memegang peranan penting dalam proses pencernaan maupun proses metabolisme zat-zat makanan dalam tubuh. Fungsi enzim adalah mengurangi energi aktivasi, yaitu energi yang diperlukan untuk mencapai status transisi, yaitu energi yang diperlukan untuk mencapai status transisi (suatu bentuk dengan tingkat energi tertinggi) dalam suatu reaksi kimiawi. Suatu reaksi yang dikatalis oleh enzim mempunyai energi aktivasi yang lebih rendah, dengan demikian membutuhkan lebih sedikit energi untuk berlangsungnya reaksi tersebut. Enzim mempercepat reaksi kimiawi secara spesifik tanpa memberikan efek samping dan bekerja pada larutan dengan keadaan suhu dan pH tertentu. Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, dan pH (Pelczar dan Chan 2005)

2. Sifat-sifat enzim

Enzim sebagai suatu senyawa yang berstruktur protein baik murni maupun protein yang terikat pada gugus non protein, memiliki sifat yang sama dengan protein lain yaitu dapat terdenaturasikan oleh panas, terpresipitasikan atau terendapkan oleh senyawa-senyawa organik cair seperti etanol dan aseton juga oleh garam-garam organik berkonsentrasi tinggi seperti ammonium sulfat, memiliki bobot molekul yang relatif besar sehingga tidak dapat melewati membrane semi permeabel atau tidak dapat terdialisis (Poedjiadi 1994).

Enzim yang diisolasi dari sumber alamnya dapat dipakai secara *in vitro* untuk penelitian secara rinci reaksi-reaksi yang dikatalis. Laju reaksi dapat diubah dengan mengubah parameter-parameternya seperti pH, suhu dan dengan mengubah secara kualitatif maupun kuantitatif komposisi ion dari medianya atau dengan mengubah ligan selain substrat atau koenzim (Poedjiadi 1994).

3. Jenis – jenis Enzim

3.1. Amilase. Amilase dapat diperoleh dari berbagai sumber mikroorganisme, tanaman, dan hewan (Aiyer 2005). Amilase adalah kelompok enzim yang memiliki kemampuan memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada senyawa polimer karbohidrat, molekul amilum akan dipecah oleh amilase

pada ikatan α -1,4-glikosida dan α -1,6-glikosida. Hidrolisa amilum dapat dilakukan secara kimia atau dengan enzim amilase sebagai katalis. Amilase menghidrolisis substrat yang berupa amilum sehingga dihasilkan siklodekstrin dan campuran karbohidrat sederhana (Syowiecki 2007).

Enzim amilase mendegradasi pati dan polimer yang serupa menjadi produk hasil sehingga dikarakteristikan menjadi enzim amilolitik. Keuntungan utama penggunaan mikroorganisme untuk produksi amilase adalah kapasitas produksi misal yang ekonomis serta stabilitasnya terhadap pH dan suhu (Aiyer 2005). Penelitian mengenai karakteristik enzim amilase dan sumbernya telah dilakukan sejak lama. Perbedaan sumber atau asal enzim mempengaruhi perbedaan karakteristik enzimnya. Aktivitas enzim amilase dipengaruhi oleh temperature, pH, dan kehadiran bahan-bahan kimia (Swain dan Ray 2007).

3.2. Selulase. Enzim selulase digunakan untuk hidrolisis selulosa. Selulosa merupakan senyawa organik. Selulosa adalah polimer berantai lurus dari β -1,4-D-glukosa yang tidak larut dalam air yang tersusun dari 15.000 residu D-glukosa. Sub unit glukosa bergabung bersama karena adanya ikatan β -1,4 menghasilkan selulosa. Selulosa mengandung polimer karbohidrat terbanyak dengan ikatan β -1,6 glikosida.

Struktur amorf selulosa bersifat larut dalam air sedangkan bagian kristal bersifat tidak larut dalam air sehingga resisten terhadap degradasi secara kimia maupun biologis. Akibatnya, selulosa menjadi sulit dihidrolisis. Molekul selulosa sangat stabil dan memiliki waktu paruh 5-8 juta tahun untuk pemutusan ikatan β -glikosidiknya pada suhu 25⁰ C. beberapa hal yang dapat menghambat degradasi selulosa adalah tingkat kristalisasi, lignifikasi dan struktur kapiler selulosa terhadap enzim selulolitik dan senyawa hidrolitik lainnya (Sakti 2012).

G. Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

Kemampuan enzim dalam mempercepat reaksi dipengaruhi oleh beberapa faktor yang menyebabkan enzim dapat bekerja dengan optimal dan efisien. Faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah konsentrasi

enzim, substrat, senyawa inhibitor, dan activator, pH, dan temperatur lingkungan (Noviyanti *et al.* 2012).

Temperatur mempengaruhi aktivitas enzim. Temperatur sangat menentukan aktivitas enzim pada waktu mengkatalis suatu reaksi. Semua enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Kenaikan temperature melewati temperature optimum akan menyebabkan enzim terdenaturasi dan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik, serta lemahnya ikatan di dalam enzim secara structural (Wuryanti 2004; Pertiwi 2008).

Menurut Lehninger (1998) pH berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu reaksi. Berdasarkan pada skala deviasi pH yang besar, perubahan pH akan mengakibatkan enzim mengalami denaturasi karena adanya gangguan terhadap berbagai interaksi ion kovalen yang menjaga kestabilan struktur tiga dimensi enzim. Ion logam dapat berfungsi sebagai aktivator atau inhibitor. Adanya aktivator yang berkaitan dengan enzim dapat menyebabkan kenaikan kecepatan reaksi enzim sedangkan inhibitor jika berkaitan dengan menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzimatik (Whitaker 1994).

Konsentrasi substrat yang rendah, enzim tidak mencapai konversi maksimal akibat sulitnya enzim menemukan substrat yang akan direaksikan. Seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, kecepatan reaksi juga akan meningkat akibat semakin banyaknya substrat terikat dengan enzim. Peningkatan konsentrasi substrat pada titik-titik jenuh tidak dapat lagi meningkatkan kecepatan laju reaksi (Pratiwi 2008). Kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim terganggu pada konsentrasi enzim tersebut. Berdasarkan konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim (Poedjiadi 1994).

H. Amilum

Amilum atau pati merupakan polisakarida yang banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa ini disimpan dalam bentuk granula dengan ukuran dan karakteristik yang spesifik untuk setiap spesies tanaman. Beberapa contoh tanaman yang memiliki kandungan pati dengan konsentrasi tinggi yaitu jagung,

sorghum, beras, dan singkong. Masing-masing sebesar 72,4%; 73%; 78,9%; dan 34,7% (Van Der Maarel *et al.* 2002). Pati berbentuk granul atau butir-butir kecil dengan lapisan-lapisan yang karakteristik. Lapisan-lapisan ini serta ukuran dan bentuk granul seringkali khas bagi beberapa spesies tanaman sehingga dapat digunakan untuk identitas tanaman asalnya (Claus *et al.* 1970).

Dalam bahasa Yunani amilum disebut amylo yang memiliki struktur berbeda-beda tergantung dari tumbuhan yang menghasilkannya. Pati merupakan polimer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α glukosidik dan granulnya terdiri dari dua jenis molekul α -D-glukosa yaitu amilosa yang mempunyai sifat tidak larut air, tetapi larut dalam air panas yang membentuk suatu larutan koloid yang kental dan amilopektin yang bersifat tidak larut baik dalam air panas maupun air dingin, namun dapat dihidrolisis sempurna dengan menggunakan asam sehingga menghasilkan glukosa (Nelson dan Cox 2004).

Tanaman yang mengandung pati digunakan dalam farmasi seperti *Zea mays* (jagung), *Oryza sativa* (beras), *Solanum tuberosum* (kentang), *Triticum aestivum* (gandum), *Maranta arundinacea* (garut), *Ipomoea batatas* (ketela rambut) dan *Manihot utilissima* (ketela pohon) (Claus *et al.* 1970).

I. *Carboxy Methyl Cellulose*

Carboxy Methyl Cellulose (CMC) merupakan polielektrolit amoniak turunan dari selulosa dengan perlakuan alkali dan monochloro acetic acid atau garam natrium yang digunakan luas dalam industri pangan. CMC memiliki rumus molekul $C_8H_{16}NaO_8$ bersifat biodegradable, tidak berwarna, tidak berbau, tidak beracun, berbentuk butiran atau bubuk yang larut dalam air namun tidak larut dalam larutan organik, stabil pada rentang pH 3-10 dan mengendap pada pH kurang dari 3, serta tidak bereaksi pada senyawa organik. Contoh aplikasi CMC adalah pada pemrosesan selai, es krim, minuman, saus, jely, pasta, keju, dan sirup. Karena pemanfaatannya yang luas, mudah digunakan, serta harganya yang tidak mahal, CMC menjadi salah satu zat yang diminati (De Man 1989). CMC digunakan dalam bentuk garam natrium *carboxy methyl cellulose* sebagai pemberi bentuk, konsistensi dan tekstur (Prasetyo *et al.* 2015).

J. Media

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Bentuk media ditentukan oleh ada atau tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya, maka bentuk media dikenal ada tiga jenis yaitu padat, cair, dan semi cair atau padat. Media padat umumnya diperlukan untuk bakteri, ragi, jamur dan kadang-kadang mikro alga. Media cair merupakan media yang tidak ditambahkan zat pematat, biasanya dipergunakan untuk perbaikan mikro alga tetapi juga mikro lain, terutama bakteri dan ragi. Media semi cair atau padat adalah medium yang ditambahi dengan agar solid yang disebut agar, biasanya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Sriyanti dan Wijayani 2008).

K. Metode Uji Aktivitas Enzim

Uji aktivitas enzim amilase dan selulase adalah suatu zat digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat menghasilkan enzim amilase dan selulase. Aktivitas tersebut dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (disk) kertas saring, sumuran, atau silinder tidak beralas. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Metode dengan sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Diameter zona hambat sekitar cakram sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisika, kimia, faktor antar obat dan organisme (Jawetz *et al.* 2001).

K. Landasan Teori

Tanah merupakan salah satu sumber utama organisme, karena merupakan habitat organisme yang terlibat dalam dekomposisi dan resistensi zat organik (Suwandi 1989). Tanah secara alamiah terbentuk sebagai hasil dari kombinasi

proses fisik, kimia, dan biologi. Mikroba akan tetap tumbuh walaupun di tanah yang keras, kering, dan lembab. Sebagian besar mikroba tumbuh dan berkembang biak di permukaan tanah, bahkan pada segumpal tanah dapat tumbuh beranekaragam mikroorganisme (Panangan 2008). Bagian tanah yang banyak mengandung populasi mikroba adalah bagian rhizofe. Bagian ini jauh lebih tinggi dibandingkan daerah yang lainnya (Suryono 1995). Populasi mikroorganisme per gram tanah yang subur meliputi bakteri (2.500.000.000), fungi (400.000), algae (50.000) dan protozoa (30.000) (Budiyanto 2004).

Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling melimpah jumlahnya di dalam tanah. Jumlah dan tipe bakteri yang terdapat di tanah dipengaruhi oleh letak geografis, suhu, pH, kandungan bahan organik, tipe tanah, kultivasi, aerasi dan kelembaban tanah (Davies *et al.* 1990). Bakteri tanah yang paling sering dijumpai berbentuk kokus, basil, spiral (Bhagabati *et al.* 2004). Bakteri *Bacillus* termasuk bakteri gram positif yang umum ditemukan di tanah, air, udara dan materi tumbuhan yang terdekomposisi (debu). *Bacillus sp.* bersifat aerobik oleh karena itu dalam proses fermentasi harus diperhatikan dengan baik. Bakteri ini mampu membentuk endospora ketika kondisi lingkungan tertekan. Spora ini dapat bertahan 60 tahun atau lebih pada kondisi lingkungan ekstrim (Sakti 2012). Bakteri menjalankan fungsi penting di dalam tanah sebagai dekomposer residu dari enzim yang disekresikan ke tanah.

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati terdiri dari berbagai jenis tumbuhan, hewan dan mikroba yang memiliki potensi dalam produksi enzim. Enzim dihasilkan oleh semua makhluk hidup untuk mengkatalisis reaksi biokimia dalam tubuh makhluk hidup tersebut sehingga reaksi-reaksi itu dapat berlangsung lebih cepat (Sianturi 2008). Bakteri tanah mempunyai potensi besar untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi. Potensi tersebut berhubungan dengan kemampuan yang dimilikinya seperti amilolitik, proteolitik, antibiosis, selulolitik, dan sebagainya. Potensi ini dapat dimanfaatkan untuk industri pangan, minuman, obat-obatan, dan penanganan limbah.

Enzim yang berasal dari mikroorganisme secara umum sangat banyak diminati oleh industri sebab memiliki banyak keuntungan dibandingkan dari

sumber lain seperti hewan dan tumbuhan. Kondisi keanekaragaman hayati pada tanah tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber penghasil enzim. Enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan kendali pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Enzim berfungsi sebagai katalisator, yaitu senyawa yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia (Marks dkk 2000).

Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis. Setiap enzim memiliki aktivitas maksimal pada suhu tertentu, aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Setelah itu kenaikan suhu lebih lanjut akan menyebabkan aktivitas enzim menurun (Megiadari 2009).

Enzim yang dikenal luas penggunaannya adalah enzim amilase dan selulase. Enzim amilase dan selulase dapat dihasilkan oleh tanaman, hewan, maupun mikroorganisme seperti bakteri (Fatoni dan Puji 2008). Amilase merupakan enzim yang mampu mengkatalis pemecahan ikatan glikosida dari pati menjadi gula sederhana. Selulase merupakan enzim yang mampu mendegradasi selulosa melalui proses katalis yang bekerja secara sinergis untuk melepas gula. Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme penghasil enzim yang paling banyak digunakan sebagai sumber enzim. Bakteri lebih dianggap menguntungkan karena pertumbuhan cepat, dapat tumbuh pada substrat yang relatif murah dan mampu menghasilkan enzim (Akhdiya 2003). Kelompok bakteri amilolitik dan selulolitik yang cukup dikenal luas antara lain *Bacillus*, *Clostridium*, *Bacteriodes*, *Micrococcus*, *Thermus*, dan *Actinomycetes* (Reddy et al, 2003).

L. Hipotesis

Pertama, terdapat karakter isolat bakteri dari tanah kawasan perkebunan teh Kemuning Tawangmangu yaitu bakteri *Bacillus sp.*

Kedua, terdapat isolat bakteri yang didapat pada tanah kawasan perkebunan teh Kemuning Tawangmangu yang mampu menghasilkan enzim amilase dan selulase.