

SELEKSI AMILASE PENDEGRADASI PATI MENTAH BAKTERI DARI AIR GALIAN BEKAS TAMBANG BATU BARA DI DESA LOA BAHU

SELECTION OF RAW STARCH-DEGRADING AMYLASES BY BACTERIA FROM EX COAL MINE WATER IN LOA BAHU VILLAGE

Akbar, Winni Astuti*, Djihan Ryn Pratiwi

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok, Kampus Gn. Kelua, Samarinda 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

* Corresponding Author : winniaastuti@fmipa.unmu.ac.id

Article History

Submitted : 5 June 2025

Accepted: 15 July 2025

ABSTRACT

Raw starch-degrading amylase (RSDA) is a type of hydrolase enzyme that can degrade raw starch into glucose without going through the heating and gelatinization process. This study was conducted to select RSDA-producing bacteria from ex-coal mine water samples in Loa Bahu Village, Sungai Kunjang, Samarinda, with various types of raw starch such as rice, wheat, corn, potatoes, sago and cassava. The selection of bacteria-producing RSDA was carried out using agar nutrient media containing raw starch, the positive test was marked by the formation of a clear zone around the bacterial colony after the addition of iodine solution. A total of 13 bacterial isolates (AT 1 - AT 13) were tested qualitatively by RSDA. The selection results showed that 4 bacterial isolates were capable of degrading raw rice starch, 4 bacterial isolates were capable of degrading raw corn starch, 2 bacterial isolate was capable of degrading raw cassava starch, 1 bacterial isolate was capable of degrading raw potato starch, 1 isolate was capable of degrading raw wheat starch, and 2 bacterial isolates were able to degrade raw sago starch. The bacterial isolate with the code AT3 is capable of degrading raw starch of rice, corn, potatoes, wheat and sago.

Keywords: Bacteria, Ex-Coal Mine Water Samples, Raw Starch-Degrading Amylase.

1. PENDAHULUAN

Enzim merupakan salah satu senyawa protein yang memiliki sifat sebagai biokatalisator atau senyawa yang mampu meningkatkan kecepatan reaksi kimia. Enzim mengubah kecepatan reaksi dalam membentuk produk dengan tidak mempengaruhi hasil dari produk atau mengganggu keseimbangan reaksi. Enzim mampu meningkatkan kecepatan reaksi menjadi $10^6 - 10^{12}$ kali.¹ Ciri khas enzim tersebut sangat menguntungkan dan banyak diaplikasikan dalam kehidupan manusia.

Enzim memiliki peranan sangat penting dalam kehidupan manusia terutama dalam mempercepat reaksi kimia pada proses industri untuk mengurangi biaya produksi dan waktu produksi. Pada industri pangan dan pengolahan makanan enzim digunakan untuk memecah pati menjadi gula seperti dalam proses pembuatan roti. Enzim juga diaplikasikan pada industri tekstil untuk mendegradasi pati pada kain sehingga membuat kain menjadi lebih lembut dan halus.² Pemanfaatan enzim pada industri pangan dan tekstil adalah salah satu kegunaan dari enzim hidrolase, yaitu enzim amilase.

Amilase adalah salah satu jenis enzim hidrolase yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis amilum/pati menjadi glukosa dengan melalui tiga tahapan, yaitu gelatinisasi,

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



liquifaksi dan sakarifikasi.³ Tahap gelatinasi memungkinkan pati mengalami perubahan struktur secara fisika dan kimia akibat pemanasan pada suhu yang tinggi.⁴ Tahapan tersebut membutuhkan waktu cukup yang lama, biaya dan energi yang besar. Jenis amilase yang dapat mengurangi penggunaan energi tersebut, yaitu amilase pendegradasi pati mentah.

Amilase pendegradasi pati mentah (APPM) merupakan jenis amilase yang mampu menghidrolisis butiran pati menjadi glukosa secara langsung tanpa memerlukan pemanasan yang tinggi (melalui tahap gelatinisasi).⁵ APPM mempunyai keunggulan dibandingkan dengan amilase lainnya, yaitu mempunyai situs pegikatan pati yang disebut dengan *Starch Binding Domain* (SBD) yang memfasilitasi pengikatan substrat pati.⁶ SBD memungkinkan APPM menghidrolisis pati mentah tanpa harus melalui gelatinisasi sehingga tidak memerlukan pemanasan terlebih dahulu. Di dunia industri sering kali menggunakan enzim konvensional yang membutuhkan proses pemanasan bahan baku untuk mempercepat proses produksi namun membutuhkan biaya dan energi yang besar. Penggunaan APPM dalam proses produksi dapat mengurangi biaya produksi dan penggunaan energi karena bekerja tanpa harus melalui gelatinisasi dibandingkan menggunakan enzim amilase konvensional yang memerlukan pemanasan pada suhu yang tinggi.⁵

APPM dapat diproduksi dari hewan, tumbuhan dan mikroorganisme seperti bakteri.⁷ Beberapa bakteri yang mampu menghasilkan APPM seperti pada penelitian Frima dkk (2020) yang mengisolasi bakteri *Panninobacter phragmatetus* yang bersumber dari air panas Lampung. APPM yang dihasilkan mampu mendegradasi pati mentah sagu dan jagung.⁸ Shofiyah dkk (2020) memperoleh APPM yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus megateirum* yang berasal dari air Danau Kakaban. APPM bakteri tersebut mampu menghidrolisis pati mentah beras, gandum, kentang, jagung, sagu dan beras.⁶ Pada penelitian Putri dkk (2020) berhasil mengisolasi bakteri *Klebsiella aerogenes* yang berasal dari TPA Bukit Pinang Samarinda. Bakteri tersebut menghasilkan APPM yang mampu mendegradasi pati mentah beras.⁹

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah sampel tabung reaksi pipet mikro ukuran 0,5-10 μ L, pipet mikro 10-100 μ L, pipet ukur 100-1000 μ L, *Laminar air flow*, gelas beaker, gelas ukur, pipet volume, Erlenmeyer, *hotplate*, hoki stik, labu ukur, neraca digital, aluminium foil, *shaker water bath*, jarum ose, *autoclave*, bunsen, *freezer* dan tabung mikro.

2.1.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian, yaitu sampel air galian bekas tambang batu bara, akuades, etanol, amilum, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), pati mentah jagung, pati mentah beras, pati mentah gandum, pati mentah kentang, pati mentah sagu, pati mentah singkong, tisu, *plastic wrap* dan aluminium foil.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di air galian bekas tambang batu bara di Desa Loa Bahu, Kecamatan Sungai Kunjang, Samarinda. Sampel air diambil pada 3 titik yang berbeda, yaitu titik pertama (-0.469326,117.077071), titik kedua (-0.469012,117.076973) dan titik ketiga (-0.470558,117.077727). Setiap titik sampel air diambil sebanyak 1,5 L pada kedalaman 10-20 cm. Sampel air galian bekas tambang batu bara dimasukkan ke dalam wadah plastik steril. Wadah ditutup rapat, diberi label dan disimpan dalam wadah pendingin. Selanjutnya sampel air galian bekas tambang batu bara dibawa ke Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman.

2.2.2. Isolasi Bakteri dari Air Galian Bekas Tambang Batu Bara

Sampel air galian bekas tambang batu bara dibuat suspensi terlebih dahulu sebelum dilakukan isolasi. Sampel air diencerkan menggunakan aquades steril sebanyak 100×

pengenceran. Kemudian sampel hasil pengenceran diambil sebanyak 0,1 mL dan disebar ke permukaan media NA 2,5% menggunakan hoki steril. Sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Bakteri yang tumbuh diambil dengan menggunakan jarum ose dan diinokulasi pada 5 mL media NB yang berbeda. Media NB berisi bakteri diinkubasi dengan *shaker water bath* pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah itu, setiap media NB disimpan dalam gliserol stok (80% bakteri dan 20% gliserol).

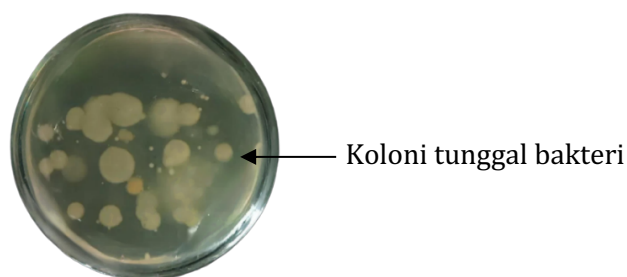
2.2.3. Seleksi Bakteri Penghasil APPM

Seleksi bakteri penghasil APPM menggunakan 2,5% media NA yang mengandung pati mentah steril. Media NA ditambahkan masing masing pati mentah beras, pati mentah jagung, pati mentah kentang, pati mentah sagu, pati mentah gandum dan pati mentah singkong lalu dihomogenkan. Media NA yang mengandung pati mentah dituang ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Setiap koloni tunggal bakteri diambil dan digores pada permukaan media agar. Koloni tunggal bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Koloni bakteri yang tumbuh ditambahkan larutan iodium. Zona bening yang terbentuk di sekitar bakteri menunjukkan bakteri menghasilkan APPM.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Isolasi Bakteri dari Air Galian Bekas Tambang Batu Bara

Isolasi bakteri dilakukan untuk mendapatkan koloni tunggal bakteri dari sampel air galian bekas tambang batu bara. Sampel air diencerkan sebanyak 100× pengenceran yang bertujuan mengurangi kepadatan sampel bakteri agar terbentuk koloni-koloni tunggal yang dapat dipisahkan.¹⁰ Teknik isolasi bakteri menggunakan metode cawan sebar. Metode ini dapat memisahkan mikroorganisme yang berasal dari suatu campuran agar dapat diisolasi.¹¹ Hasil isolasi bakteri dari air galian bekas tambang batu bara diperoleh sebanyak 13 koloni tunggal bakteri yang diberi kode AT1 – AT13. Koloni tunggal bakteri yang tumbuh ditunjukkan pada **Gambar 1**.

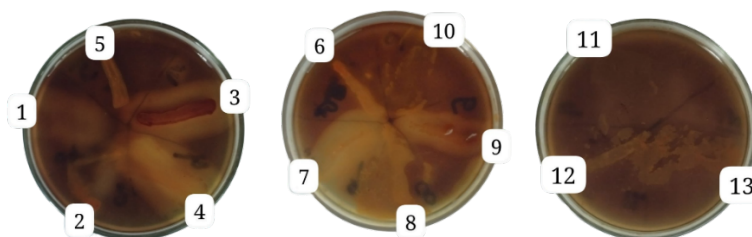


Gambar 1. Hasil isolasi bakteri dari air galian bekas tambang batu bara

3.2 Seleksi Bakteri Penghasil APPM

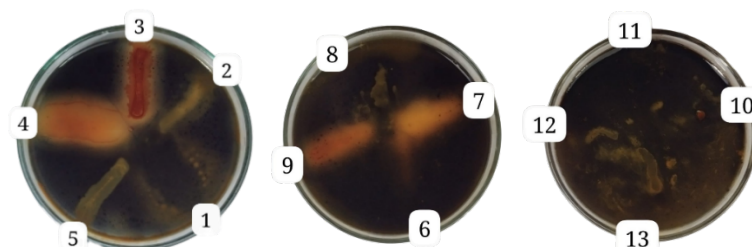
Seleksi bakteri penghasil APPM dilakukan untuk menseleksi isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM ekstraseluler. Enzim ekstraseluler adalah enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang berasal dari dalam sel dan dikeluarkan melalui membran sel bakteri ke media tumbuh bakteri.¹² Seleksi ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri ke dalam masing-masing media padat mengandung pati mentah beras, jagung, singkong, kentang, gandum dan sagu. Isolat bakteri dalam media padat diinkubasi selama 24 jam. Penggunaan jenis pati mentah bertujuan untuk mengetahui kemampuan APPM bakteri dalam mendegradasi beberapa jenis pati mentah. Pati mentah berfungsi sebagai substrat APPM. Isolat bakteri hasil inkubasi ditambahkan dengan larutan iodium. Iodium berfungsi sebagai pendeteksi keberadaan pati mentah pada media padat. Pati mentah akan berikatan dan bereaksi dengan iodium membentuk senyawa kompleks berwarna biru kehitaman pada media padat. Sedangkan zona bening yang terbentuk menunjukkan pati mentah telah didegradasi oleh APPM bakteri.

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan pati mentah beras diperoleh sebanyak 4 isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM, yaitu AT3, AT4, AT7 dan AT9 yang ditampilkan pada **Gambar 2**.



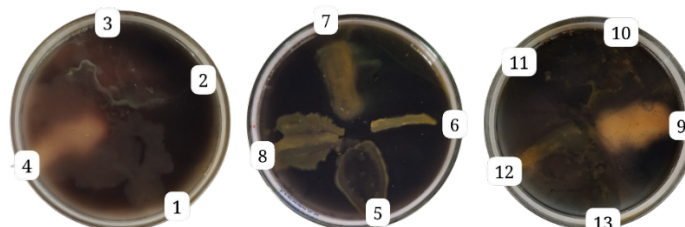
Gambar 2. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM terhadap pati mentah beras

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan substrat pati mentah jagung diperoleh sebanyak 4 isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM, yaitu AT3, AT4, AT7 dan AT9 yang ditampilkan pada **Gambar 3**.



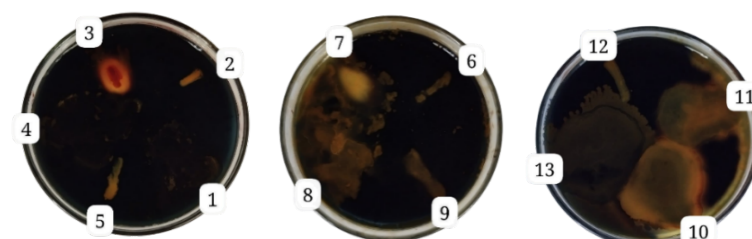
Gambar 3. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM terhadap pati mentah jagung

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan substrat pati mentah singkong diperoleh sebanyak 2 isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM, yaitu AT4 dan AT9 yang ditampilkan pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM terhadap pati mentah singkong

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan substrat pati mentah kentang diperoleh sebanyak 2 isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM, yaitu AT3 dan AT7 yang ditampilkan pada **Gambar 5**.



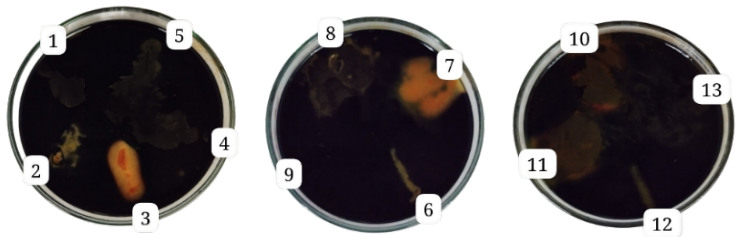
Gambar 5. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM terhadap pati mentah kentang

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan substrat pati mentah gandum diperoleh sebanyak 1 isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM, yaitu AT3 yang ditampilkan pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM terhadap pati mentah gandum

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan substrat pati mentah sagu diperoleh sebanyak 2 isolat bakteri yang mampu menghasilkan APPM, yaitu AT3 dan AT7 yang ditampilkan pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM terhadap pati mentah sagu

Seleksi bakteri penghasil APPM dengan menggunakan substrat pati mentah sagu
Hasil seleksi bakteri penghasil APPM pada 13 isolat bakteri disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil seleksi bakteri penghasil APPM

Kode	Pati Mentah					
	Beras	Jagung	Singkong	Kentang	Gandum	Sagu
AT1	-	-	-	-	-	-
AT2	-	-	-	-	-	-
AT3	+	+	-	+	+	+
AT4	+	+	+	-	-	-
AT5	-	-	-	-	-	-
AT6	-	-	-	-	-	-
AT7	+	+	-	+	-	+
AT8	-	-	-	-	-	-
AT9	+	+	+	-	-	-
AT10	-	-	-	-	-	-
AT11	-	-	-	-	-	-
AT12	-	-	-	-	-	-
AT13	-	-	-	-	-	-

Berdasarkan **Tabel 1**, menunjukkan sebanyak 4 isolat yang mampu menghasilkan APPM, yaitu, AT3, AT4, AT7 dan AT9 dengan kode isolat AT3 dapat menghasilkan APPM pada pati mentah beras, jagung, kentang, gandum dan sagu.

4. KESIMPULAN

Sebanyak 4 isolat bakteri dari air galian bekas tambang batu bara yang dapat menghasilkan APPM dengan kode isolat AT3, AT4, AT7 dan AT9. Kode isolat bakteri AT3 menghasilkan APPM pada pati mentah beras, jagung, kentang, gandum dan sagu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wahyudiati, D. *Biokimia*. Mataram: Leppim Mataram. **2017**.
2. Juniarti. *Enzim: Mesin Molekuler Penggerak Kehidupan*. Jakarta: Universitas Yasri. **2024**.
3. Hamid, B.; Bashir, Z.; Yattoo, A. M.; Mohiddin, F., Majeed, N.; Bansal, M.; Poczai, P.; Almalki, W. A.; Sayyed, R. Z.; Shati, A. A.; & Alfaiti, M. Y. Cold-Active Enzymes and Their Potential Industrial Applications-A Review. *Molecules* **2022**, 27(18), 1-17.
4. Fitriani, S.; Yusmarini, Riftyan, E.; Saputra, E.; & Chafiatun Rohmah, M. C. Karakteristik dan Profil Pasta Pati Sagu Modifikasi Prigelatinisasi pada Suhu yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* **2023**, 16(2), 104-115.
5. Khetkorn, W.; Phonlamai, A.; Sakdapetsiri, C.; Kitpreechavanich, V.; & Lomthong, T. A Low-Cost Production, Characterization, and Application of Raw Starch Degrading Enzyme from the Thermophilic Filamentous Bacterium, *Laceyella sacchari* P43. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* **2024**, 12(3), 153-161.
6. Shofiyah, S. S.; Yuliani, D.; Widya, N.; Sarian, F. D.; Puspasari, F.; Radjasa, O. K.; Ihsanawati; & Natalia, D. Isolation, Expression, and Characterization of Raw Starch Degrading α -Amylase from a Marine Lake *Bacillus megaterium* NL3. *Heliyon* **2020**, 6(12), 1-8.
7. Haiyan S.; Xiangyang Ge.; Lu W.; Pingjuan Z.; & Ming P. Microbial Production of Raw Starch Digesting Enzymes. *African Journal of Biotechnology* **2009**, 8(9), 1734-1739.
8. Frima, F. K.; Satiyarti, R. B.; Anggraini, Y., Syafitri, E.; & Rini, I. A. Characteristics of Raw-Starch Degrading Amylase Bacteria from Natar Hot Spring Lampung. *Journal of Scientific and Applied Chemistry* **2020**, 23(7), 238 - 243.
9. Putri, A. A.; Astuti, W., Pratiwi, D. R. Aktivitas Amilase Pendegradasi Pati Mentah dari Bakteri Tanah Tempat Pembuangan Akhir Bukit Pinang. *Jurnal Atomik* **2024**, 9(2), 57-61.
10. Taib, E. N.; Maya, H.; habirah, R.; & Siregar, F. R. Isolasi dan Identifikasi Mikroba pada Tanah Bekas Pertumbuhan Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Biologi Edukasi* **2023**, 15(2), 96-104.
11. Nurlila, R. U.; & Malik, N. *Pengantar Mikrobiologi*. Purbalingga: Eureka Media Aksara. **2024**.
12. Komari, N. & Susilo, T. B. *Enzimologi: Macam, Fungsi, dan Aplikasi Enzim*. Banjarbaru: CV. Banyubening Cipta Sejahtera. **2021**.