

RINGKASAN

Amilase merupakan salah satu enzim yang paling banyak digunakan di berbagai bidang industri, menyumbang 25–30% dari kebutuhan pasar enzim global. Namun, sebagian besar enzim mengalami denaturasi pada suhu tinggi, sehingga industri memerlukan enzim yang bersifat termostabil. Salah satu sumber potensial untuk mendapatkan enzim termostabil adalah dari bakteri termofilik yang hidup di lingkungan ekstrem seperti sumber air panas. Pancuran Pitu, Baturraden, Banyumas, Jawa Tengah, merupakan salah satu lokasi yang belum banyak dieksplorasi sebagai habitat bakteri termofilik penghasil amilase termostabil. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengisolasi bakteri termofilik penghasil amilase termostabil dari Pancuran Pitu, mengetahui aktivitas amilolitik dari bakteri termofilik penghasil amilase termostabil pada berbagai suhu, dan mengidentifikasi bakteri termofilik penghasil amilase termostabil berdasarkan karakter fenotipik dan genotipik.

Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan survei dan eksperimen menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dua faktor, yaitu jenis isolat dan suhu inkubasi, dengan tiga kali ulangan. Parameter utama yang diamati adalah indeks amilolitik, sedangkan parameter pendukung berupa identitas isolat bakteri berdasarkan karakter fenotipik dan genotipik. Data hasil eksperimen dianalisis menggunakan uji ANOVA pada tingkat signifikansi 95%, dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

Sebanyak delapan isolat bakteri termofilik berhasil diperoleh dan enam isolat diantaranya menunjukkan aktivitas amilolitik. Dua isolat terpilih, A2P61 dan B2P51, menunjukkan indeks amilolitik tertinggi sebesar 2,059 dan 1,228 dan stabil pada kisaran suhu 45-60°C, dengan aktivitas enzim amilase optimum pada suhu 55°C. Identifikasi fenotipik menunjukkan kedua isolat merupakan bakteri Gram positif, berbentuk basil, motil, serta mampu tumbuh pada suhu tinggi sekitar 50-60°C dan pH netral hingga basa. Hasil analisis sekuen gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat A2P61 termasuk dalam spesies *Bacillus licheniformis*, sedangkan isolat B2P51 termasuk ke dalam spesies *Bacillus* sp. Penelitian ini membuktikan bahwa Pancuran Pitu merupakan habitat potensial bagi bakteri termofilik penghasil amilase termostabil yang berpotensi untuk aplikasi di bidang industri.

Kata Kunci : amilase, bakteri amilolitik, bakteri termofilik, sumber air panas

SUMMARY

Amylase is one of the most widely used enzymes in various industrial sectors, contributing for 25–30% of the global enzyme market. However, most enzymes are denaturated at high temperatures, making thermostable enzymes are required in industrial processes. Thermophilic bacteria from extreme environments such as hot springs are potential sources of thermostable enzymes. Pancuran Pitu, located in Baturraden, Central Java, is a hot spring that has not been widely explored as a habitat for thermophilic, amylase-producing bacteria. This research aims to isolate thermostable amylase-producing thermophilic bacteria from Pancuran Pitu, evaluate the amylolytic activity of the bacteria at different temperatures, and identify the bacteria based on phenotypic and genotypic characteristics.

This study employed both survey and experimental approaches using a factorial completely randomized design (CRD) with two factors i.e. bacterial isolate and incubation temperature, with three replications. The main parameter observed was the amylolytic index, while supporting parameters included bacterial isolate identity according to phenotypic and genotypic characters. Experimental data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) at a 95% significance level, followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

A total of eight thermophilic bacterial isolates were successfully obtained, six bacterial isolates exhibited amylolytic activity. Two selected isolates, A2P61 and B2P51, demonstrated the highest amylolytic indices i.e. 2,059; 1,228 respectively. The amylolytic activity was stable at 45 until 60°C, with optimal amylase activity at 55°C. Phenotypic characterization revealed that both isolates are Gram-positive, rod-shaped, motile bacteria capable of growing at high temperatures (50-60°C) and at neutral to alkaline pH. 16S rRNA gene sequence analysis resulted that isolate A2P61 as *Bacillus licheniformis*, while isolate B2P51 was classified within the *Bacillus* genus. These findings demonstrate that Pancuran Pitu is a potential habitat for thermophilic, thermostable amylase-producing bacteria with promising industrial applications.

Keywords: *amylase, amylolytic bacteria, hot springs, thermophilic bacteria*