

**BAKTERI TERMOFILIK YANG BERPOTENSI
MENGHASILKAN KERATINASE DARI SUMBER
AIR PANAS AIR PUTIH LEBONG BENGKULU**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya**

Oleh :

NERA ISYA OCTAVIANI

08041382126090



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2025

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu

Nama Mahasiswa : Nera Isya Octaviani

NIM : 08041382126090

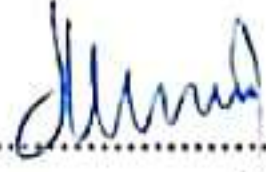
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya pada Tanggal Maret 2025 dan telah di perbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Indralaya, Maret 2025

Pembimbing :

1. Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(..........)

Penguji :

1. Prof. Dr. Salni, M.Si.
NIP. 196608231993031002

(..........)

2. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si.
NIP. 197504272000122001

(..........)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya



Dr. Laila Hanum, S.Si, M.Si.
NIP. 197308311998022001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nera Isya Octaviani
Nim : 08041382126090
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Biologi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan Strata Satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama semua sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, Maret 2025

Penulis,



Nera Isya Octaviani

NIM. 08041382126090

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu

Nama Mahasiswa : Nera Isya Octaviani

NIM : 08041382126090


Jurusan : Biologi

Telah disidangkan pada tanggal 11 Maret 2025.

Indralaya, Maret 2025

Pembimbing :

1. Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

(..........)

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nera Isya Octaviani
Nim : 08041382126090
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "Hak bebas (*non-exclusively royalty-free right*)" atas karya ilmiah saya yang berjudul:

"Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu"

Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*data base*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Maret 2025
Penulis,



Nera Isya Octaviani
NIM. 08041382126090

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayat-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Karya ini kupersembahkan kepada:

- Allah SWT atas segala Nikmat, Rahmat dan Kekuatan-Nya.
- Rasulullah Muhammad SAW. Suri Tauladan bagi setiap insan
- Orangtua saya tercinta (Bapak Amirudin dan Ibu Waida) serta kedua adik kecil saya dan keluarga besar.
- Dosen pembimbing Akademik sekaligus dosen Pembimbing Skripsi saya, Ibu Dra. Muharni, M.Si yang telah memberikan bimbingan serta menuntun saya dalam banyak hal selama perkuliahan maupun tugas akhir.
- Diri saya sendiri
- Teman satu angkatan Biologi 2021
- Semua orang yang terlibat dalam proses saya

MOTTO

“Tidak ada kemudahan tanpa doa, tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras”

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah 286)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu**” sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Terima kasih kepada kedua orang tua dan adik-adik penulis yaang sudah memberikan dukungan dan juga semangat baik secara fisik maupun materi selama proses perkuliahan berlangsung. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Muharni, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran dan nasihat selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Prof. Dr. Salni, M.Si. dan Dr. Elisa Nurnawati, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa berkat bantuan dari berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Hermansyah, M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
2. Dr. Laila Hanum, S.Si, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

3. Dra. Muharni, M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, arahan dan nasehatnya selama proses perkuliahan.
4. Kedua orang tua saya tercinta, bapak Amirudin dan Ibu Waida yang dengan segala pengorbanannya, kerja keras, doa dan kasih sayang tulusnya yang selalu mendukung saya dalam setiap langkah. Meski mereka tak sempat merasakan pendidikan di bangku perkuliahan tapi tidak pernah lelah mengusahakan yang terbaik untuk saya. Terimakasih berkat kalian saya bisa sampai di titik ini, orangtua hebatku.
5. Kak Agus Wahyudi, S.Si. Selaku analis Laboratorium Genetika dan Bioteknologi Jurusan Biologi juga sebagai kakak yang selalu mengajarkan berbagai ilmu dan pengalamannya selama proses penelitian dan penyusunan tugas akhir.
6. Ibu Rosmania, S.T. selaku analis Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi yang membantu penulis selama proses penelitian berlangsung.
7. Seluruh staff Dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
8. Seseorang yang tak kalah penting Bagas raka wirayudha salah satu penyemangat karena selalu ada dalam suka maupun duka, yang selalu membantu dan menemani penulis sampai bisa menyelesaikan tugas akhir ini.

9. Teman-teman tersayang saya dari maba sampai sekarang Ika septia reshan dan Anggun hayadul fitri yang telah memberikan waktu dan tenaga selama proses perkuliahan.
10. Rekan satu topik tugas akhir Made dewi suri dan Khairatul hasanah yang telah berjuang bersama.
11. Teman-teman Biologi angkatan 2021 serta pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi civitas akademik maupun masyarakat umum. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga kritik dan saran terkait skripsi ini sangat diterima untuk kebaikan di masa yang akan datang.

Indralaya, Maret 2025

Nera Isya Octaviani
NIM. 08041382126090

Thermophilic bacteria with the potential to produce keratinase from a hot spring water source in Lebong Bengkulu

Nera Isya Octaviani

08041382126090

SUMMARY

The abundance of keratin in nature leads to serious problems because keratin is a type of protein that is difficult to degrade. Keratinase, a specific type of proteolytic enzyme, is used as an alternative for keratin waste management, with thermophilic bacteria as potential organisms for producing thermally stable keratinase enzymes. One of the hot springs located in North Lebong District, Lebong regency, Bengkulu features a hot spring with temperatures of 100-115°C, which allows for the growth of thermophilic bacteria. However, no research has been conducted at this hot spring, resulting in a lack of information about thermophilic bacteria in the area. The isolation and molecular identification of thermophilic bacteria from the hot water source in Air Putih Lebong, Bengkulu is necessary to obtain thermophilic bacteria with the potential to produce keratinase. The objective of this research is to acquire thermophilic bacteria capable of producing keratinase and to understand the phylogenetic relationships of these thermophilic bacterial species. This study will be conducted from August 2024 to December 2024 at the Genetics and Biotechnology Laboratory, Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya. The research stages include the selection of keratinolytic bacteria, macroscopic and microscopic characterization of the bacteria, molecular identification of the bacteria, and data analysis and presentation. Based on the result, four isolates were found to have keratinase activity, indicated by the formation of clear zones around the bacterial colonies growing on keratin media. The morphological characteristics of the colonies obtained were regular in shape, with colony colors ranging from white to yellowish-white, exhibiting umbonate and flat elevations with varied edges. The morphological characteristics of the cells revealed that the bacteria are gram positive with a *bacillus* shape and possess endospores. The fourth isolate, after identification, was found to have the closest phylogenetic relationship with *Bacillus licheniformis* strain ATCC 14580 and *Bacillus mojavensis* strain NBRC 16718.

Kata Kunci : Keratinase, Thermophilic bacteria, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mojavensis*.

Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase dari Sumber Air Panas Air Putih Lebong Bengkulu

Nera Isya Octaviani

08041382126090

RINGKASAN

Keberadaan keratin yang melimpah di alam menyebabkan permasalahan yang cukup serius, dikarenakan keratin tergolong dalam protein yang sulit terurai. Keratinase yang merupakan jenis enzim proteolitik spesifik digunakan sebagai alternatif dalam pengelolaan limbah keratin, dengan menggunakan bakteri termofilik sebagai organisme yang berpotensi dalam menghasilkan enzim keratinase dan bersifat termostabil. Salah satu sumber air panas yang berada di Kecamatan Lebong Utara, Kabupaten Lebong Bengkulu memiliki sumber air panas dengan suhu 100-105°C yang memungkinkan untuk pertumbuhan bakteri termofilik. Namun pada sumber air panas ini belum pernah dilakukan penelitian sehingga belum adanya informasi mengenai bakteri termofilik dikawasan tersebut. Isolasi dan Identifikasi molekuler bakteri termofilik dari sumber air panas Air putih Lebong Bengkulu perlu dilakukan agar didapatkan bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase serta mengetahui kekerabatan spesies bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2024 sampai dengan Desember 2024 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya. Tahapan penelitian terdiri dari seleksi kemampuan bakteri keratinolitik, karakterisasi bakteri secara makroskopis dan mikroskopis, identifikasi bakteri secara molekuler serta analisis dan penyajian data. Berdasarkan hasil didapatkan 4 isolat yang memiliki aktivitas keratinase ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media keratin. Karakterisasi bakteri secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop, dengan karakter morfologi koloni yang didapatkan memiliki bentuk *irregular*, warna koloni dari putih sampai putih kekuningan dengan elevasi *umbonate* dan *flat* serta tepian yang bervariasi. Karakter morfologi sel didapatkan bakteri memiliki sifat gram positif dengan bentuk sel *bacill* dan memiliki endospora. Keempat isolat setelah dilakukan identifikasi memiliki hubungan kekerabatan paling dekat dengan spesies *Bacillus licheniformis* strain ATCC 14580 dan *Bacillus mojavensis* strain NBRC 16718.

Kata Kunci : Keratinase, Bakteri Termofilik, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mojavensis*

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
RINGKASAN.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Sumber Air Panas Air Putih.....	6
2.2 Keratinase	7
2.3 Bakteri Keratinolitik.....	9
2.4 Bakteri Termofilik.....	10
2.5 PCR.....	11
2.6 Elektroforesis	12
2.7 Identifikasi Molekuler	13
2.8 Gen 16S rRNA	14
2.9 Analisis Filogenetik.....	15
BAB III METODE PENELITIAN	17
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	17

3.2.	Alat dan Bahan	17
3.2.1	Alat	17
3.2.2	Bahan	17
3.3	Cara Kerja	18
3.3.1	Seleksi Kemampuan Bakteri Penghasil Keratinase pada Media Keratin 18	
3.3.5	Karakterisasi Bakteri Termofilik.....	19
3.3.6	Identifikasi Bakteri secara Molekuler.....	21
3.3.7	Analisis dan Penyajian Data	24
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1	Seleksi Bakteri Termofilik.....	26
4.2	Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Keratinase	28
4.2.1	Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Termofilik Penghasil Keratinase 28	
4.2.2	Pengamatan Morfologi Sel Bakteri Termofilik Penghasil Keratinase ..	30
4.3	Hasil Identifikasi Bakteri Secara Molekuler	33
4.3.1	Ekstraksi DNA Genom Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase	33
4.3.2	Amplifikasi Gen 16S rRNA Isolat Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase	36
4.3.3	Identifikasi dan Analisis Kekerabatan Isolat Bakteri Termofilik yang Berpotensi Menghasilkan Keratinase.....	37
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1	Kesimpulan	42
5.2	Saran	42
	DAFTAR PUSTAKA.....	43
	LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Primer Forward dan Reverse	9
Tabel 4.1	Hasil Seleksi Bakteri Termofilik	27
Tabel 4.2	Hasil Pengamatan Morfologi Koloni	30
Tabel 4.3	Hasil Pengukuran Secara Kuantitatif menggunakan Nanodrop	36
Tabel 4.4	Hasil BLAST nukleotida gen 16S rRNAisolat bakteri termofilik penghasil keratinase pada situs NCBI	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Peta Lokasi wisata Air Putih.....	6
Gambar 2.2	Struktur Keratin.....	8
Gambar 2.3	Mekanisme Degradasi Keratin.....	8
Gambar 2.4	Peta Gen 16S rRNA	14
Gambar 2.5	Pohon Kekerabatan dan polarisasi karakter dalam analisis filogenetik.....	16
Gambar 4.1	Aktivitas keratinase isolat bakteri termofilik pada medium yang mengandung substrat keratin pada suhu 50°C dan waktu inkubasi 48 jam	28
Gambar 4.2	Morfologi Koloni Bakteri Termofilik Penghasil Keratinase menggunakan mikroskop stereo pada perbesaran 10X.....	30
Gambar 4.3	Morfologi sel dengan Pewarnaan Gram pada Perbesaran 1000X.	31
Gambar 4.4	Morfologi sel dengan Pewarnaan Endopsora pada Perbesaran 1000X.....	32
Gambar 4.5	Elektroforegram hasil ekstraksi DNA genom isolat bakteri termofilik penghasil keratinase pada agarose 1%.....	34
Gambar 4.6	Elektroforesis DNA hasil PCR gen 16S rRNA isolat bakteri termofilik penghasil keratinase pada agarose 2%.....	36
Gambar 4.7	Pohon filogenetik isolat bakteri termofilik penghasil keratinase berdasarkan analisis <i>neighbor-joining</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Media Keratin	49
Lampiran 2. Komposisi Gel Agarose dan Buffer TBE 1X50	51
Lampiran 3. Perhitungan Diameter Zona Bening dan Indeks Keratinolitik	52
Lampiran 4. Hasil uji Kuantitatif dengan <i>Nanodrop Lite, Thermo Scientific</i>	54
Lampiran 5. Jarak Genetik dengan metode <i>Pairwais Distance</i> Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Keratinase.....	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keratin merupakan protein yang paling melimpah di alam setelah selulosa dan kitin. Sumber keratin sangat banyak ditemukan mulai dari rambut, kuku, wol, bulu, tanduk dan gigi. Keratin tergolong dalam protein berserat yang keras dengan struktur kompleks dan sangat stabil yang dikenal dengan kekuatan dan ketahanannya terhadap kerusakan. Protein ini sulit terurai sehingga keberadaannya yang melimpah di alam dapat menyebabkan masalah yang cukup serius. Hal ini menjadikan keratin sebagai salah satu permasalahan yang berdampak buruk terhadap lingkungan bahkan juga kesehatan (Sypka *et al.*, 2021).

Keratinase merupakan jenis enzim proteolitik spesifik yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis protein berserat yang terdapat dalam keratin. Keratinase lebih efektif daripada protease umum seperti tripsin dan pepsin, karena mereka memiliki kemampuan khusus untuk menghidrolisis keratin dengan struktur keras dan kompleks yang menunjukkan ketahanan tinggi terhadap kerusakan (Wang *et al.*, 2017). Proses degradasi keratinase dilakukan dengan memecah limbah keratin menjadi hidrolisat protein yang dapat menghasilkan produk berupa asam amino. Produksi asam amino dari pengelolaan limbah keratin memiliki aplikasi yang luas dalam berbagai bidang industri, lingkungan maupun bioteknologi (Menezes *et al.*, 2021).

Keratinase memiliki banyak potensi yang dapat di aplikasikan di berbagai industri seperti pertanian, pengelolaan kulit, detergen dan tekstil, kedokteran dan

farmasi, industri kosmetik dan lainnya (Sharma *et al.*, 2022). Pemanfaatan keratinase juga dapat di jumpai dalam bidang bioteknologi. Salah satu aplikasi yang menarik perhatian saat ini adalah pemanfaatan keratinase dalam pengendalian biofilm. Biofilm berbasis keratin mempunyai potensi yang besar dan penting bagi pembangunan berkelanjutan (Wang dan Tong, 2022). Seperti penelitian yang telah di lakukan oleh Tesfaye *et al.* (2018), menunjukkan bahwa produksi biofilm dari keratin yang diperoleh dari bulu ayam menjadi alternatif yang hemat biaya dan ramah lingkungan.

Mikroorganisme yang memproduksi keratinase dikelompokkan menjadi tiga yaitu bakteri, jamur dan Actinomycetes (Tamreihao *et al.*, 2019). Diantara organisme-organisme ini, bakteri merupakan solusi yang menjanjikan untuk memproduksi keratinase. Bakteri dapat menjadi sumber enzim terbaik karena kemampuannya untuk dapat dikultur dalam jumlah besar dan memerlukan waktu yang relatif singkat serta stabilitas yang lebih tinggi (Fachrial *et al.*, 2020).

Bakteri termofilik memiliki potensi untuk memproduksi enzim yang bersifat termostabil karena bakteri ini dapat tumbuh optimal di atas suhu 45°C yang banyak ditemukan pada sumber air panas (Ginting *et al.*, 2023). Penelitian terdahulu dilakukan oleh Hasan *et al.* (2020), menunjukkan bahwa bakteri termofilik penghasil keratinase dominan dari spesies *Bacillus* spp. Seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* dan spesies lain seperti *Nesterenkonia* sp. dan *Kocuria* sp. Kebutuhan akan bakteri yang dapat memproduksi enzim termostabil terus meningkat setiap tahunnya. Hal ini menyebabkan peningkatan pencarian enzim termostabil yang berasal dari bakteri termofilik, khususnya dari

sumber-sumber air panas yang masih jarang dilakukan penelitian (Nafia *et al.*, 2021).

Identifikasi molekuler merupakan identifikasi berdasarkan analisis genetik. Teknik ini dinilai lebih cepat dan akurat dalam mengidentifikasi spesies bakteri termasuk bakteri yang sulit di kultur. Sekuen gen 16S rRNA merupakan penanda molekuler yang banyak digunakan dalam identifikasi, filogenetik dan klasifikasi bakteri karena memiliki sifat ubikuitas terhadap semua bakteri serta fungsi yang identik (Prastio *et al.*, 2022). Menurut Barus (2019), sekuen 16S rRNA memiliki sifat universal dan terdapat pada semua materi genetik bakteri. Daerah pada gen 16S rRNA ini dapat dimanfaatkan untuk melakukan identifikasi pada bakteri yang belum diketahui jenisnya serta dapat menganalisa hubungan filogenetik.

Sumber air panas Air Putih yang terletak di Kecamatan Lebong Utara, Kabupaten Lebong, Bengkulu merupakan salah satu sumber air panas yang memiliki suhu tinggi 100-115°C (Farid *et al.*, 2008). Sumber air panas ini memiliki suhu yang memungkinkan untuk pertumbuhan bakteri termofilik. Namun, pada sumber air panas ini belum pernah dilakukan penelitian sehingga belum adanya informasi mengenai bakteri termofilik dikawasan tersebut. Pada penelitian ini diharapkan dapat ditemukan bakteri termofilik khususnya yang berpotensi menghasilkan keratinase. Untuk itu perlu dilakukan isolasi dan identifikasi molekuler bakteri termofilik dari sumber air panas ini agar dapat diketahui jenis bakteri termofilik yang memiliki potensi dalam menghasilkan keratinase.

1.2 Rumusan Masalah

Kebutuhan akan enzim termostabil terus meningkat setiap waktunya oleh berbagai industri-industri. Untuk memenuhi permintaan industri yang terus meningkat maka perlu terus dilakukan pencarian terhadap enzim-enzim yang bersifat termostabil. Untuk itu, dilakukan Isolasi dan Identifikasi molekuler bakteri termofilik penghasil keratinase dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase dari sumber air panas Air putih Lebong Bengkulu?
2. Bagaimana kekerabatan spesies bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mendapatkan bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu.
2. Untuk mengetahui kekerabatan spesies bakteri termofilik dari sumber air panas Air Putih Lebong Bengkulu melalui rekonstruksi pohon filogenetik.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang bakteri termofilik yang berpotensi menghasilkan keratinase, yang selanjutnya dapat bermanfaat untuk mengurangi limbah-limbah keratin yang dapat merusak

lingkungan serta dapat menghasilkan produk yang dapat di aplikasikan dalam berbagai bidang industri untuk memenuhi kebutuhan akan perkembangan teknologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., sativa, H. A., Nurhayati, T dan Nurilmala, M. (2019). Pemanfaatan DNA Barcoding untuk Ketertelusuran Label berbagai Produk Olahan Ikan Surimi Komersial. *Jurnal Pengelolaan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(3),508-519.
- Agustina, N., Asih, E. N. N dan Kartika, A. G. D. (2022). Jenis Gram dan Morfologi Bakteri Air Baku Garam. *Jurnal Ilmu Kelautan Lesser Sunda*, 2(1),1-8.
- Allen, A. G., Barthelson, K., dan Lardelli, M. (2022). Phape: a plasmid for production of dna size marker ladders for gel electrophoresis.
- Ameri, N. M. A dan Alyousif, N. A. (2024). Isolation, screening and molecular characterization using 16S rDNA gene of feather degrading bacteria isolated from poultry soil in Basrah Province, Iraq. *BIODIVERSITAS*, 25(9),3217-3226.
- Aulia, S. L., Suwignyo, R. A dan Hasmeda, M. (2021). Optimasi Suhu Anneling untuk Amplifikasi DNA Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Journal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 18(1):44-54.
- Bactial, M. O., Arsian, S dan Adiguzel, G. A. Isolation and characterization of thermophilic bacteria from geothermal areas in Turkey nad preliminary research on biothenologically important enzyme production. *Geomicrobiology journal*, 34(1),53-62.
- Baker, G. C, Smith, J. J dan Cowan, D. A. (2003). Review and Re analysis of domain specific 16S primer. *Journal of Microbiological Methods*, 55:541.
- Barak, H., Fuchs, N., Liddor-Naim, M., Nir, I., Sivan, A., dan Kushmaro, A. (2023). Microbial dark matter sequences verification in amplicon sequencing and environmental metagenomics data. *Frontiers in Microbiology*, 14.
- Barus, T. (2019). Identifikasi dan Keragaman Genetik Bakteri Asam Laktat dari tapai Singkong berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Hayati*, 2(2),46-52.
- Bhene, P., vertygo, S., Sabuna, C., Tang, B. Y., Swari, W. D dan Banggut, E. D. (2024). Uji katalitik enzim keratinase, lipase dan selulase isolat Actinomycetes SD-5 dari perairan Pantai Mangrove Oesapa, Kupang yang berpotensi dikembangkan sebagai imbuhan pakan multienzim. *Jurnal Pertanian Terapan*, 29(2),238-252.

- Bolu, W. O. R. A. S., Setyati, W. A dan Sedjati, S. (2024). Identifikasi Molekuler dan Uji Potensi *Khamir* Laut sebagai Penghasil Enzim Esktraseluler. *Journal of Marine Research*, 13(2),257-264.
- Boukeroui, Y., Isabel, M., Siso, G., Eugenia, M dan Casto, D. (2024). Karakterisasi, analisis sekuens genom utuh dan produksi protease dari strain termofilik baru *Bacillus licheniformis* yang diisolasi dari sumber air panad Debagh, Aljazair. *International Microbiology*.
- Cao, S., Li, D., Ma, X., Xin, Q., Song, J., Lu, F dan Li, Y. A novel unhairing enzyme produced by heterologous expression of keratinase gene (*kerT*) in *Bacillus subtilis*. *World Journal of Microbiology and Biothechnology*, 35, 122.
- Djankpa, F. T., Wiafe, G. A., Boateng, B. N., Tsegah, K. M., Essien-Baidoo, S., Ulanja, M. B dan Asante, G. (2021). Assessment of corn starch as substitute for agarose in dna gel electrophoresis. *BMC Research Notes*, 14(1).
- Fachrial, E.,Putri, R. R. J. S., Lister, I. N. E., Anggraini, S., Harmileni, Nugroho, T. T dan Saryono. (2020). Molecular identification of cellulase and protease production *Bacillus tequilensis* UTMSA14 isolated from the geothermal hot spring in Lau Sidebuk Debuk, North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, 21(10), 4719-4725.
- Fakhfakh, N., Kanoun, S., Manni, L dan Nasri, M. (2009). Production and Biochemical and Molecular characterization of Keratinolytic Serine Protease from Chicken Feather Degrading *Bacillus licheniformis* Rpk. *Journal Microbiology*, 55:427-436.
- Farid, M., Hadi, A. I dan Fetusianti. (2008). ANALISIS RESISTIVITAS BANTUAN BERDASARKAN DATA GEOLISTIK UNTUK MEMPREDIKSI SUMBER AIR PANAS BUMI. *Jurnal Sains MIPA*, 14(2), 79-84.
- Fauzaan, M. F., Wijanarka, Kusdiantini, E., Budiharjo, A dan Ferniah, R. S. (2022). Potensi rizobakteri pembentuk endopsora dari brokoli (*Brassica oleracea var. Italica*) sebagai agen biokontrol *Ralstonia solanacearum* serta biofertilizer. *Bioma*, 24(2), 138-146.
- Gahatraj, I., Borah, A., Seorang, Pandey, P., Bhattacharya, Mazumdar, S., Singh, B dan Kumar, S. (2023). Current progress and Biotechnological Applications of Microbial Keratinases. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 17(2), 732-748.
- Ginting, C. N., Piska, F., Harmileni dan Fachrial, E. (2023). Identifikasi molekuler bakteri termofilik dengan antimikroba aktivitas terisolasi dari sumber air panas di Sumatera Utara, Indonesia. *Jurnal ilmiah terapan*, 24(2), 752-758.

- Haddar, A., Kamoun, A. S., Fakhfakh, N., Hmidet, N dan Nasri, M. (2010). Characterization of detergent stable and feather degrading serine protease from *Bacillus mojavensis* A21. *Biochemical Engineering Journal*, 51:53-63.
- Hasan, A. M. E. D. (2012). A simple and inexpensive procedure for chromosomal DNA extraction form *steptococcus thermophilus* strains. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11(1):13-18.
- Hasan, M. A., Fotouh, D. A., Omer, A. M., Tamer, T. M dan Abbas, E. (2020). Comprehensive insights into microbial keratinase and their implication in various biotechnological and industrial sectors : A review. *Internation Journal of Biological Macromolecules*, 567-583.
- Hengkengbala, S. L., Lintang, R. A. J., Sumilat, D. A., Mangindaan, R. E. P., Ginting, E. L dan Tumembouw, S. (2021). Karakteristik Morfologi dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Simbion Nudibranch. *Jurnal Pesisir dan Laut tropis*, 9(3):83-94.
- Hidayat, T dan Pancoro, A. (2008). Kajian Filogenetika Molekuler dan Peranannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Angrek. *Jurnal Agro Biogen*, 4(1), 35-40.
- Hidayat, T., Mardiah, I dan Setiani, N. A. (2024). Efektivitas kondisi suhu *Anneling* PCR *Surfactan Synthase* dari bakteri *Bacillus cereus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 13(1), 39-48.
- Ihsan, Y. N., Fellatami, K., Permana, R., Mulyani, Y dan Pribadi, T. D. K. (2020). Analisis Bakteri Pereduksi Konsentrasi Logam Timbal Pb (CH₃COO)₂ menggunakan Gen 16S Rrna. *Jurnal Kelautan*, 13(2), 151-162.
- Intagun, W dan Kanoksilapatham, W. (2017). A Review : Biodegradation and Applications of Keratin Degrading Microorganisms and Keratinolytic Enzymes, Focusing on Thermophiles and Thermostable Serine Proteases. *American Journal of Applied Sciences*, 14(11), 1016-1023.
- Jannah, S. N., Hanifa, Y. R., Utomo, A. B., Prambodo, A.K.D dan Lunggani, A. T. (2021). Isolation and Potential of Bacterial Hydrolase Enzymes Simbion *Padina* sp. from Lengkuas Beach Belitung. *Bioma*, 23(1), 11-17.
- Karni, I., Nalurita, I., Pravitri, K. G dan Naufali, M. N. (2024). Analisis Struktur Genetik dan Filogenetik Bakteri *Lactobacillus plantarum* yang Diisolasi dari Produk Pangan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan Food Scientia*, 4(1), 72-86.
- Kasi, P. P., Suhaeni dan Sasa. (2020). Morphological Characterization of Thermophilic Bacteria Isolate From Pincara Hot Springs. *Jurnal pendidikan dan sains biologi*, 3(2), 51-56.

- Laba, W., Zarowska, B., Chorazyk, D., Pudlo, A., Piegza, M., Kancelista, A., ... dan Kopec, W. (2018). New keratinolytic bacteria in valorization of chicken feather waste. *Amb Express*, 8(1).
- Lapa, S. A., Klochikhina, E. S., Miftakhov, R. A., Zolotov, A. M dan Zasedatelev, A. S. (2020). Multiplex pcr for identification of bacterial pathogens of infectious pneumonia. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 46(5), 859-861.
- Lestari, S. E., Yunita, A., Rahman, R. A., Refrizon dan Sugianto, N. (2022) Aplikasi Metode Magnetik pada Pemetaan Sumber Panas Bumi di Kawasan Wisata Air Putih Lebong, Bengkulu. *Newton-Maxwell Journal og Physics*, 3(2), 2775-5894.
- Mahestri, L., Harpeni, E dan Setyawan, A. Isolasi dan penapisan bakteri termofilik pemecah amilum dan protein dari sumber air panas Way panas Kalianda Lampung Selatan. *Jurnal perikanan dan kelautan*, 26(3), 161-168.
- Maulida, K. Z. R dan Lisdiana, L. (2024). Phenotypic and Genomic Identification of Glyphosate Herbicide Degrading Bacterial Isolate From the Rhizosphere of Chilli Pepper. *Lentera Bio*, 13(20), 253-261.
- Menezes, C. L. A. D., Santos, R. D. C., Boscolo, M., Silva, R. D., Gomes, E dan Silva, R. R. D. (2021). Industrial sustainability of microbial keratinase : production and potential applications. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 37, 86.
- Muktiningsih, Kurniadewi, F dan Orchidae, I. (2016). Isolasi, Amplifikasi dan Sekuensing Fragmen 1,9 Kilobasa Gen Heat Shock Protein 70 *Salmonella enterica* Serovar Typhi. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 1(1):32-40.
- Nafia, S. Z. I., Pujiyanto, S dan Budiharjo, A. (2021). Isolation, screening and molecular identification of Proteolytic thermotolerant bacteria from Nglimut Gonoharjo Kendal hot springs. *Bioma*, 24(1), 30-35.
- Nahrowi, M. (2023). Screening and molecular Identification of 16S rRNA Encoding Genes of Tanase enzyme Production Bacteria from North Lawu Forest. *Jurnal Biologi Edukasi*, 15(1), 37-47.
- Nnolim, N., Okoh, A., dan Nwodo, U. (2020). *Bacillus* sp. fpf-1 produced keratinase with high potential for chicken feather degradation. *Molecules*, 25(7), 1505.
- Noer, S. (2021). Identifikasi bakteri secara molekuler menggunakan 16S rRNA. *Biological Science and Education Journal*, 1(1), 1-6.
- Nuritasari, D., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. N. (2017). Isolasi bakteri termofilik sumber air panas Gedongsongo dengan media pengaya MB

- (Minimal Broth) dan TS (Taoge Sukrosa) serta identifikasi fenotip dan genotip. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(2), 84–91.
- Ochman, H dan Caro-Quintero, A. (2016). Encyclopedia of Evolutionary Biology. *Genome Size and structure, Bacterial*, 179-185. Doi:10.1016/b978-0-12-800049-6.00235-3.
- Oktavia, N dan Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan Uji Antagonisme Bakteri Endofit Tapak Dara (*Catharantus Roseus*, L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*, 1(1):6-12.
- Omar, K. B. and Barnard, T. (2019). The occurrence of pathogenic *Escherichia coli* in south african wastewater treatment plants as detected by multiplex pcr. *Water SA*, 36(2), 172.
- Peng, Z., Mao, X., Zhang, J., Du, G dan Chen, J. (2019). Effective biodegradation of chicken feather waste by co cultivation of keratinase production strains. *Microb. Cell Fact*, 18, 84.
- Poucke, M. V. and Peelman, L. (2017). Flexible multi use, pcr based nucleic acid integrity assays based on the ubiquitin c gene.
- Prastio R. A., Isnawati, I dan Rahayu D. A. (2022). Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Tumbuhan Kantong Semar (*Nepenthes gracillis*). *LenteraBio*, 11(2), 255–262.
- Pratiwi, W. M dan Asri, M. T. (2022). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenous Pendegradasi Pestisida Profenofos dan Klorantranilipol di Jombang Jawa Timur. *Journal Unesa*, 11(2):300-309.
- Rahmatullah, W., Novianti, E dan Sari, A. D. L. (2021). Identifikasi Bakteri Udara Menggunakan Teknik Pewarnaan Gram. *Jurnal Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 6(2):83-91.
- Rakhmawati, A., Yulianti, E dan Rohaeti, E. (2014). Seleksi Bakteri Termofilik Selulolitik Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Kaunia*, 10(2), 92-102.
- Reyes, A., Ambita, I. D., Batalon, J. L., Aba, B. L., Cortes, A., Macabecha, C. G dan Montecillo, A. (2018). Isolation and Characterization of Keratinolytic Bacteria from Soil Samples of Poultry Waste Dumping Sites. *International Journal of Agricultural Technology*, 14(7), 1787-1800.
- Rifqi, D dan Mercuriani, I. S. (2024). Desain primer untuk isolasi Gen L-LDH berdasarkan genom *Streptococcus pluranimalium* dan aplikasinya. *Journal of Biological Studies*, 10(1), 89-104.
- Rori, C. A., Kandou, F. E. F dan Tangapo, A. M. (2020). Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mengrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos*, 10(2), 48-55.

- Roy, S.S., Dasgupta, R dan Bagchi, A. (2014). A review on phylogenetic analysis : a journey modern era. *Journal cmb*, 4, 39-45.
- Setiawan, A., Sebastian, A dan Purwesti, Y. A. (2021). Detection of Bacterial Leaf Blight Resistance Genes Xa21 in Local Cultivars of Black and Red Rice in Indonesia (*Oryza sativa* L.). *Vegetalika*, 10(2):120-132.
- Sharma, C., Timorshina, S., osmolovsky, A., Misri, J dan Singh, R. (2022). Chicken Feather Waste Valorization Into Nutritive Protein Hydrolysate : Role of Novel Thermostable Keratinase from *Bacillus pacificus* RSA27. *Frontiers in Microbiology*, 13, 882902.
- Suherman, D., Irdawati, Andrian, R. S. (2024). Growth pattern of thermophilic bacteria isolate SSA-16 from Sapan Sungai Aro hot springs. *Serambi Biologi*, 9(2), 193-198.
- Sumardi, Agustrina, R., Irawan, B dan Selfiana, I. (2018). Pengaruh paparan medan magnet 0,2 mT pada ion logam Fe dan Zn dalam media pertumbuhan terhadap produksi protease *Bacillus* sp. *Jurnal ilmu lingkungan*, 16(2), 173-177.
- Sypka, M., Jodlowska, I dan Bialkowska, A, M. (2021). Keratinases as Versatile Enzymatic Tools for Sustainable Development. *Biomolecules*, 11(12), 1900.
- Tamreihao, K., Mukherjee, S., Khunjamayum, R., Devi, L. I., Asem, R. S dan Ningthoujam, D.S. (2019). Degradasi bulu oleh bakteri keratinolitik dan potensi biofertilisasi untuk produksi pertanian berkelanjutan. *Jorunal Mikrobiol Dasar*, 59, 4–13.
- Tan, T. J., Daniel, J., Victor, H dan Sugata, M. Pengomposan sampah organik dan isolasi bakteri termofil dari kompos. *Jurnal sains dan teknologi*, 7(2), 121-129.
- Tesfaye, T., Sithole, B dan Ramjugernath, D. (2018). Preparation, Characterization and Application of keratin based green biofilm from waste chicken feathers. *Internation journal of chemical sciences*, 16(3), 1-16.
- Tindi, M., Mamangkey, N. G. F dan Wullur, S. (2017). (The DNA Barcode and molecular phylogenetic analysis several Bivalve species from North Sulawesi Waters based on COI gene. *Junal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(2), 32-38.
- Ulucay, O., Gormez, A dan Ozic, C. (2022). Identification, characterization and hydrolase producing performance of thermophilic bacteria : geothermal hot springs in the eastern and southeastern Anatolia Region of Turkey.

- Vrieze, J. D., Pinto, A. J., Sloan, W. T., dan Ijaz, U. Z. (2018). The active microbial community more accurately reflects the anaerobic digestion process: 16s rrna (gene) sequencing as a predictive tool. *Microbiome*, 6(1).
- Wang, R dan Tang, H. (2022). Preparation methods and functional characteristics of regenerated keratin based biofilms. *Journal polimers*, 14(21), 1-9.
- Wangka, M., Wullur, S., Angkou, E. D., Mamuja, J. M., Tumbol, R. A dan Ginting, E. L. (2020). Analisis komunitas bakteri pada sedimen dari pulau Bangka Sulawesi Utara. *Jurnal Imiah Platax*, 8(2), 196-203.
- Wu, W.L., Chen, M.Y., Tu, I.F., Lin, Y.C., Eswarkumar, N., Chen, M.Y., Ho, M.C dan Wu, S.H. (2017). The Discovery of novel heat stable keratinase from *Meiothermus taiwanensis* WR-220 and other extremophiles. *Sci. Rep*, 7, 1-2.
- Yang, L. C., Sun, W., Zhong, Z. W., Liu, J.W., Gao, Q. S., Hu, R.Z dan Zhu, M. (2016). Hierarchical MoO₂/N-doped carbon heteronanowires with high rate and improved long-term performance for lithium-ion batteries. *Journal of Power Sources*, 306, 78-84.
- Zhang, R., Wu, Z., Cui, H., Chai, Y., Hua, C., Wang, P dan Yang, T. (2022). Production of surfactant stable keratinase from *Bacillus cereus* yq15 and its application as detergent additive. *BMC Biotechnology*, 22(1).
- Zuraidah, Wahyuni dan Astuty, E. (2020). Karakteristik morfologi dan uji aktivitas bakteri termofilik dari kawasan wisata air panas Le Seuum. *Jurnal ilmu alam dan lingkungan*, 11(2), 40-47.