

OPTIMASI PERTUMBUHAN BAKTERI TERMOFILIK
Bacillus licheniformis AAL3 DAN *Bacillus licheniformis* SCL2 DALAM
MEMPRODUKSI ENZIM KERATINASE

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di
Jurusan Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya

Oleh:

KHAIRATUL HASANAH

08041282126037



JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2025

HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 Dalam Memproduksi Enzim Keratinase

Nama Mahasiswa : Khairatul Hasanah

NIM : 08041282126037

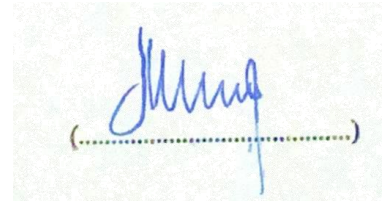
Jurusan : Biologi

Telah disidangkan pada tanggal 11 Maret 2025

Indralaya, Maret 2025

Pembimbing :

Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001



HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Seminar : Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 Dalam Memproduksi Enzim Keratinase

Nama Mahasiswa : Khairatul Hasanah

NIM : 08041282126037

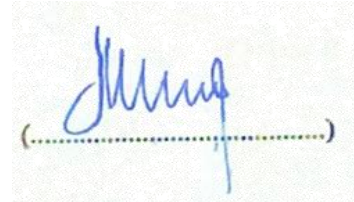
Jurusan : Biologi

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas Sidang Sarjana Jurusan Biologi Fakultas Matematikadan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada Maret 2025 dan telah diperbaiki, diperiksa, serta disetujui sesuai dengan masukan yang diberikan.

Indralaya, Maret 2025

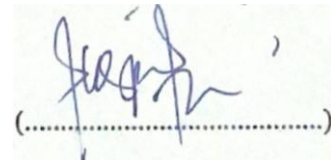
Pembimbing :

Dra. Muharni, M.Si.
NIP. 196306031992032001

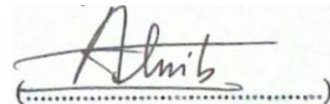


Pembahas :


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



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



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



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

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Khairatul Hasanah
NIM : 08041282126037
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 syarat 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 sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.



Indralaya, 5 Maret 2025

Penulis,



Khairatul Hasanah

NIM. 08041282126037

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama Mahasiswa : Khairatul Hasanah
NIM : 08041282126037
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/
Biologi
Jenis karya : Skripsi

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

“Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 Dalam Memproduksi Enzim Keratinase”

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, 5 Maret 2025
Penulis,



Khairatul Hasanah
NIM. 08041282126037

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan dengan penuh rasa syukur dan hormat kepada Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan saya kesempatan untuk menempuh pendidikan dan mencapai tujuan saya. Saya menyadari bahwa segala kemampuan dan keberhasilan saya adalah karena rahmat dan karunia-Nya.

Saya juga ingin mempersembahkan skripsi ini kepada keluarga saya, yang telah menjadi sumber inspirasi, motivasi, dan dukungan bagi saya selama ini. Khususnya Ayah dan Ibu saya, yang telah memberikan saya kasih sayang, perhatian, dan pendidikan yang baik. Saya berharap bahwa skripsi ini dapat menjadi bukti bahwa saya telah berusaha dengan sungguh-sungguh untuk menjadi anak bungsu yang membanggakan.

Tidak lupa juga Saya persembahkan skripsi ini kepada Kakak-kakak dan Abang saya, yang telah menjadi teladan dan panutan bagi saya. Terima kasih atas segala nasihat, bimbingan, dan dukungan yang telah diberikan kepada saya.

MOTTO

**“"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan,
sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan."**

(Q.S Al Insyirah: 5-6)

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah S.W.T dikarenakan berkat rahmat dan karunia-Nya, maka penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Optimasi Pertumbuhan Bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 Dalam Memproduksi Enzim Keratinase”** sebagai syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Terima kasih kepada Ibu Dra. Muharni, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dukungan, dedikasi, nasihat, dan kesabarannya selama pelaksanaan penelitian serta penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada Ibu Dr. Elisa Nurnawati, M.Si., dan Bapak Prof. Dr. Salni, 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, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.
3. Dr. Elisa Nurnawati, M.Si. selaku Sekretaris Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

4. Doni Setiawan, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang memberikan bimbingan dan arahan selama perkuliahan.
5. Kak Agus Wahyudi, S.Si. sebagai sahabat dan guru yang selalu mengajarkan berbagai ilmu dan pengalamannya selama proses penyusunan tugas akhir berlangsung.
6. Ibu Rosmania, S.T. selaku analis Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi yang membantu penulis selama proses penelitian berlangsung.
7. Seluruh dosen dan staff karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi civitas akademik dan 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, 5 Maret 2025
Penulis,

Khairatul Hasanah
NIM. 08041282126037

OPTIMIZATION OF THE GROWTH OF THERMOPHILIC BACTERIA

Bacillus licheniformis AAL3 AND *Bacillus licheniformis* SCL2 IN

PRODUCING KERATINASE ENZYME

Khairatul Hasanah

08041282126037

SUMMARY

Keratin is a structural protein found in skin, hair, nails, and feathers in animals. The structure of keratin consisting of long and folded polypeptide chains, as well as the presence of disulfide bonds, gives keratin a very stable and difficult to decompose naturally, thus requiring an effective solution for its processing. Keratinolytic microorganisms have the ability to degrade keratin through the production of keratinase enzymes. This enzyme can break down keratin into smaller peptides and amino acids. One group of microorganisms that is promising for keratinase production is thermophilic bacteria. These bacteria can live and reproduce at high temperatures and have high enzyme stability at those temperatures.

This study aims to optimize the growth of *Bacillus licheniformis* AAL3 and *Bacillus licheniformis* SCL2 bacteria isolated from the Air Putih Lebong hot spring, Bengkulu, in producing keratinase enzymes. The focus of this study is to determine the ability of bacteria to produce keratinase quantitatively and to identify optimal conditions, including temperature, pH, and nutrient sources that support enzyme production. This research was conducted from August to December 2024 at the Genetics and Biotechnology Laboratory, and the Microbiology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Indralaya.

The research stages consisted of making liquid cultures, qualitative and quantitative tests of keratinolytic activity, then optimizing temperature, pH, and adding carbon and nitrogen sources. The results of the qualitative test of keratinolytic activity showed that *Bacillus licheniformis* AAL3 had a higher keratinolytic index (5.0) than *Bacillus licheniformis* SCL2 (1.5). Quantitative activity showed that *Bacillus licheniformis* AAL3 produced 1.0074 U/mL of keratinase enzyme, while *Bacillus licheniformis* SCL2 produced 0.7493 U/mL. The optimum temperature for keratinase production in both bacteria was found at 60°C, with a maximum pH at pH 9. The addition of a carbon source in the form of glucose and a nitrogen source in the form of peptone gave the best results in *Bacillus licheniformis* AAL3 bacteria, while *Bacillus licheniformis* SCL2 showed optimal results with the addition of sucrose and yeast extract.

Keywords: Keratin, Keratinase Enzyme, Thermophilic Bacteria.

OPTIMASI PERTUMBUHAN BAKTERI TERMOFILIK
***Bacillus licheniformis* AAL3 DAN *Bacillus licheniformis* SCL2 DALAM**
MEMPRODUKSI ENZIM KERATINASE

Khairatul Hasanah
08041282126037

RINGKASAN

Keratin adalah protein struktural yang terdapat dalam jaringan kulit, rambut, kuku, dan bulu pada hewan. Struktur keratin yang terdiri dari rantai polipeptida yang panjang dan berlipat-lipat, serta adanya ikatan disulfida, memberikan keratin sifat yang sangat stabil dan sulit terurai secara alami, sehingga memerlukan solusi yang efektif untuk pengolahannya. Mikroorganisme keratinolitik, memiliki kemampuan untuk mendegradasi keratin melalui produksi enzim keratinase. Enzim ini dapat memecah keratin menjadi peptida dan asam amino yang lebih kecil. Salah satu kelompok mikroorganisme yang menjanjikan untuk produksi keratinase adalah bakteri termofilik. Bakteri ini dapat hidup dan berkembang biak pada suhu tinggi dan memiliki stabilitas enzim yang tinggi pada suhu tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi pertumbuhan pada bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 yang diisolasi dari sumber air panas Air putih Lebong, Bengkulu, dalam memproduksi enzim keratinase. Fokus dari penelitian ini adalah untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memproduksi keratinase secara kuantitatif serta mengidentifikasi kondisi optimal, termasuk suhu, pH, dan sumber nutrisi yang mendukung produksi enzim. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai dengan Desember 2024 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Tahapan penelitian terdiri dari pembuatan kultur cair, uji kualitatif dan kuantitatif aktivitas keratinolitik, kemudian dilakukan optimasi suhu, pH, dan penambahan sumber karbon dan nitrogen. Hasil uji kualitatif aktivitas keratinolitik menunjukkan bahwa *Bacillus licheniformis* AAL3 memiliki indeks keratinolitik yang lebih tinggi (5,0) dibandingkan *Bacillus licheniformis* SCL2 (1,5). Aktivitas kuantitatif menunjukkan bahwa *Bacillus licheniformis* AAL3 menghasilkan 1,0074 U/mL enzim keratinase, sedangkan *Bacillus licheniformis* SCL2 0,7493 U/mL. Suhu optimum untuk produksi keratinase pada kedua bakteri ditemukan pada 60°C, dengan pH maksimum pada pH 9. Penambahan sumber karbon berupa glukosa dan sumber nitrogen berupa pepton memberikan hasil terbaik pada bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3, sedangkan pada *Bacillus licheniformis* SCL2 menunjukkan hasil optimal dengan penambahan sukrosa dan ekstrak yeast.

Kata Kunci: Keratin, Enzim Keratinase, Bakteri Termofilik.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
SUMMARY	viii
RINGKASAN	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Keratin.....	6
2.2 Enzim Keratinase.....	7
2.3 Bakteri Keratinolitik.....	8
2.4 Bakteri Termofilik.....	10
2.5 Enzim Termostabil.....	11
2.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Produksi Enzim.....	12
2.7 Aplikasi Enzim Keratinase.....	13
2.7.1 Pengolahan Limbah.....	13
2.7.2 Produksi Pakan Ternak.....	14
2.7.3 Industri Tekstil.....	14

2.7.4	Produksi Biofuel.....	14
2.7.5	Industri Farmasi dan Kosmetik.....	15
2.7.6	Bahan Baku Pembuatan Bioplastik.....	15
BAB III	METODE PENELITIAN.....	16
3.1	Waktu dan Tempat.....	16
3.2	Alat dan Bahan.....	16
3.2.1	Alat.....	16
3.2.2	Bahan.....	16
3.3	Cara Kerja.....	17
3.3.1	Uji Kualitatif Aktivitas Keratinolitik.....	17
3.3.2	Pembuatan Kurva Standar.....	18
3.3.3	Pembuatan Kurva Standar Tirosin.....	18
3.3.4	Pembuatan Kultur Cair.....	19
3.3.5	Produksi Enzim Keratinase.....	20
3.3.6	Uji Kuantitatif Aktivitas Keratinolitik.....	20
3.3.7	Optimasi Pertumbuhan Bakteri Untuk Produksi Keratinase.....	21
3.3.7.1	Optimasi Suhu dan pH.....	21
3.3.7.2	Optimasi Penambahan Sumber Karbon dan Nitrogen.....	21
3.4	Penyajian Data.....	22
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1	Aktivitas Keratinolitik Secara Kualitatif.....	23
4.2	Aktivitas Keratinolitik Secara Kuantitatif.....	26
4.3	Optimasi Bakteri Dalam Produksi Keratinase.....	27
4.3.1	Optimasi Suhu.....	27
4.3.2	Optimasi pH.....	29
4.3.3	Optimasi Sumber Karbon dan Nitrogen.....	32
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1	Kesimpulan.....	38
5.2	Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA		39
LAMPIRAN		45

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Indeks keratinolitik bakteri termofilik penghasil enzim keratinase.....	24
Tabel 4.2. Hasil uji kuantitatif aktivitas keratinolitik.....	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Keratin.....	6
Gambar 4.1. Hasil Aktivitas Keratinolitik secara Kualitatif.....	23
Gambar 4.2. Optimasi suhu terhadap pertumbuhan sel dan produksi keratinase dari (a) <i>Bacillus licheniformis</i> AAL3 dan (b) <i>Bacillus licheniformis</i> SCL2.....	28
Gambar 4.3. Optimasi pH terhadap pertumbuhan sel dan produksi keratinase dari (a) <i>Bacillus licheniformis</i> AAL3 dan (b) <i>Bacillus licheniformis</i> SCL2.....	30
Gambar 4.4. Optimasi sumber karbon terhadap pertumbuhan sel dan produksi keratinase dari (a) <i>Bacillus licheniformis</i> AAL3 dan (b) <i>Bacillus licheniformis</i> SCL2.....	32
Gambar 4.5. Optimasi sumber nitrogen terhadap pertumbuhan sel dan produksi keratinase dari (a) <i>Bacillus licheniformis</i> AAL3 dan (b) <i>Bacillus licheniformis</i> SCL2.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Pembuatan Media.....	45
	1.1 Medium <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	45
	1.2 Medium <i>Nutrient Broth</i> (NB).....	45
	1.3 Medium Produksi Enzim Keratinase.....	45
Lampiran 2.	Pembuatan Larutan.....	46
	2.1 Pembuatan Larutan Buffer Posfat pH 6, 7, 8.....	46
	2.2 Pembuatan Larutan Buffer Karbonat pH 9.....	46
	2.3 Pembuatan Larutan Standar Tirosin.....	47
Lampiran 3.	Uji Kualitatif Aktivitas Keratinolitik.....	47
	3.1 Pengukuran Zona Bening Bakteri.....	47
	3.2 Pengukuran Indeks Keratinolitik Bakteri.....	48
Lampiran 4.	Kurva Standar.....	48
	4.1 Kurva Standar Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> AAL3.....	48
	4.2 Kurva Standar Bakteri <i>Bacillus licheniformis</i> SCL2.....	49
Lampiran 5.	Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Berdasarkan Persamaan Linier yang Telah Didapatkan dari Kurva Standar.....	50
Lampiran 6.	Kurva Standar Tirosin.....	51
Lampiran 7.	Tabel Hasil Optimasi Isolat Bakteri Termofilik.....	53
	7.1 Tabel Hasil Optimasi Suhu.....	53
	7.2 Tabel Hasil Optimasi pH.....	53
	7.3 Tabel Hasil Optimasi Sumber Karbon.....	54
	7.4 Tabel Hasil Optimasi Sumber Nitrogen.....	54
Lampiran 8.	Gambar Zona Bening Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas asal Lebong Bengkulu.....	55
Lampiran 9.	Gambar Hasil Endapan Produksi Enzim Keratinase.....	55
Lampiran 10.	Gambar Larutan Uji Aktivitas Enzim Keratinase.....	56
Lampiran 11.	Gambar Larutan Standar Tirosin.....	56

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keratin merupakan sebuah protein yang terkandung dalam jaringan kulit, rambut, dan kuku pada manusia dan hewan. Keratin merupakan salah satu protein yang paling melimpah di alam dan memiliki peran penting dalam menjaga struktur dan fungsi jaringan tersebut. Keratin terdiri dari rantai polipeptida yang panjang dan berlipat-lipat, yang membentuk struktur heliks alpha (α -heliks) dan beta (β -lapisan). Struktur ini memungkinkan keratin untuk mempunyai kekuatan dan elastisitas yang tinggi, sehingga mampu menjaga bentuk dan struktur jaringan kulit, rambut, dan kuku. Mikroorganisme keratinolitik dapat memecah keratin menjadi peptida dan asam amino, beberapa di antaranya dimetabolisme sebagai bahan dasar karbon dan nitrogen. Berbagai bakteri, *actinomycetes*, dan jamur, telah dicirikan sebagai mikroorganisme keratinolitik (Koentjoro *et al.*, 2018).

Keratinase adalah enzim yang memiliki kemampuan untuk menguraikan protein keratin. Keratinase dapat memecah keratin menjadi peptida yang lebih kecil, sehingga dapat digunakan sebagai sumber nutrisi oleh mikroorganisme (Fang *et al.*, 2019). Proses degradasi keratin oleh enzim keratinase sangat penting dalam berbagai aplikasi industri, seperti industri tekstil, kosmetik dan farmasi. Keratinase dapat digunakan untuk mengolah tekstil yang terbuat dari keratin, seperti wool dan silk, dapat menghilangkan keratin yang berlebihan pada kulit dan rambut serta dapat digunakan dalam pengembangan obat-obatan untuk mengobati

penyakit yang terkait dengan keratin. Selain itu, enzim ini juga memiliki potensi dalam pengolahan limbah yang mengandung keratin, seperti limbah industri tekstil dan peternakan (Bhari *et al.*, 2021).

Bakteri termofilik adalah jenis mikroorganisme yang mampu bertahan hidup dan berkembang pada kondisi suhu yang ekstrem, umumnya antara 45°C hingga 80°C. Salah satu aplikasi penting dari bakteri termofilik adalah dalam memproduksi enzim keratinase, yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi keratin. Limbah keratin, seperti bulu ayam, merupakan masalah lingkungan yang signifikan karena sifatnya yang sulit terurai (Kumar *et al.*, 2023).

Enzim keratinase yang dihasilkan oleh bakteri termofilik memiliki keunggulan utama berupa stabilitas pada suhu tinggi. Selain itu, bakteri termofilik juga memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap keberadaan racun (Zhang *et al.*, 2022). Hal ini membuat bakteri termofilik lebih tahan terhadap berbagai senyawa berbahaya yang sering terdapat dalam limbah industri. Selain itu, kemampuan metabolisme yang efisien dapat mempercepat proses biodegradasi keratin dalam waktu yang lebih singkat. Dengan menggunakan bakteri termofilik, limbah keratin dapat diubah menjadi produk yang lebih bermanfaat, misalnya pupuk, pakan ternak dan berperan dalam bahan industri farmasi dan kosmetik, industri kulit dan tekstil (Dhiva *et al.*, 2020).

Suhu merupakan faktor penting yang mempengaruhi aktivitas enzim. Setiap jenis mikroorganisme, termasuk penghasil keratinase, memiliki rentang suhu optimal di mana aktivitas enzim meningkat. Penelitian menunjukkan bahwa keratinase yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri umumnya menunjukkan suhu

optimal berkisar antara 30°C hingga 60°C (Sajjad *et al.*, 2020). Aktivitas enzim dipengaruhi oleh suhu, di mana suhu yang terlalu rendah menyebabkan reaksi kimia berlangsung lambat, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi enzim (Gómez *et al.*, 2019). Oleh karena itu, mengetahui suhu optimal bakteri penghasil keratinase sangat penting untuk memaksimalkan produksi enzim.

pH dan nutrisi juga merupakan faktor kunci yang mempengaruhi produksi keratinase. Sebagian besar keratinase yang dihasilkan oleh mikroorganisme menunjukkan pH optimal antara 7 hingga 10 (Reddy *et al.*, 2016). Peningkatan atau penurunan pH di luar rentang ini dapat menyebabkan perubahan struktur enzim dan mengurangi kemampuannya untuk berfungsi. Penelitian oleh Kaur *et al.* (2021), menunjukkan bahwa pengaturan pH yang tepat dapat meningkatkan stabilitas dan aktivitas keratinase. Selain itu, mikroorganisme memerlukan sumber karbon, nitrogen, dan mineral untuk pertumbuhan dan produksi enzim. Sumber karbon seperti glukosa, sukrosa, atau bahkan keratin itu sendiri dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk memproduksi keratinase (Zhang *et al.*, 2022).

Bakteri termofilik memiliki keragaman kondisi optimum aktivitas enzim keratinase (Sahoo & Dora, 2020). Penelitian terdahulu oleh Yohandini *et al.* (2015), menunjukkan bahwa dua isolat bakteri termofilik yang diisolasi dari sumber air panas Tanjung Sakti (Sumatera Selatan) memiliki aktivitas keratinolitik secara kualitatif, yaitu *Bacillus thermoamylovorans* dan *Brevibacillus* sp. dan memiliki suhu dan pH optimum yang sama, yaitu pada suhu 70°C dan pH 7 dengan masa inkubasi 28 jam, serta sumber karbon dan nitrogen terbaik berupa glukosa 1% dan kasein 0,4%. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Koentjoro *et al.* (2018),

melaporkan bahwa bakteri *Bacillus* SL II-I tumbuh optimal pada media tepung bulu ayam dengan penambahan pepton 1%, dan pada pH 7 dengan aktivitas keratinase tertinggi mencapai 3,4 Unit/ml.

Kapasitas bakteri untuk memproduksi enzim keratinase berbeda-beda sesuai dengan jenis dan faktor lingkungannya, seperti suhu, pH, dan nutrisi seperti karbon dan nitrogen yang terdapat pada media pertumbuhan (Sharma *et al.*, 2019). Bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3, dan *Bacillus licheniformis* SCL2 merupakan bakteri termofilik yang diisolasi dari sumber air panas Air putih Lebong Bengkulu, bakteri ini memiliki aktivitas keratinolitik secara kualitatif yang ditandai dengan terdapatnya zona bening disekitar koloni bakteri, namun belum diketahui produksinya secara kuantitatif. Untuk itu pada penelitian ini dilakukan optimasi suhu, pH serta sumber karbon dan nitrogen untuk mengetahui dan meningkatkan produksi enzim keratinase secara kuantitatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan bahwa suatu permasalahan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapakah suhu dan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 dalam memproduksi enzim keratinase?
2. Apakah jenis sumber karbon dan sumber nitrogen yang optimal untuk mendukung pertumbuhan dan produksi enzim keratinase oleh bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan suhu dan pH optimum untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 dalam memproduksi enzim keratinase.
2. Menganalisis sumber karbon dan sumber nitrogen yang optimal untuk mendukung pertumbuhan dan produksi enzim keratinase oleh bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber data untuk mengetahui suhu, dan pH yang optimal serta sumber karbon dan nitrogen yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus licheniformis* AAL3 dan *Bacillus licheniformis* SCL2 asal Air putih Lebong Bengkulu dalam memproduksi enzim keratinase, sehingga dapat dimanfaatkan secara luas dalam berbagai bidang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahi, P., Ghane, M., dan Babaeekhou, L. (2021). Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Gavmesh Goli Hot Spring in Sabalan Geothermal Field, Iran: *Thermomonas hydrothermalis* and *Bacillus altitudinis* Isolates as a Potential Source of Thermostable Protease. *Geomicrobiology Journal*, 38(1), 87-95.
- Alahyaribeik, M., and Ullah, N. (2020). Keratinase: A versatile enzyme for industrial applications. *Enzyme and Microbial Technology*. 14(3): 109-128.
- Ardhi, F., Rahman, A., and Supriyadi, A. (2020). Thermophilic bacteria: characteristics and potential applications. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30(5): 691-700.
- Badan Pusat Statistik Lingkungan Hidup dan Wilayah. (2020). *Statistik Lingkungan Hidup dan Wilayah 2020*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Barker, H., and Fennell, D. E. (2019). Microbial degradation of environmental pollutants: The role of thermophilic bacteria. *Environmental Biotechnology*. 5(2): 85-92.
- Bestari, N, C dan Suharjono. 2015. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*. 3(3) : 151-155.
- Bhange, Kiran, Choudhary, S., and Nayak, S. (2016). Keratinase: A review on its potential applications in various industries. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 5(3): 326-335.
- Bharagava, R. N., and Yadav, A. (2016). Microbial keratinases: A review on their production and applications in waste management. *Environmental Science and Pollution Research*. 23(18), 18692-18705.
- Bhari, R., Kaur, M., and Singh, S. R. (2021). Optimization and validation of keratinase production by *Bacillus aerius* NSMk in a stirred tank reactor using surface methodology. *SN Applied Sciences*. 3:641.
- Brandelli, A. (2018). Keratinolytic bacteria from the Amazon ecosystem: A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 80(3): 433-440.
- Cai, C. G., Lou, B. G., and Zheng, X. D. (2018). Keratinase production and keratin degradation by a mutant strain of *Bacillus subtilis*. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 9(1): 60–67.
- Cao, Y., Liu, Y., and Wang, Y. (2018). Keratinolytic bacteria: Mechanisms and applications. *Journal of Applied Microbiology*. 104(4): 1036-1045.

- Dhiva, S., Ranjith, K. R., Prajisa, P., Sona, K. P., Narendrakumar, G., Prakash, P., Emilin, R. R., dan Antony, V. S. (2020). Optimization of Keratinase Production Using *Pseudomonas aeruginosa* SU-1 Having Feather as Substrate. *Biointerface research in Applied Chemistry*. 10(5): 6540-6549.
- Dina Wahyun, Anthoni Agustien & Periadnadi. (2012). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang, Sungai Penuh Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 1(2): 3-98.
- Donner, E., Károly, K., and Wiegand, I. (2019). Keratin as a source of protein: Extraction and characterization. *Food Chemistry*. 29(8): 125-213.
- Fang, Z., Sha, C., Peng, Z., Zhang, J., Du, G., 2019. Protein engineering to enhance keratinolytic protease activity and excretion in *Escherichia coli* and its scale-up fermentation for high extracellular yield. *Enzyme Microb Technol*. 121, 37–44
- Fang, H., Li, H., and Zhang, J. (2017). Biodegradation of keratin waste by microbial enzymes: A review. *Journal of Environmental Management*. 202: 173-182.
- Gaman, A., and Sherrington, D. (2014). Enzyme catalysis: Principles and applications. *Chemical Society Reviews*. 23(5): 401-411.
- Ghafar, A. A., Khayat, E. M., Ahmad, A. S., Yasid, A. N., and Shukor, Y. M. (2020). Response Surface Methodology for the Optimization of Keratinase Production in Culture Medium Containing Feathers by *Bacillus* sp. UPM-AAG1. *Catalysts Journal*. 10(848): 3-10.
- Gómez, J., Sampedro, I., and López, C. (2019). Thermal Stability of Keratinases: Impact of Temperature on Enzymatic Activity. *Journal of Biotechnology*. 303: 50-58.
- Gupta, R., Beg, Q. K., and Lorenz, P. (2020). Bacterial keratinases: an overview of their properties and applications. *Critical Reviews in Microbiology*. 46(2): 161-175.
- Hakobyan, L., Armen, T dan Lilit, G. (2012). Yeast Extract As An Effective Nitrogen Source Stimulating Cell Growth and Enhancing Hydrogen Photoproduction by *Rhodobacter sphaeroides* Strains From Mineral Springs. *International Journal of Hydrogen Energy*. 37(8) : 6519-6526.
- Holkar, C. R., Jadhav, J. J., and Khedkar, K. V. (2016). Review on chemical and biological methods for keratin degradation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 4(2): 1924-1936.
- Jahan, Z., S.N., Khan, and M.M. Hoq. (2020). Screening of keratinolytic bacteria from poultry wastes. *Bangladesh j. sci. ind. res*. 45:261-266

- Joo, H. S., and Kim, J. J. (2016). Isolation and characterization of thermophilic keratinase-producing bacteria from the soil of a poultry farm. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(5), 947-954.
- Joshi, S.G., Tejashwini, M.M., Revati, N., Shridevi, R., and Roma, D. (2017). Isolation, identification and characterization of feather degrading bacterium. *Int. J. Poult. Sci.* 6(9): 689-693.
- Kambourova, M. (2018). Thermophilic bacteria: Enzymes and their importance in biotechnology. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28(2):183-192.
- Kanmani, P., Karuppasamy, P., Pothiraj, C., and Venkatesan, A. (2021). Studies on lignocellulose biodegradation of coir waste in solid state fermentation using *Phanerocheate chrysosporium* and *Rhizopus stolonifer*. *Afr. J. Biotechnol.* 8:6880- 6887.
- Kaur, R., Arora, N., and Kumar, V. (2021). Effects of pH and Temperature on the Activity of Keratinase Produced by Fungi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 10(5), 1234-1242.
- Ketaren, S. (2018). *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. UI Press. Jakarta.
- Koentjoro, P. M., Prasetyo, N. E., and Rahmatullah, M. A. (2018). Optimization of Keratinase Production by *Bacillus* SLII-I Bacteria in Chicken Feather Waste Medium. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*. 13(2): 482-488.
- Kornilłowicz-Kowalska, T., and Bohacz, J. (2011). Keratinolytic microorganisms in the decomposition of keratin waste. *Waste Management*. 31(8): 1787-1795.
- Kumar, M., and Singh, S. (2023). Keratinolytic bacteria: A potential approach for keratin waste management. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 102(15), 6453-6466.
- Kunert, J. (2020). Physiology of keratinophilic fungi. *Rev Iberoam Micol.* 17: 1777–85.
- Kuppusamy, P., Karthikeyan, S., and Suresh, S. (2016). Production of keratinase by a novel bacteria isolated from soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 5(7): 234-243.
- Manirujjaman, M., Rashid, M. H., and Rahman, M. M. (2016). Traditional methods of keratin waste disposal: A review. *International Journal of Waste Resources*. 6(2): 1-5.
- Mawati, I., Supriyadi, A., and Kurniawan, R. (2021). Thermostable enzymes:

- Characteristics and applications in biotechnology. *Biotechnology Reports*. 31(2): 202-219.
- Nurliati, I., Sri, H dan Andi, D. (2018). Produksi Enzim Lakase Oleh Jamur *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 Dengan Variasi Penambahan CuSO₄ Menggunakan Bioreaktor Tray Secara Solid State Fermentation (SSF). *JOM FTEKNIK*. 5(2) : 1-6.
- Pangestu Bowo Sukendro, P. B., Indrawati, T., dan Rahmat, D. (2021). Optimasi Proses Hidrolisis Protein dari Limbah Bulu Ayam. *Farmasains*. 8(1): 7-14.
- Prakash, P., Jayalakshmi, S. K., and Winahyu, D. (2015). Keratinolytic activity of *Bacillus subtilis* RGK17: Characterization and post-harvest applications. *Internasional Biodeterioration and Biodegradation*. 64(7): 622-628.
- Rahayu, S., Sulistyaningsih, R., dan Winahyu, D. (2018). Karakteristik Bakteri Keratinolitik dari Limbah Peternakan Unggas. *Jurnal Biotropic*. 2(2): 75-84.
- Ramnani, P., and Gupta, R. (2017). Keratinase: A novel approach for the degradation of keratin waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 23(5), 769-776.
- Ravi, K. (2023). Utilization of poultry feathers for sustainable bioproducts: A review. *Journal of Cleaner Production*. 295, 126-139.
- Reddy, P. R., and Sharma, R. (2016). Keratinase: A Tool for Waste Management. *Journal of Environmental Biology*. 37(1): 77-84.
- Revankar, G. A., Bagewadi, K. Z., Bochageri, P. N., and Khan, Y. M. T. (2023). Response surface methodology based optimization of keratinase from *Bacillus velezensis* strain ZBE1 and nanoparticle synthesis, biological and molecular characterization. *Saudi journal of biological sciences*.10(2): 1-25.
- Risnawati, M dan Sari, E, C. 2013. Pengaruh Penambahan Ion Logam Ca⁺ Terhadap Aktivitas Enzim Papain. *UNESA : Journal Of Chemistry*. 2(1): 76- 83.
- Rodriguez, M., García, J., and López, J. (2019). Keratinase: Properties and applications in biotechnological processes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 159(1): 1-15.
- Rostyalina. (2015). Solidifikasi Zink pada Limbah Bulu Ayam dengan Menggunakan Semen Portland. *Skripsi*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Rukmini, A., Murthy, M., and Rao, R. (2018). Thermophilic microorganisms:

Characteristics and applications in biotechnology. *Biotechnology Advances*. 36(6): 1915-1928.

- Safitri, R., Kusumawardhani, D. P., Annisa, A., Partasasmita, R., Asharina, S., dan Maskoen, A. M. (2020). Characterization and Identification of Three Thermophilic *Bacillus* Strain Isolated from Domas Crater, Mt. Tangkuban Perahu, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(8), 3444-3453.
- Sajjad, W., Hussain, S., and Ali, S. (2020). Keratinase Producing Microorganisms: Potential Applications in the Bioconversion of Keratinous Wastes. *Journal of Environmental Management*. 256, 109934.
- Saravanan, K., and Dhurai, B. (2012). Exploration on amino acid content and morphological structure in chicken feather fiber. *Journal of Textile and Apparel, Technology and Management*. 7(3): 1–6.
- Sharma, A., Kumar, S., and Gupta, R. (2019). Biodegradation of keratin waste by keratinase producing bacteria. *Journal of Environmental Biology*. 38(3): 405-410.
- Septiani, A. (2017). Wijanarka dan MG Isworo, R. Produksi Enzim Selulase Dari Bakteri *Serratia marcescens* Ke-B6 Dengan Penambahan Sumber Karbon, Nitrogen, dan Kalsium Pada Medium Produksi. *Jurnal BIOMA*. 19(2) : 159-163.
- Setyabudi dan Rizki, B. (2015). *Aktivitas Keratinolitik Aspergillus niger pada Tepung Bulu Ayam Menggunakan Solid State Fermentation (SSF)*. Universitas Jember. Jember.
- Sholeha, R dan Rudiana, A. 2021. Lipase Biji-bijian dan Karakteristiknya. *UNESA Journal of Chemistry*. 1(2): 169-183.
- Singh, R., Kumar, A., and Sharma, V. (2022). Keratinase producing microorganisms: A review on their potential applications. *Frontiers in Microbiology*. 13(2): 112-132.
- Sinha, S., and Sinha, S. (2020). Thermophilic keratinases: New insights into microbial keratin degradation. *Microbial Biotechnology*. 13(1): 1-20.
- Sinkiewicz, I., Kaczmarek, A., and Szymanski, M. (2017). Microbial degradation of keratin: A review. *Environmental Biotechnology*. 13(3): 203-214.
- Sinoy, Tom, E.S., Bhausahab, Chavaan, P., Pratiksha, and Patre, R. (2021). Isolation and identification of feather degradable microorganism. *VSRD int. j. tech. non-tech. res.* 2:128-136.
- Smith, L. A., and Johnson, T. R. (2023). Regulatory challenges in the industrial

- application of thermophilic bacteria. *Food Control*. 141, 109-116
- Sumardi, Agustrin, R., Irwan, B., & Pratiwi A. (2018). The Effect of Magnetic Field Exposure on Medium to Protease Production by *Bacillus* sp. *Biological Research Journal*. 4(2): 2477-1392.
- Sumardi, Farisi, S., Ekowati, C. N & Diana, M. S. (2019). Aktivitas dan Karakterisasi Enzim Protease Isolat *Bacillus* Sp. (Uj132) Secara Kualitatif dan Kuantitatif. *Jurnal Riset Akuakultur*. 14 (3): 193-199.
- Sumarni, S. (2019). Environmental impact of poultry waste: A review. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(2): 1246-1257.
- Suntornsuk, W., Chaipayat, P., and Thongchul, N. (2020). Keratinase production by thermophilic bacteria: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 32(5): 177-184.
- Tatangelo, V., Ramadori, P., and Amoroso, M. G. (2017). Keratinase production by bacterial strains isolated from marine sediments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 29(9): 1599-1608.
- Xie, F., Chao, Y., Yang, X., Yang, J., Xue, Z., Luo, Y., and Qian, S. (2020). Purification and characterization of four keratinases produced by *Streptomyces* sp. strain 16 in native human foot skin medium. *J. Biores. Technol*. 101: 344-350.
- Yohandini, H., Muharni, and Nainggolan, E. L. (2015). Growth Optimization of Thermophilic Bacteria *Bacillus thermoamylovorans* and *Brevibacillus* sp. in Producing Keratinolytic Enzyme. In *Proceeding of the 5th ISNPINSA*. 47-49.
- Yusron, A., Purwitasari, N., dan Abdillah, H. (2021). Uji Aktivitas Enzim Protease pada Kedelai Grade C yang Difermentasi Padat dengan Inokulum Tempe Kediri. *Simposium Nasional RAPI XX*. 235-242.
- Zang, Bin., Zhong-wei, S., and Tian-gui, N. (2019). Isolation and purification of alkaline keratinase from *Bacillus* sp. 50-3. *Afr. J Biotechnol*. 8: 2598-2603.
- Zhang, J., Su, C., Kong, X. L., Gong, J. S., Liu, Y. L., Li, H., Qin, J., Xu, Z. H., Shi, J. S. (2022). Directed evolution driving the generation of an efficient keratinase variant to facilitate the feather degradation. *Bioresour Bioprocess*. 9, 38.
- Zuhri, R., Anthoni, A dan Yetria, R. Pengaruh Konsentrasi Sumber Karbon dan Nitrogen Terhadap Produksi Protease Alkali Dari *Bacillus* sp. M1.2.3 Termofilik. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung* : 273-277.