

ABSTRAK**PENAPISAN, KARAKTERISASI FITASE DAN ANALISIS HOMOLOGI GEN PENYANDI FITASE DARI BAKTERI TERMOFILIK KAWAH IJEN BANYUWANGI****Aline Puspita Kusumadjaja**

Fitase adalah enzim yang menghidrolisis ikatan fosfoester pada asam fitat (mio-inositol heksakisfosfat), menghasilkan fosfat anorganik dan ester-ester fosfat dari mio-inositol yang lebih rendah. Pemanfaatan fitase pada industri pakan ternak dan industri pangan dapat mengatasi masalah nutrisi dan lingkungan yang muncul akibat asam fitat/garamnya tidak dapat dicerna secara sempurna oleh hewan ternak dan juga manusia. Fitase yang tahan terhadap suhu tinggi yaitu fitase termofilik, sangat menguntungkan digunakan pada industri pakan ternak dan industri pangan. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk memperoleh isolat mikroorganisme termofilik Kawah Ijen Banyuwangi yang memiliki aktivitas fitase tertinggi, menentukan spesies isolat termofilik terpilih tersebut berdasarkan analisis gen penyandi 16S rRNA, menentukan karakter ekstrak kasar fitase dari isolat termofilik terpilih, serta mengamplifikasi secara PCR dan menentukan urutan gen penyandi fitase isolat termofilik terpilih.

Pada penelitian yang telah dilakukan, diperoleh 33 isolat termofilik dari Kawah Ijen Banyuwangi yang memiliki aktivitas fitase. Isolat berkode AP-17 merupakan isolat penghasil fitase dengan aktivitas terbesar yaitu 0,0285 U/mL. Hasil analisis gen penyandi 16S rRNA menunjukkan isolat AP-17 memiliki homologi sebesar 99% dengan *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Karakterisasi ekstrak kasar fitase hasil isolasi dari isolat AP-17 menunjukkan enzim memiliki suhu optimum 75 °C dengan aktivitas sebesar 0,1413 U/mL dan pH optimum 6 dengan aktivitas sebesar 0,0875 U/mL. Pemanasan pada suhu 75 °C selama 1 jam menyebabkan aktifitas enzim yang tersisa sebesar 89%, sedangkan pemanasan selama 3 jam menyebabkan aktivitas yang tersisa sebesar 60%. Pemanasan selama 20 menit pada suhu 85 °C menyebabkan aktivitas enzim yang tersisa sebesar 58%, sedangkan pemanasan selama 20 menit pada suhu 95 °C menyebabkan aktivitas yang tersisa hanya sebesar 43%. Sementara itu, pemanasan selama 80 menit pada suhu 85 °C menyebabkan aktivitas enzim yang tersisa sebesar 39%, sedangkan pemanasan pada suhu 95 °C selama 80 menit menyebabkan enzim hanya memiliki aktivitas sebesar 25%. Enzim memiliki kestabilan yang baik pada kisaran pH 5–8 dengan aktivitas residu lebih dari 90%. Dari hasil SDS PAGE dan elektroelusi, massa molekul relatif (Mr) enzim diperkirakan sebesar 43,9 kDa. Penambahan ion Ca^{2+} mampu meningkatkan aktivitas enzim hingga menjadi 118%, sedangkan ion Cd^{2+} dan Mn^{2+} menurunkan aktivitas enzim masing-masing menjadi 19% dan 25%. Pada proses PCR untuk mengangkat gen penyandi fitase dari isolat AP-17, dengan menggunakan sepasang *primer* spesifik yang didesain berdasarkan homologi dengan gen penyandi fitase dari kelompok *Bacillus*, diperoleh ampikon/fragmen DNA berukuran sekitar 1200 pb. Uji homologi menunjukkan fragmen DNA tersebut memiliki homologi sebesar 59% dengan gen penyandi fitase dari *B. amyloliquefaciens* FZB42.

Kata kunci : Kawah Ijen, fitase, isolat AP-17, *B. amyloliquefaciens* FZB42.