



## MORFOLOGI DAN KARAKTERISASI PERTUMBUHAN BAKTERI ASAM LAKTAT (UM 1.3A) DARI PROSES FERMENTASI WIKAU MAOMBO UNTUK STUDI AWAL PRODUKSI ENZIM AMILASE

[*Morphology and Growth Characterization of Lactic Acid Bacteria (UM1.3A) From Wikau Maombo Fermentation Process Preliminary study of Enzyme Amylase Production*]

Andi Dahlan<sup>1)\*</sup>, Sri Wahyuni<sup>1)</sup>, Ansharullah<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Halu Oleo, Kendari

\*Email: [andhydahlan96@gmail.com](mailto:andhydahlan96@gmail.com) ; Telp: +6285241833056

### ABSTRACT

*This research aimed to determine the characteristic (morphology and growth) of Lactic Acid Bacteria (LAB) isolates (UM1.3A). This study used the research design that consist of a characterization test (morphology and growth) LAB isolate (UM1.3A). The result showed that LAB had morphology characteristics of spherical colony, white milk and slippery surface. Growth characteristic indicated that the adaptation time of LAB (UM1.3A) was from 1<sup>st</sup> until the 14<sup>th</sup> hours, the logarithmic (growth) phase of 15<sup>th</sup>-22<sup>th</sup> hours, stationary phase of the 23<sup>st</sup> to the 26<sup>th</sup> hours and at the death phase of 25<sup>th</sup> hours. So it can be concluded that the optimum time for enzyme-producing amylase from LAB (UM1.3A) was the 22<sup>nd</sup> hour.*

*Keywords: Enzyme, enzyme amylase, LAB, morphology, growth characteristic.*

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik (morfologi dan pertumbuhan) Bakteri Asam Laktat (BAL) isolat (UM1.3A). Penelitian ini menggunakan desain penelitian yang terdiri dari uji karakterisasi (morfologi dan pertumbuhan) BAL isolat (UM1.3A). Hasil penelitian menunjukkan bahwa karakteristik morfologi BAL berbentuk koloni bulat, warna putih susu dan permukaan licin. Karakteristik pertumbuhan menunjukkan bahwa waktu adaptasi BAL (UM1.3A) yaitu dari jam ke-1 sampai jam ke-14, fase logaritmik (pertumbuhan) pada jam ke-15 sampai ke-22, fase stasioner (tetap) pada jam ke-23 sampai jam ke-26 dan fase kematian pada jam ke-25. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu optimum untuk memproduksi enzim amilase dari BAL (UM1.3A) adalah jam ke-22.

Kata kunci: Enzim, enzim amilase, BAL, morfologi, karakteristik pertumbuhan.

## PENDAHULUAN

Enzim dihasilkan oleh semua makhluk hidup untuk mengkatalisasi reaksi biokimia dalam tubuh makhluk hidup tersebut sehingga reaksi-reaksi dapat berlangsung lebih cepat. Kemampuan enzim yang unik dalam melaksanakan transformasi kimia yang khas dapat meningkatkan penggunaan enzim dalam berbagai proses industri. Salah satu enzim yang sangat dibutuhkan adalah enzim amilase ( $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase atau glukoamilase). Enzim amilase memiliki aplikasi untuk skala yang sangat luas mulai dari industri tekstil, konversi



pati untuk gula sirup, produksi cyclodextrin untuk industri farmasi (Aiyer, 2005). Kebutuhan amilase di dunia industri sangat tinggi, yaitu sekitar 90% dari produksi enzim dunia, pada tahun 2014 dan 2015 sudah mencapai penjualan sekitar US \$ 4,6 dan 4,9 miliar, sedangkan pada tahun 2016 mencapai penjualan US \$ 5,0 miliar (Dewan, 2017).

Enzim amilase dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti tanaman, binatang dan mikroorganisme. Amilase telah diturunkan dari beberapa jamur, ragi, bakteri dan actinomycetes. Akan tetapi, enzim dari jamur dan bakteri merupakan sumber yang dominan pada sektor industri. Alasannya adalah *Bacillus* sp. Strain bakteri paling banyak digunakan untuk memproduksi amilase karena kelangsungan hidupnya pada kondisi dengan kadar air yang rendah dan lebih mudah mengisolasi mikroorganisme yang termostabil. Amilase jamur cukup labil, dihancurkan dengan cepat pada suhu diatas 60°C, sedangkan amilase bakteri yang paling stabil dan menunjukkan sedikit inaktivasi pada suhu sampai 85°C (Srivastava and Baruah, 1986 in Elhadi *et al.*, 2011). Selain *Bacillus* sp, bakteri lain yang dapat menghasilkan enzim amilase adalah bakteri asma laktat (BAL).

BAL yang di gunakan pada penelitian ini adalah BAL indigenus yang dihasilkan dari diversifikasi pangan lokal Sulawesi Tenggara yakni *wikau maombo* yang belum pernah diungkap potensinya. Melalui penelitian ini akan diungkap salah satu potensinya yaitu produksi dan karakterisasi enzim amilase dari BAL yang dihasilkan. *Wikau maombo* adalah ubi fermentasi yang berbahan dasar ubikayu yang dibuat dengan cara direndam pada air laut selama 3 jam, kemudian difermentasi selama 3 hari. Maka dalam penelitian ini penulis akan mengkaji tentang karakterisasi enzim amilase BAL hasil fermentasi *wikau maombo* (isolat UM 1.3A) sehingga dapat diaplikasikan pada proses produksi produk pangan.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Isolat Bakteri Asam Laktat (UM1.3A), MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*) (*Himedia*), MRSB (*deMann Rogosa Sharpe Broth*) (*Himedia*),

### Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah sebagai berikut:

#### 1. Peremajaan (karakteristik morfologi) Isolat

Isolat bakteri tumbuh dengan cepat, sehingga harus diremajakan dalam satu medium yang mengandung nutrisi untuk kebutuhan pertumbuhannya. Caranya dengan memindahkan ulang isolat kedalam medium agar miring steril secara aseptis dengan jarum ose kemudian diinkubasi pada suhu sesuai habitat asal selama 2x24 jam.



## 2. Karakteristik Kurva Pertumbuhan

Langkah-langkah pembuatan kurva pertumbuhan bakteri antara lain: Sebanyak 1 ose dari kultur bakteri yang telah disegarkan pada media tabung miring MRS Agar diinokulasi ke dalam Erlenmeyer berisi 100 ml MRS Broth steril dan diinkubasi. Pengamatan terhadap nilai OD dilakukan setiap 2 jam pengamatan dari jam ke 0 sampai jam ke 24. Pengukuran *Optical Density* yang dimodifikasi dari Yuliana (2008) antara lain adalah: Pengukuran OD dilakukan dengan metode langsung berdasarkan turbiditas dengan cara mengambil sebanyak 5 ml kultur pada media MRS Broth kemudian diamati nilai ODnya pada spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm.

### Metode

Penelitian ini menggunakan desain penelitian yang terdiri dari uji karakterisasi Bakteri Asam Laktat isolat (UM1.3A) hasil fermentasi *wikau maombo*, dan dianalisis secara deskriptif dengan mengkaji semua hasil karakterisasi BAL isolat (UM1.3A), sehingga diperoleh gambaran atau keterangan karakteristik BAL tersebut.

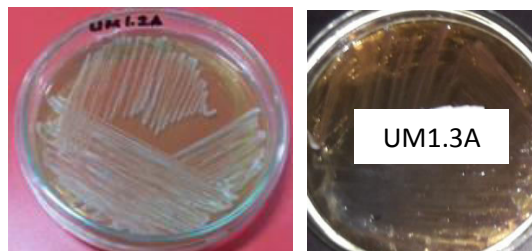
### Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu uji karakterisasi dari Bakteri Asam Laktat isolat (UM1.3A) dari hasil fermentasi *wikau maombo* yang meliputi morfologi dan karakteristik pertumbuhan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Morfologi Bakteri Asam Laktat (BAL) isolat (UM1.3A)

Hasil dari karakteristik morfologi BAL isolate (UM1.3A) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi isolat UM1.3A.

Peremajaan biakan dan kultur padat pada Bakteri Asam laktat (UM1.3A) dilakukan dengan memindahkan atau memperbarui biakan bakteri dari biakan lama ke medium yang baru. Machmud (2001) menyatakan bahwa teknik peremajaan biakan merupakan cara paling tradisional yang digunakan peneliti untuk memelihara koleksi

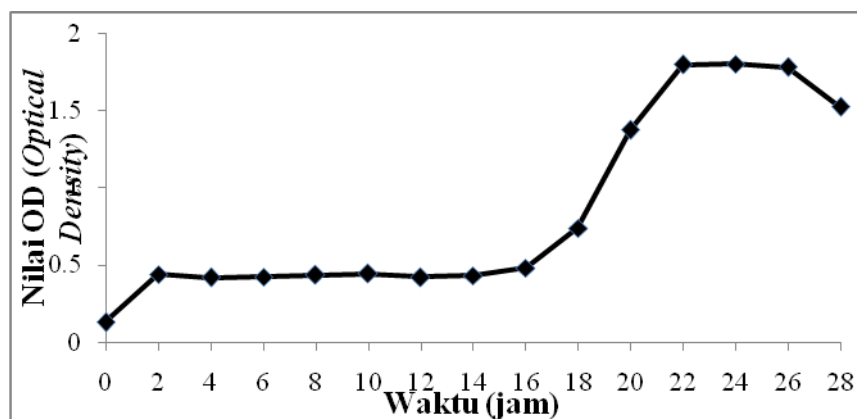


isolat mikroba di laboratorium. Peremajaan isolat ini juga bertindak untuk menyelamatkan isolat bakteri (UM1.3A) dari kontaminasi bakteri lain dan memberikan penyegaran pada nutrient yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Peremajaan kultur bakteri dengan menggunakan medium segar yang sama seperti medium awal bertujuan untuk mempercepat fase adaptasi dan mempersiapkan sel pada fase eksponensial.

Bakteri yang berada dalam fase eksponensial atau tahap propagasi ini mensintesis enzim dan mengatur aktivitasnya sehingga mampu tumbuh lebih efisien dalam kondisi baru. Media yang digunakan adalah Media MRS (*de Mann Rogosa Shape Agar*) merupakan medium yang umum digunakan untuk mengisolasi organism BAL dalam kultur murni. Gambar 1 menunjukkan bahwa Isolat Bakteri Asam Laktat (UM1.3A) yang diremajakan dalam penelitian ini memiliki karakteristik diantaranya bentuk koloni bulat, warna putih susu, permukaan licin dan ketika umur isolate tersebut sudah tua warnanya akan agak kekuning-kuningan berserabut. Laily (2013) menyatakan bahwa isolat BAL yang diisolasi dari sawi asam menunjukkan morfologi berbentuk batang, berwarna krem, agak jernih, rata dan permukaan licin.

### Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Kurva pertumbuhan Bakteri Asam Laktat isolat UM1.3A menunjukkan bahwa waktu adaptasi yang panjang yaitu tumbuh pada waktu 0-14 jam dan fase pertumbuhan optimum isolat yaitu pada jam ke-20 (Gambar 2). Panjang atau pendeknya fase adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologis yang sesuai serta media kultivasi yang dibutuhkan (fardiaz, 1992).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat UM1.3A berdasarkan nilai OD (*Optical Density*).

Tujuan pembuatan kurva pertumbuhan pada BAL yang digunakan adalah untuk mengetahui waktu tumbuh optimum dari bakteri tersebut. Kurva pertumbuhan Bakteri Asam Laktat isolat UM1.3A menunjukkan bahwa



waktu adaptasi yang panjang yaitu tumbuh pada waktu 0-14 jam (Gambar 6). Yuliana (2008) menyatakan bahwa Bakteri Asam Laktat isolat T5 yang diisolasi dari Tempoyak memiliki waktu adaptasi selama 0-3 jam. Sedangkan pada penelitian Sharah (2015) menyatakan bahwa waktu adaptasi BAL isolat I<sub>5</sub> relatif singkat yaitu tumbuh pada waktu 0-3 jam. Hal serupa juga dinyatakan oleh Rosidah (2013), waktu adaptasi semua BAL yang diisolasi dari fermentasi jagung memiliki waktu adaptasi yang relatif singkat yaitu pada 0-3 jam. Beberapa penelitian menunjukkan pentingnya desain media untuk memperbaiki proses pertumbuhan bakteri asam laktat (Karim *et al.*, 2006; Ghaly *et al.*, 2003). Menurut Wenge dan Methews (1999), pertumbuhan dan penggunaan metabolisme dalam fermentasi dan proses jalur metabolik bakteri asam laktat sangat dipengaruhi oleh parameter fermentasi seperti suhu, pH, kecepatan agitasi dan tingkat oksigen terlarut.

Jika mikroba dipindahkan ke dalam suatu media, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan di sekitarnya (Middelbeek *et al.*, 1992; Mangunwidjaja dan Suryani, 1994). Panjang atau pendeknya fase adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologis yang sesuai serta media kultivasi yang dibutuhkan (Scragg, 1991; Middelbeek *et al.*, 1992; Fardiaz, 1987). Apabila penyegaran inokulum telah sering dilakukan maka fase adaptasi dapat saja tidak diperlukan bakteri untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Middelbeek *et al.* (1992); Fardiaz (1987); menyatakan bahwa jika media dan lingkungan pertumbuhan sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi.

Kurva pertumbuhan juga menunjukkan bahwa pada jam ke 15, isolat UM1.3A telah memasuki fase logaritmik yang dicirikan dengan adanya pertumbuhan yang signifikan dari sel-selnya. Fase logaritmik dari isolat UM1.3A ini berlangsung cepat yaitu mulai pada jam ke-15 sampai pada jam ke-22, dengan nilai OD sebesar 1,797. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan Yuliana (2008) menunjukkan bahwa pada jam ke-9 BAL isolat T5 yang diisolasi dari tempoyak sudah memasuki fase logaritmik. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh Sharah (2015), fase logaritmik BAL isolat I<sub>5</sub> yang diisolasi dari ikan kembung terjadi pada jam ke-3-4.

Pada fase logaritmik mikroba membelah dengan cepat dan konstan dan pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara (Middelbeek *et al.*, 1992). Periode ini adalah keadaan pertumbuhan yang seimbang atau mantap dengan laju pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) konstan, komposisi selular tetap, sedangkan komposisi kimiawi media biakan berubah akibat terjadinya sintesis produk dan penggunaan substrat (Sa'id, 1987; Judoamidjojo, 1990; Mangunwidjaja dan Suryani, 1994).



Selanjutnya waktu pertumbuhan ke-21 hingga akhir waktu pertumbuhan jam ke-24, sel isolat UM1.3A mengalami fase pertumbuhan yang relatif tetap atau memasuki fase stasioner. Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Sa'id, 1987; Judoamidjojo, 1990; Middelbeek *et al.*, 1992; Mangunwidjaja dan Suryani, 1994) menyatakan bahwa ukuran sel pada fase stasioner menjadi lebih kecil-kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis. Yuliana (2008) menyatakan bahwa waktu pertumbuhan ke-18 hingga akhir pertumbuhan ke-30 sel isolat T5 BAL yang diisolasi dari tempoyak mengalami fase stasioner. Sedangkan Sharah (2015) menyatakan bahwa fase stasioner Pertumbuhan BAL yang diisolasi dari ikan kembung terjadi pada waktu pertumbuhan ke- 4-5.

Pada fase ini laju pertumbuhan akhirnya menurun yang biasanya disebabkan karena kekurangan faktor pertumbuhan seperti vitamin dan unsur mineral (Gaman dan Sherrington, 1994). Setelah mengalami fase stasioner, isolat UM1.3A mengalami Fase Kematian (death PHase). Pada fase ini jumlah sel bakteri yang mati lebih banyak dari jumlah bakteri yang hidup.

### KESIMPULAN

Isolat Bakteri Asam Laktat (UM1.3A) yang diremajakan dalam penelitian ini memiliki karakteristik diantaranya bentuk koloni bulat, warna putih susu, permukaan licin dan ketika umur isolat tersebut sudah tua warnanya akan agak kekuning-kuningan berserabut. Karakteristik isolat BAL UM1.3A yaitu masa adaptasi selama 14 jam dan fase pertumbuhan optimum isolat pada jam ke-22 dan memulai tahap kematian pada jam ke-26. Sehingga waktu optimum untuk produksi enzim amilase adalah jam ke-22.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aiyer PV. 2005. Amylases and their applications. *African Journal of Biotechnology*. 4: 125–1529.
- Dewan, S, S. 2017. Global Markets for Enzymes in Industrial Applications. BIO030J. [www.bccresearch.com](http://www.bccresearch.com) 8/03/2017
- Elhadi Al, Elkhalil and Fatima YG. 2011. Biochemical Characterization Of Thermophilic Amylase Enzyme Isolated From Bacillus Strains . *International Journal of Science and Nature*. Department of Botany & Agric. 2(3). 616 – 620
- Fardiaz, S. 1987. Fisiologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor. 186 hlm.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi pengolahan pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor. 323.



- Ghaly, A.E., M.S.A. Tango, and M.A. Adams. "Enhanced Lactic Acid Production from Cheese Whey with Nutrient Supplement Addition". *Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of Scientific Research and Development*. Manuscript FP 02 009. May, 2003.
- Karim, A., M. Mel, P. Jamal, M.R. M. Salleh, and N. Alamin. 2006. Media screening of lactic acid fermentation using *Lactobacillus rhamnosus*. *J. Agric. Technol.* 2(2): 203-210.
- Gaman, P.M. dan K.B. Sherrington. 1994. *Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Judoamidjojo, M., A.A. Darwis, dan E.G. Sa'id. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Pers. Jakarta. 333 hlm.
- Laily, I N. Rohula, U dan Esti, W. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(4): 179-184
- Machmud, M. 2001. *Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba*. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.
- Mangunwidjaja, D. dan A. Suryani. 1994. *Teknologi Bioproses*. Penerbit Swadaya. Jakarta.
- Middlebeek, E.J., R.O. Jenkins and J.S. Drijver-de Haas. 1992. Growth in batch culture. In *Vitro Cultivation of Micro-organisms*. *Biotechnology by Open Learning*.
- Rosidah, E. 2013. *Isolasi Asam Laktat dan Selulolitik Serta Aplikasinya Untuk Meningkatkan Kualitas Tepung Jagung*. Institut Pertanian Bogor. Bogor [skripsi]
- Sa'id, E.G. 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. PT. Melton Putra. Jakarta.
- Sharah, A. Rahman, K dan Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembung (*Restreliger sp*). JOM.
- Scragg, A.H. 1991. *Bioreactors in Biotechnology, A Practical Approach*. Ellis Horword, New York
- Wenge, F. and A.F. Methews. 1999. Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum* kinetic model and effects of pH, substrate, and oxygen. *Biochemical Engineering Journal*. 3: 163-170.
- Yuliana, N. 2008. Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat t5 yang berasal dari tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 3(2):108-116.