



MORFOLOGI DAN KARAKTERISASI PERTUMBUHAN BAKTERI ASAM LAKTAT (UM 1.4A) DARI PROSES FERMENTASI WIKAU MAOMBO UNTUK STUDI AWAL PRODUKSI ENZIM AMILASE

[Morphology and Growth Characterization of Lactic Acid Bacteria (UM1.4A) from Wikau Maombo Fermentation Process in A Preliminary study of Enzyme Amylase Production]

Putri Sulham Wijaya¹⁾*, Sri Wahyuni¹⁾, Nur Asyik¹⁾

¹⁾Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Halu Oleo, Kendari

*Email: sulhamwijaya.putri@yahoo.com ; Telp: +6281342471165

ABSTRACT

Enzymes are the most common group of proteins in living cells and have an essential function as catalysts of biochemical reactions that collectively form the intermediate metabolism of cells. Amylase enzymes have broad applications ranging from textile to pharmaceutical industries. This study aimed to determine the characteristics (morphology and growth) of lactic acid bacteria (LAB) isolates (UM1.4A). This research used descriptive research design comprised of characterization test (morphology and growth) LAB isolates (UM1.4A). The results show that the LAB morphology has characteristics such as: having round colonies, milky-white color, slippery colony surfaces, and when the isolates have been stored for a long time, the color changed into filamentous yellow. Growth characteristics indicated that the adaptation time of LAB (UM1.4A) isolates was 14 hours and growth phase. Then, at the 15th hour, LAB isolates entered the logarithmic phase (growth) until the 24th hours. From the 25th hour to the 26th hour, the isolates entered the stationary phase, and finally, at the 25th hour, they entered the death phase. The optimum time for producing the amylase enzyme from lactic acid bacteria (UM1.4A) is at the 24th hour.

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

ABSTRAK

Enzim merupakan golongan protein yang paling banyak terdapat dalam sel hidup dan mempunyai fungsi penting sebagai katalisator reaksi biokimia yang secara kolektif membentuk metabolisme perantara dari sel. Enzim amilase memiliki aplikasi untuk skala yang sangat luas mulai dari industri tekstil sampai industri farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik (morfologi dan pertumbuhan) bakteri asam laktat isolat (UM1.4A). Penelitian ini menggunakan desain penelitian deskriptif yang terdiri dari pengujian karakterisasi (morfologi dan pertumbuhan) BAL isolat (UM1.4A). Hasil Penelitian menunjukkan bahwa karakteristik morfologi BAL memiliki karakteristik diantaranya: memiliki koloni bulat, berwarna putih susu, permukaan koloni licin dan ketika isolat tersebut sudah lama tersimpan warnanya berubah agak ke kuning-kuningan berserabut. Karakteristik pertumbuhan menunjukkan bahwa waktu adaptasi BAL isolat (UM1.4A) selama 14 jam dan fase pertumbuhan, pada jam ke-15 isolat BAL memasuki fase logaritmik (pertumbuhan) sampai pada jam ke-24, pada jam ke-25 sampai jam ke-26 isolat BAL memasuki fase stasioner (tetap) dan pada jam ke-25 isolat BAL sudah memasuki fase kematian. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu optimum untuk memproduksi enzim amilase dari BAL (UM1.4A) adalah jam ke-24.

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 (Sianturi, 2008). Enzim adalah molekul biopolimer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim yang memiliki peranan penting dalam berbagai reaksi di dalam sel hidup sebagai katalis yaitu enzim hidrolase. Enzim hidrolase adalah enzim yang mampu memutuskan ikatan kimia dengan penambahan air. Beberapa contoh dari enzim hidrolase adalah amilase, protease, dan lipase (Voet *et al.*, 2006).

Amilase merupakan enzim yang menghidrolisa molekul pati untuk menghasilkan produk bervariasi, salah satunya yaitu dekstrin (Chung *et al.*, 1997). Enzim ini memiliki peranan penting pada aplikasi untuk skala yang sangat luas mulai dari industri tekstil, konversi pati untuk gula sirup, produksi cyclodextrin untuk industri farmasi (Aiyer, 2005). Hal ini mengakibatkan kebutuhan enzim amilase sangat tinggi di dunia industri, 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 (Dewan, 2017). *Bacillus licheniformis* dan *Aspergillus* sp. Diproduksi sekitar 300 ton enzim murni pertahun (Sivaramkrishnan *et al.*, 2006). Oleh karena enzim ini bernilai sangat komersial maka perlu ditemukan sumber-sumber yang cukup luas sebagai penghasil enzim amilase sesuai dengan karakteristik enzim amilase yang dibutuhkan.

Enzim alfa amilase dapat diisolasi dari hewan, tumbuhan dan mikroorganisme (Azmi, 2006). Beberapa jenis mikroorganisme seperti bakteri, kapang, dan khamir merupakan mikroorganisme penghasil amilase (Reddy *et al.*, 2003). Penggunaan enzim dari mikroorganisme memiliki beberapa kelebihan diantaranya : lebih mudah isolasinya, lebih sederhana dibandingkan enzim yang berasal dari tumbuhan maupun hewan dan dapat dikendalikan dengan baik pada proses pembuatannya (Wang, 1979). Mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim amilase adalah bakteri, salah satunya yaitu bakteri asam laktat (BAL).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, katalase negatif yang dapat memproduksi asam laktat dengan cara memfermentasi karbohidrat. BAL yang memiliki kemampuan memanfaatkan pati sebagai substrat dikenal sebagai BAL penghasil amilase (Moradi *et al.*, 2014).

Adriyani (2008), melaporkan bahwa sampel *wikau maombo* yang di fermentasi selama 1, 2, 3 dan 4 hari diperoleh isolat BAL yang merupakan genus *Corynebacterium*, *Acetobacterium*, *Streptococcus*, *Sthapylococcus*, *Enterobacter* dan *Aeromicrobium*. Berdasarkan hasil skrining isolat BAL dari *wikau maombo* yang di fermentasi selama 3 hari menghasilkan 11 isolat BAL dimana 8 isolat dari ubi kayu manis dan 3 isolat dari ubi kayu pahit (Aguswinarto, 2016).



Hasil karakterisasi uji hidrolisis pati dari 11 isolat bakteri asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi *wikau maombo* menunjukkan bahwa 8 isolat bakteri asam laktat yaitu isolat UP1.3A, UM1.1A, UM1.2A, UM1.3A, UM1.4A, UM1.5A, UM1.6A dan UM1.7A bereaksi positif terhadap uji hidrolisis pati yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar daerah koloni pertumbuhan BAL. Berdasarkan isolat yang bereaksi positif terhadap uji hidrolisis pati, diperoleh diameter zona bening uji hidrolisis pati isolat BAL terdapat pada isolat UM 1.4A dengan diameter sebesar 2,18 mm dan ukuran diameter zona bening terendah terdapat pada isolat UM 1.7A dengan diameter 1,16 mm (Elvhira, 2016).

Berdasarkan uraian di atas, maka dalam penelitian ini peneliti mengkaji tentang karakteristik enzim amilase dari isolat bakteri asam laktat (UM1.4A) hasil dari fermentasi ubi kayu manis *wikau maombo* yang merupakan salah satu makanan lokal khas Sulawesi Tenggara Daerah Buton. Karakteristik tersebut meliputi: morfologi dan pertumbuhan bakteri asam laktat (UM1.4A). Hal ini bertujuan untuk mengungkap potensi enzim amilase dari BAL *wikau maombo* hasil fermentasi ubi kayu manis khas Sulawesi Tenggara yang sebelumnya belum pernah dilakukan sehingga dapat diaplikasikan pada proses produksi produk pangan dan kesehatan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Isolat Bakteri Asam Laktat (UM1.4A), MRSA (deMann Rogosa Sharpe Agar), MRSB (deMann Rogosa Sharpe Broth), dan Aquades

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Peremajaan Isolat BAL UM1.4A (Morfologi).

Isolat bakteri tumbuh dengan cepat, sehingga harus diremajakan dalam satu medium yang mengandung nutrisi untuk kebutuhan pertumbuhannya. Caranya dengan memindahkan ulang isolat ke dalam 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 yaitu: sebanyak 1 ose dari kultur bakteri yang telah disegarkan pada media tabung miring MRS Agar diinokulasi ke dalam Erlemeyer 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 enzim dari isolat Bakteri Asam Laktat (UM1.4A) hasil fermentasi *wikau maombo*, dan dianalisis secara deskriptif dengan mengkaji semua hasil karakterisasi enzim dari isolat BAL (UM1.4A), sehingga diperoleh gambaran atau keterangan karakteristik enzim dari isolate tersebut.

Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu uji karakterisasi dari isolat bakteri asam laktat (UM1.4A) dari hasil fermentasi *wikau maombo* yang meliputi morfologi dan karakteristik pertumbuhan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) (UM1.4A)

Hasil dari karakteristik morfologi BAL isolat(UM1.4A) dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Morfologi isolat UM1.4A

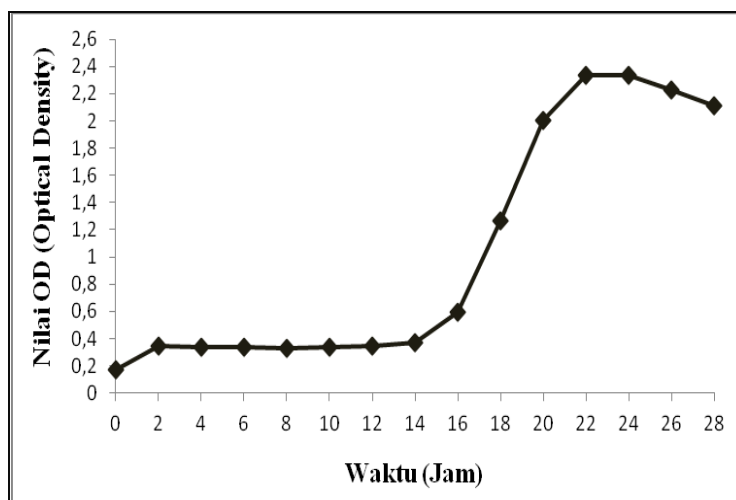
Peremajaan isolat bertujuan untuk meregenerasi atau memperbarui sel bakteri, menjaga ketersediaan nutrisi dan untuk menghindari adanya perubahan karakteristik dari kultur murni yang ditanam. Peremajaan dilakukan secara aseptis untuk menghindari adanya kontaminan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara memijarkan jarum ose di atas api tempat biakan di atas api segera sebelum dan sesudah menggores pada media (Sutedjo, 1996) dengan cara mengambil sebanyak 1 ose BAL UM1.4A dan digoreskan



secara aseptis pada media MRS agar miring (Gambar 1) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Inkubasi dilakukan selama 24 jam karena pada selang waktu tersebut diasumsikan bakteri telah mengalami fase logaritmik atau eksponensial yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel sehingga bakteri siap dipanen (Dwijoseputro, 1994). Isolat bakteri asam laktat UM1.4A yang diremajakan dalam penelitian ini memiliki karakterisasi diantaranya memiliki koloni bulat, berwarna putih susu, permukaan koloni licin dan ketika isolat tersebut sudah lama tersimpan warnanya berubah agak kekuning-kuningan berserabut. Hal ini di dukung oleh penelitian (Holt *et al.*, 1994) menyatakan koloni bakteri asam laktat yang ditemukan berdasarkan perubahan warna media menjadi kuning muda (atau putih susu) di sekitar lokasi tumbuh bakteri. Isolat bakteri asam laktat yang memiliki koloni yang sama dianggap sebagai 1 jenis (strain) sedangkan Laily (2013) menyatakan bahwa isolat BAL yang diisolasi dari sawi menunjukkan morfologi berbentuk batang, berwarna krem, agak jernih, rata dan permukaan licin.

Karakteristik Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Kurva pertumbuhan isolat bakteri asam laktat UM1.4A menunjukkan bahwa waktu adaptasi yang panjang yaitu tumbuh pada waktu 0-14 dan fase pertumbuhan optimum isolat yaitu pada jam ke-24 (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).



Pembuatan kurva pertumbuhan merupakan bagian yang penting dari suatu penelitian karena dapat menggambarkan karakteristik pertumbuhan bakteri. Selain itu, perhitungan waktu generasi juga diperlukan untuk mengetahui prediksi populasi setiap mikroorganisme dalam jangka waktu yang sama dengan keaktifannya dalam proses metabolisme (Fardiaz, 1992).



Kurva pertumbuhan adalah suatu informasi mengenai fase hidup suatu bakteri, fase-fase hidup bakteri pada umumnya meliputi, adaptasi, log (pertumbuhan eksponensial), stationer, kematian. Kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui kecepatan pertumbuhan sel dan pengaruh lingkungan terhadap kecepatan pertumbuhan. Langkah awal untuk mengetahui kurva pertumbuhan bakteri ialah dengan isolasi bakteri.

Kurva pertumbuhan bakteri asam laktat isolat UM1.4A menunjukkan bahwa waktu adaptasi yang panjang yaitu tumbuh pada waktu 0-14 jam telah memasuki fase logaritmik yang dicirikan dengan adanya pertumbuhan yang signifikan dari sel-selnya.

Mikroba yang 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). Pada penelitian yang dilakukan Yuliana (2008) menunjukkan bahwa pada jam ke-9 BAL isolat T5 yang diisolasi dari tempoyak sudah memasuki fase logaritmik. Fase logaritmik dari isolat UM.1.4A ini berlangsung lama yaitu mulai pada jam ke-15 sampai pada jam ke-20, dengan nilai OD sebesar 2,008 A.

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 dengan laju pertumbuhan spesifik (μ) 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 BAL UM1.4A mengalami fase pertumbuhan yang relatif tetap atau memasuki fase stationer Yuliana (2008) menyatakan bahwa waktu pertumbuhan ke-18 hingga akhir pertumbuhan ke-30 sel isolat T5 BAL yang diisolasi dari tempoyak mengalami fase stationer. 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 stationer menjadi lebih kecil-kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis. 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 UM1.4A mengalami fase kematian (death Phase) pada fase ini jumlah sel bakteri yang mati lebih banyak dari jumlah bakteri yang hidup.

KESIMPULAN

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa karakteristik morfologi isolat bakteri asam laktat UM1.4A memiliki karakteristik diantaranya: memiliki koloni bulat, berwarna putih susu, permukaan koloni licin dan ketika isolat tersebut sudah lama tersimpan warnanya berubah agak kekuning-kuningan berserabut. Karakteristik pertumbuhan menunjukkan bahwa waktu adaptasi BAL isolat (UM1.4A) selama 14 jam dan fase pertumbuhan, pada jam ke-15 isolat BAL memasuki fase logaritmik (pertumbuhan) sampai pada jam ke-24, pada jam ke-23 sampai jam ke-26 isolat BAL memasuki fase stasioner (tetap) dan pada jam ke-25 isolat BAL sudah memasuki fase kematian. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu optimum untuk memproduksi enzim amilase dari BAL (UM1.4A) adalah jam ke-24.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguswinarto. 2016. Aktifitas anti mikroba bakteri asam laktat asal *wikau maombo* terhadap bakteri patogen *E. Coli* dan aplikasinya pada pembuatan minuman prebiotik gula aren. Skripsi. Fakultas Teknologi dan Industri Pertanian. Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Aiyer PV. 2005. Amylases and their applications. African Journal of Biotechnology. 4: 125–1529.
- Chung, A. P., Rainey, F., Nobre, M. F., Burghardt, J., da Costa, M. S., (1997), *Meiothermus Cerbereus* sp. Nov., a New Slightly Thermophilic Species with High Levels of 3-Hydroxy Fatty Acids, Int. J. Syst. Bacteriol, 47: 1225–1230.
- Dewan, S, S. 2017. Global Markets for Enzymes in Industrial Applications. BIO030J. www.bccresearch.com 8/03/2017.
- Dwidijoseputro D.1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djambatan.
- Elvhira, I. 2016. Karakterisasi Sifat Biokimia Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi *Wikau Maombo*. Skripsi. Fakultas Teknologi dan Industri Pertanian. Universitas Halu Oleo : Kendari.
- 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.
- Holt J G, Krieg N R, Sneath P H, Stanley J T, & Williams S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth
- Judoamidjojo, M., A.A. Darwis, dan E.G. Sa'id. 1990. *Teknologi Fermentasi*. Rajawali Pers. Jakarta.



- 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*. 4(2) : 179-184
- 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*. Mikrobiologi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Moradi M, Shariati P, Tabandeh F, Yakhchali B, Khaniki GB. 2014. Screening and isolation of powerful amyolytic bacterial strains. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(2): 758-768
- Reddy, G., Altaf., Naveena B. J., Venkateshwar M dan Vijay, K. E. 2008. Amylolityc bacterial lactid acid fermentation- A. Review. *Biotechnol. Adv*. 1(26) : 22-34
- Sa'id, E.G. 1987. *Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi*. PT. Melton Putra. Jakarta.
- Scragg, A.H. 1991. *Bioreactors in Biotechnology, A Practical Approach*. Ellis Horword, New York. Edition. Williams and Wilkins: New York.
- Sianturi, D.C. 2008. *Isolasi Baktei dan Uji Aktivitas Amylase Termofil Kasar dari Sumber Air Panaspanen Sebiru Biru Sumatra Utara*. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatra Utara : Medan.
- Voet, Donald dan Judith G, 2006 *Biochemistry Volume I*,J. Wiley and Sons, Canada.
- Wang, D.I.C, C.L. Conney, A.L. Demain, P. Dunhill, A.E, Humprey and M.D. Lily, 1979. *Fermentation and Enzyme Technology*. John Willey and Sons, New York, pp: 46.
- Yuliana, N. 2008. Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 Yang Berasal Dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 3(2):108-116.