

ISOLASI BAKTERI AMILOLITIK DARI RAGI

Jefri Nur Hidayat, Dyah Ayu Fajariningtyas.
Prodi.Pendidikan IPA FKIP Universitas Wiraraja.
e-mail: jefryayak@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri amilolitik dan untuk mengetahui aktifitas amilase. Uji aktifitas kualitatif amilase menggunakan media SSA. Hasil isolasi bakteri yang diisolasi dari ragi tape berjumlah 7 isolat. Kemudian 7 isolat bakteri diberi kode: a, b, c, d, e, f dan j. Tujuh isolat dilakukan seleksi atau skrining dengan menumbuhkan pada medium Soluble Starch Agar (SSA). Hasil seleksi diperoleh 4 isolat yang menunjukkan adanya aktifitas amilase ekstraseluler. Aktifitas enzim tertinggi terdapat pada isolat j yang memiliki indeks zona bening koloni sebesar 12. Setiap kinerja enzim dipengaruhi oleh keadaan lingkungan seperti pH dan suhu. Enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya, terutama pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal aminonya. Peningkatan aktifitas enzim dapat disebabkan oleh terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim substrat.

Kata kunci : Ragi, bakteri, amilolitik.

PENDAHULUAN

Perkuliahan di program studi pendidikan IPA terdiri dari 2 kegiatan yaitu materi dan praktikum. Pelaksanaan praktikum bertujuan untuk mengembangkan keterampilan dasar melakukan eksperimen, kemampuan memecahkan masalah dengan pendekatan ilmiah, dan pemahaman mengenai materi pelajaran (Novianti, 2011). Selain itu, praktikum juga bertujuan untuk meningkatkan pemahaman materi secara kontekstual. Beberapa perkuliahan berpraktikum yang dilaksanakan di program studi pendidikan IPA seperti bioteknologi, kimia rumah tangga, kimia bahan pangan, mikrobiologi terapan dan IPTEK selalu berkaitan dengan enzim. Pembelajaran enzim secara kontekstual dapat menggunakan mikroba penghasil enzim ekstraseluler. Enzim ini akan dikeluarkan kelingkungan sehingga dapat diamati secara nyata dan memudahkan pemahaman materi tentang enzim.

Kegiatan praktikum dapat menggunakan beberapa jenis enzim yang dikenal seperti amilase, selulase, protease, dan lipase. Enzim merupakan biokatalisator

yang dapat memecah senyawa kompleks menjadi sederhana. Kegiatan praktikum enzim dapat menggunakan enzim yang dihasilkan oleh tumbuhan, hewan dan mikroba seperti bakteri dan fungi. Untuk mendapatkan bakteri yang dapat menghasilkan enzim maka dapat dilakukan isolasi yaitu proses pemisahan bakteri yang diinginkan dari mikroba lainnya. Kemudian dilanjutkan dengan skrining atau seleksi, yaitu pemisahan bakteri penghasil enzim dari bakteri lainnya. Enzim yang dihasilkan oleh mikroba memiliki kelebihan yaitu proses produksi yang singkat, mutunya lebih seragam, harga relatif murah (Suhartono, 1989) dan mudah diekstrak karena merupakan enzim ekstraseluler (Smith, 1995). Bakteri merupakan salah satu penghasil amilase selain khamir dan kapang. Bakteri amilolitik adalah bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan amilase diantaranya dari golongan *Bacillus* dan *Clostridium* (Schlegel, 1994).

Amilase merupakan kelompok enzim yang digunakan dalam memecah pati dan berperan penting dalam industri

pangan, terutama banyak digunakan dalam proses hidrolisis pati menjadi dekstrin dan selanjutnya menjadi maltosa dan glukosa (Ahmad, 2003). Selain itu, amilase juga digunakan dalam industri bahan bakar, tekstil, kertas, deterjen dan memilikipotensi aplikasi dalam klinik, medis dan kimia analitik (Natalia and Nurachman, 2006).

Bakteri amilolitik hidup pada tempat yang memiliki kadar amilum tinggi, misalnya pada tape. Bakteri amilolitik dari tape merupakan bakteri yang berasal dari ragi tape. Untuk mendapatkan bakteri amilolitik maka perlu dilakukan isolasi dan skrining bakteri dari iragi tape. Isolasi bakteri amilolitik pada ragi tape diharapkan dapat memperoleh bakteri yang mempunyai aktivitas amilolitik.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi, Program Studi Pendidikan IPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: tabung reaksi beserta raknya, pipet volume, pipet tetes, labu Erlenmeyer, cawan petri, gelas objek, gelas penutup, pipet mikro beserta tipnya, lampu Bunsen, jarum ose, tissue gulung, botol sprayer, *appendorf*, korek api, penggaris, pinset, botol tetes, aluminium foil, kertas doorslag, mikroskop, laminar air flow, vorteks, autoklaf, *shaker*, dan kompor gas.

Bahan yang digunakan antara lain: sampel yang berasal dari ragi tape, akuades, alkohol 70%, garam fisiologis (NaCl 0.85%), media nutrisi agar (NA), media Soluble Starch Agar (SSA), soluble starch substrate, larutan iodium, kristal iodin.

Pengambilan sampel

Sampel dari ragi diambil dengan menggunakan botol selai steril, kemudian

dimasukkan ke dalam termos steril dengan cepat. Pada saat pengambilan sampel juga dilakukan pengukuran suhu dan pH habitat sampel.

Isolasi Bakteri

Sampel ragi diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 90 ml garam fisiologis sehingga pengenceran 10^{-1} , kemudian dilakukan pengenceran 10^{-2} dengan cara mengambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml garam fisiologis. Cara ini dilakukan berulang-ulang sampai pengenceran 10^{-8} . Dari seri pengenceran tersebut diambil pengenceran 10^{-5} sampai 10^{-8} sebanyak 100 μ l lalu diinokulasikan secara pour plate dalam cawan petri yang berisi medium NA dan diinkubasi secara terbalik pada (suhu sesuai habitat) selama 48 jam.

Pemurnian Bakteri

Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil isolat isolat dengan karakteristik berbeda menggunakan jarum ose kemudian digoreskan untuk ditumbuhkan pada media NA pada (suhu sesuai habitat) selama 48 jam. Pemurnian dilakukan secara berulang-ulang sehingga didapatkan koloni koloni yang terpisah. Isolat murni yang sudah didapatkan ditumbuhkan pada tabung yang berisi medium NA yang akan digunakan sebagai stok.

Peremajaan dan Skrining

Isolat murni yang sudah didapatkan ditumbuhkan pada tabung yang berisi medium NA yang akan digunakan sebagai stok. Kemudian inokulasikan isolat yang didapat dari pemurnian bakteri pada medium Soluble Starch Agar (SSA), dan diinkubasi pada suhu habitat selama 48 jam.

Uji Aktivitas Amilase Pada Media SSA

Uji aktivitas amilase dilakukan dengan menginokulasikan isolat yang

didapat dari pemurnian bakteri pada medium SSA, dan diinkubasi pada suhu habitat selama 48 jam. Aktivitas amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni. Pengamatan zona bening dapat dilakukan dengan menaburi permukaan media dengan larutan iodine kemudian posisi cawan dibalik dengan media berada di posisi atas. Indeks aktivitas amilase diketahui dengan mengukur rasio diameter diameter zona bening dengan diameter koloni. Isolat dengan indeks aktivitas amilase terbesar diasumsikan memiliki tingkat aktivitas enzim yang tinggi dan akan digunakan untuk pengujian selanjutnya. Hasil indeks aktivitas amilase selanjutnya dianalisis secara kualitatif deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ragi merupakan salah satu bahan dalam membuat makanan fermentasi seperti tape. Ragi tape terbuat dari bahan rempah rempah yang diproses dan didiamkan selama 3 hari diruang terbuka. Rempah rempah memiliki kandungan nutrisi yang diperlukan oleh mikroba sehingga pada saat didiamkan dalam ruang terbuka akan ditumbuhi mikroba seperti bakteri dan fungi. Mikroba mikroba pada ragi tape akan menguraikan pati atau tepung pada tape menjadi disakarida atau gula sehingga tape

memiliki rasa manis. Mikroba yang menghasilkan enzim dapat diterapkan atau digunakan dalam praktikum seperti bioteknologi, mikrobiologi terapan dan IPTEK. Hasil isolasi bakteri yang diisolasi dari ragi tape berjumlah 7 isolat. Kemudian 7 isolat bakteri diberi kode: a, b, c, d, e, f dan j. Tujuh isolat dilakukan seleksi atau skrining dengan menumbuhkan pada medium *Soluble Starch Agar* (SSA). Hasil seleksi diperoleh 4 isolat yang menunjukkan adanya aktifitas amilase ekstraseluler. Amilase ekstraseluler akan diinduksi dan dikeluarkan kelingkungan ketika bahan penginduksi tersedia. Amilase merupakan biokatalisator yang dapat memecah senyawa kompleks menjadi sederhana. Senyawa kompleks seperti karbohidrat dalam bentuk polisakarida akan dipecah atau diuraikan menjadi disakarida dan monosakarida. Aktifitas amilase dapat dilihat dari zona bening disekitar koloni yang terbentuk ketika ditambahkan iodine, sedangkan daerah lainnya pada media berwarna biru. Warna biru yang khas disebabkan oleh terikatnya iodine dengan amilum/polisakarida membentuk amilumiodine yang kompleks (Page, 1997) dimana iodine terikat pada konformasi helisal (Fessenden, 1997). Besarnya indeks zona bening dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Aktifitas Amilase Berdasarkan Nilai Indeks Zona Bening Koloni pada Media SSA dengan Inkubasi 48 Jam pada Suhu 30⁰C.

Kode Isolat	Ulangan	Φ Koloni (cm)	Φ Zona Bening (cm)	Indeks(cm)	Rata-Rata (cm)
b	1	0,4	0,7	1,75	1,87
	2	0,3	0,6	2	
d	1	0,15	1,55	10,33	10,33
	2	0,15	1,55	10,33	
e	1	0,2	1,6	8	8
	2	0,2	1,6	8	
j	1	0,1	1,2	12	12
	2	0,1	1,2	12	

Berdasarkan data pada tabel 1, menunjukkan bahwa aktifitas enzim tertinggi terdapat pada isolat j. Setiap kinerja enzim dipengaruhi oleh keadaan lingkungan seperti pH dan suhu. Enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya, terutama pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal aminonya. Peningkatan aktifitas enzim dapat disebabkan oleh terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim substrat (Winarno, 1995). Isolat bakteri j belum menunjukkan aktifitas enzim yang optimal. Beberapa bakteri amilolitik meliputi golongan *Bacillus* dan *Clostridium* bersifat mesotermofil ataupun termofil sehingga enzim yang dihasilkan tahan terhadap panas (Fardiaz, 1989). Pada umumnya semakin tinggi suhu maka semakin meningkat laju reaksi kimia baik yang tidak dikatalis maupun yang dikatalis oleh enzim (Fardiaz, 1989). Enzim merupakan suatu protein, suhu yang terlalu tinggi dapat memecah dan merusak enzim sehingga enzim menjadi inaktif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan :

1. Hasil isolasi bakteri yang diisolasi dari ragi tape berjumlah 7 isolat yaitu: a, b, c, d, e, f dan j.
2. Hasil seleksi diperoleh 4 isolat yang menunjukkan adanya aktifitas amilase
3. Aktifitas amilase tertinggi terdapat pada isolat j dengan indek zona bening sebesar 12 cm.

Saran

Setiap kinerja enzim dipengaruhi oleh keadaan lingkungan seperti pH dan suhu. Maka perlu dilakukan pengujian aktifitas enzim pada berbagai variasi pH dan suhu untuk mengetahui aktifitas optimal amilase.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. 2003 Purification and Characterization of Amyloglucosidase Enzyme from *Endomycopsis fibuligera*. *ISTEC JOURNAL Vol IV:47-55*.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka.
- Fessenden, R. J., and Fessenden, J. S. 1997. *Dasar-Dasar Kimia Organik*. Jilid II. Terjemahan Dra. Sukmariah Maun, Dra. Kamianti Anas, dan Dra. Tilda Sally. Jakarta Barat: Binarupa Aksara.
- Natalia, D., and Nurachman, Z. 2006. *Enzim Pengubah Pati dalam Bakteri, ragi dan Cacing Tanah*. www.fmipa.itb.ac.id/wp-content/uploads/2006/09/abstrak%20dr%20desy%2013%20sept%202006.pdf. [06April 2007].
- Novianti, N.R. 2011. Kontribusi Pengelolaan Laboratorium dan Motivasi Belajar Siswa Terhadap Efektivitas Proses Pembelajaran. *Jurnal UPI* (1): 158-166.
- Page, D. S. 1989. *Prinsip-Prinsip Biokimia*. edisi kedua. Surabaya : PT. Gelora Aksara Pratama.
- Schlegel, H,G and Karin Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Edisi keenam. Terjemahan Tedjo Baskoro dari Allgenering Mikrobiologie. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Suhartono, M. T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: Departemen Pendidikan dan kebudayaan direktorat jenderal pendidikan tinggi antar universitas bioteknologi ITB.
- Smith, J. E. 1995. *Bioteknologi*. Edisi kedua. Terjemahan A. hartono dari Biotechnology (1988). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Winarno, 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.