

EKSPLORASI DAN IDENTIFIKASI MIKROBA PENGHASIL ENZIM AMILASE DAN LIPASE DARI OLAHAN PRODUK MAKANAN DAN MINUMAN

Sri Wahyuni¹⁾
Teguh Satria Amin²⁾
Amy Sartika Daulay³⁾
Muhammad Zakaria Zebua⁴⁾

Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah
Jl. Garu II A, Harjosari I, Kec. Medan Amplas, Kota Medan, Sumatera Utara
email : sriwahyuni@umnaw.ac.id

Abstrak

Enzim adalah suatu protein biokatalisator yang diproduksi oleh sel-sel hidup termasuk mikroorganisme, yang bertujuan untuk mengkatalis reaksi-reaksi biokimia yang diperlukan selama metabolisme sel. Dewasa ini enzim sudah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan komersial didalam industri, produk pertanian, kimia dan medis karena efisien kerja yang tinggi dapat dihasilkan dari berbagai sumber dengan biaya yang lebih rendah. Enzim merupakan salah satu produk alami yang memegang peranan penting dalam berbagai aplikasi industri, mulai dari proses pengolahan makanan sampai produk bahan kimia

Kata Kunci : Enzim, Amilase, Lipase

Abstract

Enzymes are biocatalytic proteins produced by living cells including microorganisms, which aim to catalyze the biochemical reactions required during cellular metabolism. Nowadays enzymes have been widely used for various commercial purposes in industry, agricultural products, chemical and medical because high work efficiency can be produced from various sources at lower costs. Enzymes are natural products that play an important role in various industrial applications, from food processing to chemical products

Keywords : Enzyme, Amylase, Lypase

1. PENDAHULUAN

Enzim adalah suatu protein biokatalisator yang diproduksi oleh sel-sel hidup termasuk mikroorganisme, yang bertujuan untuk mengkatalis reaksi-reaksi biokimia yang diperlukan selama metabolisme sel. Enzim dapat dibedakan berdasarkan tempat aktivitasnya, yaitu intraseluler dan ekstraseluler. Enzim intraseluler bekerja didalam sel dan memegang peranan penting dalam memecah makanan yang diabsorbsi ke dalam sel untuk metabolisme. Enzim ekstraseluler diproduksi oleh sel, dan dikeluarkan melalui dinding sel ke medium sekelilingnya dan bekerja diluar sel, yaitu memecah komponen-komponen didalam medium seperti protein, karbohidrat dan lemak. Enzim akan bekerja spesifik sesuai dengan tempatnya bekerja, selanjutnya mikroorganisme yang memproduksi enzim juga akan tumbuh pada substrat yang spesifik

Enzim yang bersumber darimikroorganisme secara umum banyak diminati oleh industri sebab memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dari sumber lain seperti hewan dan tumbuhan. Dewasa ini enzim sudah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan komersial didalam industri, produk pertanian, kimia dan medis karena efisien kerjayang tinggi dapat dihasilkan dari berbagai sumber dengan biaya yang lebih rendah. Enzim merupakan salah satu produk alami yang memegang peranan penting dalam berbagai aplikasi

industri, mulai dari proses pengolahan makanan sampai produk bahan kimia berharga [1] Sebenarnya enzim bukan hal yang baru dikalangan masyarakat karena secara tradisional telah digunakan sejak dahulu kala, seperti dalam pembuatan keju, penyamakan kulit dan pelunak daging. Sifat-sifat tersebut menyebabkan penggunaan enzim semakin meningkat dari tahun ke tahun, peningkatan diperkirakan mencapai 10-15% per tahun. Salah satu kelompok enzim yang memiliki manfaat yang sangat penting dalam bidang industri adalah hidrolitik. Produksi dan perdagangan enzim didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti amilase, protease, selulase, katalase dan lipase. Banyak penelitian yang dilakukan baik di Indonesia maupun di luar Indonesia untuk mencari dan mendapatkan informasi tentang penghasil enzim hidrolitik ini [2] Amilase yang paling umum digunakan dalam industri makanan adalah golongan α -amilase. Sampai saat ini, Indonesia masih mengimpor enzim ini dari beberapa negara, karena belum adanya industri yang memproduksi enzim ini. Padahal Indonesia memiliki biodiversitas mikroba yang tinggi yang potensial untuk menghasilkan α -amilase. Amilase umumnya dapat diisolasi dari berbagai macam sumber, seperti tanaman, hewan dan mikroorganisme. Namun, enzim amilase untuk keperluan industri sebagian besar diisolasi dari mikroba.

Pemilihan mikroba sebagai sumber enzim karena mempunyai beberapa keuntungan bila dibandingkan dengan enzim yang diisolasi dari tumbuhan maupun hewan, seperti mudah ditumbuhkan, pertumbuhan cepat, skala produksi sel mudah ditingkatkan, biaya produksi relatif lebih murah, dan kondisi produksi tidak tergantung perubahan musim dan waktu. Untuk pemanfaatan kekayaan biodiversitas mikroba nasional sebagai salah satu sumber enzim amilase yang potensial.

Enzim lipase merupakan salah satu enzim yang berperan penting dalam bioteknologi modern. Lipase dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi hidrolisis, esterifikasi, alkoholisis, asidolisis dan aminolisis. Enzim lipase memiliki cakupan aplikasi yang luas dalam bidang bioteknologi seperti produksi pestisida, pengolahan limbah, industri makanan (pembuatan rotidan keju), biosensor, detergen, industri kulit, pembuatan kertas dan industri oleokimia. Enzim lipase belakangan ini muncul sebagai enzim kunci dalam perkembangan bioteknologi dengan cepat, karena cirri mereka yang beragam. Enzim lipase banyak ditemukan dalam berbagai hewan, tanaman, bakteri, kapang dan jamur. Umumnya banyak yang menyukai enzim yang berasal dari mikroorganisme karena mereka berpotensi secara aplikasi dalam berbagai industri. Lipase menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas, gliserida parsial dan gliserol. Trigliserida sebagai substrat terdiri dari asam lemak rantai panjang yang tidak larut dalam air [3]. Dari uraian di atas, maka peran dari enzim sangatlah penting di segala aspek oleh sebab itu diperlukanlah enzim yang diisolasi dari mikroba karena memiliki banyak keuntungan dibandingkan diisolasi dari tumbuhan atau hewan.

2. METODE

2.1. Isolasi Mikroorganisme

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat dengan cara sebanyak 5 tabung reaksi steril masing-masing diisi NaCl fisiologis sebanyak 9 ml, lalu tabung reaksi diberi label pengenceran 10-1, 10-2, 10-3, dan 10-4. Sampel di pipet sebanyak 1 ml dari setiap sampel dan lalu dimasukkan ke dalam tabung pengenceran 10-1 dan dihomogenkan. Lalu dari tabung pengenceran 10-1 diambil sampel sebanyak 1 mL lalu dimasukkan ke tabung pengenceran 10-2. Pengenceran dilakukan secara bertingkat hingga 10-4. Sampel hasil pengenceran selanjutnya dikultur pada media *Nutrient Agar* yang mengandung stachpati diinkubasi 24 jam pada temperatur 37°C untuk isolate bakteri amilase.

2.2. Purifikasi mikroorganisme

Hasil pemurnian kultur tahap pertama, selanjutnya dilakukan subkultur tahap kedua di medium *Nutrient Agar* (NA) dengan cara diambil 1ml dilanjutkan metode sebar (*spread plate*) secara aseptis diatas media padat *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 3 kali atau hingga diperoleh koloni murni yang konsisten dan tidak bercampur dengan koloni bakteri lain. Inokulum kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2.3. Uji Aktivitas Hidrolitik

Potensi enzim amilase dilakukan dengan cara koloni bakteri yang murni diinokulasi pada medium *Starch Agar*. Isolat bakteri disuspensikan dalam larutan *NaCl* fisiologis sampai kekeruhannya sama dengan kekeruhan Larutan Mac Farland 0,5 standart yang setara dengan 10⁸ CFU. Dari tiap suspensi bakteri diambil 5 µl suspensi dengan menggunakan mikropipet, lalu ditetaskan dengan tepat pada bagian tengah cawan petri yang sudah berisi media *Starch Agar* yang disterilkan kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Lalu, ditetaskan beberapa tetes *Gram's iodine* sebagai indikator adanya glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis substrat oleh enzim amilase dari bakteri. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada bagian yang ditumbuhi bakteri. Hal ini menandakan bahwa isolat bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis pati yang terkandung dalam media tersebut. Sedangkan uji hidrolisis lemak dapat dilihat dari terbentuknya zona bening di sekitar media yang mengandung lipid.

2.4. Seleksi Mikroorganisme

a. Pengamatan morfologi

Identifikasi ini meliputi bentuk, elevasi, margin, ukuran, konsisten, warna, sifat. Lalu dilakukan pengamatan mikroskopis, meliputi morfologi sel dan warna. Bakteri Gram-positif akan berwarna biru keunguan, sedangkan bakteri Gram-negatif akan berwarna merah (Waluyo, 2005).

b. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui morfologi sel dengan cara 1 ose biakan sampel ditetaskan pada kaca objek, lalu difiksasi diatas api, ditetesi pewarnaan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya ditetesi alkohol 96% dan dibiarkan selama 10-20 detik, dicuci dengan air mengalir dan ditambahkan safranin dibiarkan selama 20-30 detik, kemudian dicuci lagi dengan menggunakan kertas serap dan ditambahkan minyak imersi, lalu diamati dibawah mikroskop. Bila pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah, maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif (Fitri dkk, 2011).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakterisasi Morfologi Mikroba Penghasil Amilase dan Lipase dari Sampel Makanan dan Minuman

Isolasi mikroba penghasil enzim amilase dari beberapa sampel makanan dan inuman, diperoleh karakterisasi isolate sebagai berikut :

Tabel 1. Morfologi Bakteri Penghasil Amilase

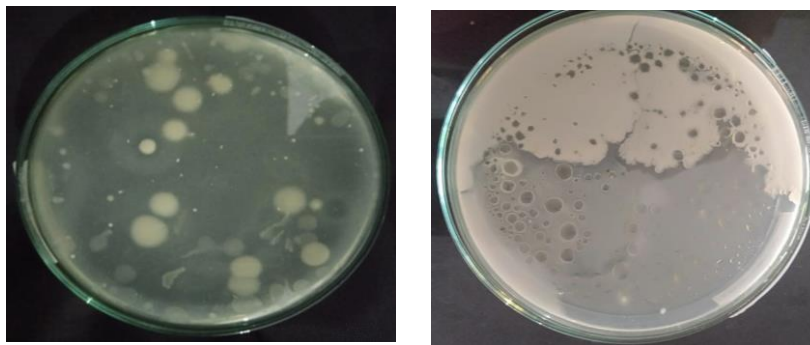
Sumber Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
1. Saluran Cerna Ikan Nila	Circular	Entire	Flat	Krem
	Irregular	Lobate	Flat	Krem
	Circular	Undulate	raised	krem
	Irregular	Undulate	Flat	putih

	Irregular	Entire	Convex	Krem
	Circular	Lobate	Flat	Putih
2. Susu fermentasi	Irregular	Undulate	Flat	Krem
	Circular	Entire	Raised	Krem
	Irregular	Lobate	Flat	Krem
3. Asinan Sawi	Irregular	Lobate	Flat	Krem
4. Jus Apel	Circular	Entire	Flat	Krem

Tabel 2. Morfologi Bakteri penghasil Lipase

Sumber Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
Saluran Cerna Ikan	Irregular	Entire	Convex	Krem
	Circular	Lobate	Flat	Putih
Susu Fermentasi	Circular	Entire	Raised	Krem
Asinan Sawi	Circular	Entire	Flat	Putih
Jus Apel	-	-	-	-

Dari Tabel 2. diperoleh bahwa Jumlah koloni bakteri yang terdapat pada media yang mengandung pati (Starch Agar) pada sampel saluran cerna ikan berjumlah 6 bentuk karakteristik, pada susu fermentasi 3 karakteristik dan asinan sawi serta Jus apel masing 1 karakteristik. Keberadaan koloni sampel mikroba yang terdapat pada makanan dan minuman menunjukkan bahwa mikroba mampu tumbuh pada media dengan substrat yang mengandung pati dan lemak. Mikroba yang tumbuh pada media tersebut mampu menghidrolisis pati dan lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana.



Gambar 1. Koloni Bakteri

Menurut Singh et al 2014, bahwa kemampuan mikroba dapat tumbuh pada suatu medium mengindikasikan bahwa mikroba tersebut dapat menggunakan substrat bagi pertumbuhannya. Jumlah koloni yang diperoleh pada saluran cerna pada media pati memiliki 6 karakteristik, Jumlah koloni pada saluran ikan termasuk kategori yang besar. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa pada saluran cerna banyak terdapat mikroba yang memiliki banyak peran dalam melakukan proses pencernaan makanan.

Menurut kurniasih, 2013. Menunjukkan bahwa kebanyakan bakteri yang menempati saluran cerna memiliki aktivitas yang tinggi dalam penyerapan nutrisi, hal tersebut karena terdapat enzim pencernaan antara lain amylase yang mampu melakukan aktivitas metabolisme karbohidrat menjadi gula yang lebih sederhana. Selain itu ada enzim lipase yang dapat mengubahnya dalam bentuk asam lemak. Adanya enzim tersebut dapat memenuhi kebutuhan ikan dalam beraktivitas, tumbuh dan menjadi sistem imun baginya.

Pada susu fermentasi jumlah koloni yang diperoleh ada 3 karakteristik bentuk. Susu fermentasi merupakan salah satu sumber makanan yang mengandung mikroba yang menguntungkan khususnya bagi pencernaan manusia yang memiliki manfaat untuk

menyeimbangkan mikroba yang menguntungkan di usus sehingga kita memiliki tingkat ketahanan yang kuat dari serangan penyakit yang masuk ketubuh kita. Menurut Wibowo 2002, Susu memiliki kandungan nutrisi yang tinggi yang sangat baik sebagai substrat pertumbuhan mikroba.

Pada asinan sawi dan jus apel diperoleh jenis bakteri hanya 1 karakteristik saja dengan jumlah koloni lebih sedikit dibandingkan saluran cerna ikan dan susu fermentasi. Jenis asinan sayuran sawi dan jus buah juga memiliki isolat bakteri penghasil amylase dan lipase. Hal tersebut mengindikasikan bahwa sayur dan buah juga dapat dijadikan substrat pertumbuhan mikroba untuk berkembang karena memiliki nutrisi yang cocok untuk tempat pertumbuhan mikroba tersebut.



Gambar 2. Aktivitas Mikroba

Dari hasil isolat yang diperoleh untuk melihat aktivitas mikroba tersebut mampu menghidrolisis senyawa pati dapat dilakukan dengan ditetaskan Larutan Iodine. Hasil Positif uji pati menunjukkan disekitar koloni mengalami degradasi pati sehingga media disekeliling koloni berwarna bening. Sedangkan untuk melihat aktivitas bakteri pada media yang mengandung lemak terlihat disekitar koloni terdapat komponen minyak dan bakteri tampak seperti berpendar. Dari hasil aktivitas isolat yang telah dikarakterisasi diperoleh data::

Tabel 3. Hasil Positif Isolat memiliki potensi Amilase dan Lipase

Isolat penghasil Amilase	Isolat penghasil Lipase
Positif (A1,A2,A3,A4,A5,A6 dan A7)	Positif (A1,A4 dan A 7)

Dari Tabel 3 Menunjukkan bahwa mikroba yang memiliki hasil positif memiliki kemampuan dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu amylase dan lipase yang berperan dalam mendegradasi substat pati dan lemak pada media menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Silaban 2018, Hasil positif menunjukkan adanya zona hidrolisis yang dapat diamati dalam bentuk zona bening pada saat penambahan yodium. Produksi warna tersebut mengindikasikan bahwa yodium (dalam bentuk ion I³) terjebak dalam gulungan molekul beta amilosa. Pati memaksa atom yodium menjadi pengaturan linear di alur pusat koil amilosa. Dengan adanya transfer muatan antara pati dan yodium mengakibatkan yodium tepat menyerap cahaya tampak yang memberikan warna biru yang intens. Ketika pati dipecah menjadi unit karbohidrat yang lebih kecil karena aksi amylase, warna biru-hitam tidak diproduksi. sehingga efek yang tampak berwarna bening.

Bakteri amilolitik adalah jenis bakteri yang dapat memproduksi enzim amylase dan mampu memecah pati. Habitat bakteri amilolitik tersebut dapat berupa air tawar seperti danau, sungai dan kolam. Genus bakteri amilolitik yang cukup luas dikenal adalah Bacillus, Bacterioids, Lactobacillus, Clostridium, Micrococcus, Thermus, dan Actinomycetes (Reddy, 2003).

Pada bakteri yang positif terhadap lemak hanya terlihat pada bakteri dengan kode isolat A1, A4 dan A7. Indikasi positif enzim ekstraseluler dari bakteri yaitu lipase terlihat dari komponen lemak yang terurai dan membentuk zona bening. Menurut Oktavia 2016, Aktifitas bakteri mendegradasi lemak atau bakteri lipolitik berhubungan dengan kemampuan bakteri menghasilkan enzim lipase. Lipase adalah enzim yang dapat menghidrolisis trigliserol dan membebaskan asam lemak dan gliserol. Salah satu parameter untuk menentukan bakteri lipolitik potensial adalah terbentuknya zona bening pada media yang terlihat jelas secara visual.

3.2. Karakterisasi Mikroba dengan Pewarnaan Gram

Karakterisasi Mikroba dengan pewarnaan Gram diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 4. Karakter Mikroba

No	Kode Isolat	Hasil Pewarnaan Gram
1.	A1	Gram Positif
2	A2	Gram Positif
3	A3	Gram Positif
4.	A4	Gram Positif
5.	A5	Gram Positif
6.	A6	Gram Positif
7.	A7	Gram Positif

Dari hasil pewarnaan gram diperoleh semua isolat termasuk gram positif, Hal ini menunjukkan bahwa zat warna mampu terikat kuat di dinding sel bakteri oleh seluruh isolate, sehingga menunjukkan warna ungu. Menurut Fardiaz (1989), Bakteri Gram positif dan Gram negative dibedakan karena kemampuan dinding sel mengikat Kristal violet. Bakteri Gram positif mampu mengikat dengan kuat Kristal violet sedangkan bakteri gram negative tidak mampu mengikat dengan kuat Kristal violet dikarenakan dinding sel bakteri tersebut mengandung lipid dengan jumlah besar sehingga pada saat dekolorisasi dengan alcohol pori-pori tersebut membesar dan Kristal violet larut dalam alcohol. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa seluruh isolate bakteri berwarna ungu dan berbentuk basil/batang. Menurut De Vuyst & Vandamme (1994), bakteri asam laktat yang berbentuk basil/batang termasuk genus *Lactobacillus*, *Bacillus*.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Dari semua sampel yang di uji diperoleh jumlah isolate ada 7 dengan bentuk karakter morfologi yang berbeda berdasarkan hasil pengamatan secara visual.
2. Berdasarkan Aktivitas Uji Amilase diperoleh bakteri yang tergolong memiliki enzim ekstraselular yaitu enzim amylase, reaksi positif diperoleh bakteri tersebut mampu mendegradasi media pati dan lemak dengan menunjukkan warna bening di sekitar koloni.
3. Isolat yang telah dikarakterisasi berdasarkan pewarnaan yang dilakukan diperoleh hasil termasuk golongan gram positif dengan bentuk batang.

5. DAFTAR PUSTAKA

Rahmiati, Sri P., Endang Kusdiyanti. 2016. Eksplorasi Mikroba Penghasil Enzim- Enzim Hidrolitik di Kawasan Taman Nasional Lore Lindu Sulawesi Tengah. *Jurnal Bioma*. Vol 18.No.1.ISSN :14410-18801.Hal 14-19

- Suciati P, Wahju T, Endang Dewi, Heru.P.2016. Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla spp.*) Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. ISSN :2085-5842.
- Syahidah, Vonny, S. Rahmayuni. 2018. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Nira Aren Terfermentasi Spontan. *JOM Faperta*, Vol 5 No.1 April 2018
- Sunaryanto, R dan Kaseno. 2004. Pemisahan Enzim Glukoamilase dari Kaldu Fermentasi Menggunakan Membran Ultrafiltrasi. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*, ISSN: 1411-4216
- Syamsudin, Purwanti, S dan Taufick, A. 2008. Efektivitas Enzim dalam Sistem Lumpur Aktif pada Pengolahan Air Limbah Pulp dan Kertas. *Berita Selulosa* Vol. 43. No.2. pp. 83-92