

# Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik dari Tepung Sagu Basah dan Lingkungan Tempat Penyediaannya Secara Tradisional di Jayapura

SUPRAPTO<sup>1\*</sup> TRI GUNAEDI<sup>2</sup> DAN BASA T. RUMAHORBO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Pascasarjana Biologi, Universitas Cenderawasih, Jayapura

<sup>2</sup>Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Cenderawasih, Jayapura

Diterima: tanggal 24 Juni 2014 - Disetujui: tanggal 15 Agustus 2014

© 2014 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

## ABSTRACT

The study about the activity of the enzyme amylase from amylolytic bacterial isolates from wet sago starch and its traditional provision environment had been done in Jayapura. The purposes of this study were to determine the activity of amylase enzyme and to identify the bacteria isolated from wet sago starch and its processing environment in Jayapura district. The method used was an experimental laboratory in which isolation of amylolytic bacteria was performed by using nutrient agar medium with 1% soluble starch on spread pour plate method. The enzyme activity was detected with 0.2% iodine in 2% potassium iodide which were able to form a clear zone. The protein content of the crude enzyme extract was determined by the Bradford method using bovine serum albumin (BSA). Amylase enzyme activity was determined by the formula:  $DUN/ml = [(R0-R1)/R0]$  [dilution factor] DUN/ml (dextrinizing units per ml). The results showed that there were 15 isolates amylolytic bacteria. Four (4) bacterial isolates have amylolytic power of more than 30 mm. The amilase activity of amylolytic bacterial of all isolates were quite high: which were 35 577, 18 903, 32 106 and 46 600 U/mg for SU4, SU13, SU23 and SU40 respectively. The identification of isolates indicated that the three isolates are members of the *Bacillus cereus* ATCC 14 579 types with a similarity value of 71.70% to 81.10%, and one isolate is *Bacillus subtilis* ATCC 6501 members with a similarity value of 94.30%.

**Keywords:** Amylolytic bacteria, amylase activity, characterization, sago flour.

## PENDAHULUAN

Pengembangan pati menjadi produk bio-industri telah lama diusahakan. Salah satu jenis pati yang dimanfaatkan adalah pati sago (Kanro, 2003; Limbongan *et al.*, 2005). Jenis pati ini telah diusahakan melalui proses fermentasi, namun enzim yang digunakan sebagian besar masih impor (Nurhalijah, 2008). Proses fermentasi

diperlukan enzim amilase dari mikroba potensial yang mampu menghidrolisis pati menjadi gula dan asam organik (Pandey *et al.*, 2000).

Kemajuan teknologi fermentasi, rekayasa genetika dan teknologi aplikasi enzim berdampak terhadap penggunaan enzim pada industri yang semakin besar. Kunci kemajuan teknologi enzim ini karena enzim diketahui sebagai katalis organik yang sangat efisien, dengan akurasi yang tinggi dan ekonomis (Azmi, 2006; Melliawati *et al.*, 2006).

Enzim amilase memiliki kira-kira 25% dari seluruh pasar enzim, hampir menggantikan hidrolisis kimia pati pada industri pengolahan pati (Pandey *et al.*, 2000). Enzim ini memiliki nilai komersial sehingga perlu dicari sumber lain sebagai penghasil enzim amilase sesuai dengan

---

\* Alamat korespondensi:

Staf Pengajar SMA Negeri 3 Jayapura.  
Jl. Merah Putih, Buper, Waena, Kota Jayapura. 99581.  
Telp.: +62 81344007507. e-mail:  
prapto23bhoover@gmail.com  
gunaeditri@yahoo.co.id

karakteristik yang dibutuhkan (Carvalho, 2008). Indonesia khususnya wilayah Papua dan Maluku memiliki 1,02 juta hektar atau sekitar 90% dari jumlah total tanaman sagu yang ada Indonesia (Lakuy & Limbongan, 2003).

Pengolahan di sentra penyediaan tepung sagu di Papua khususnya wilayah Jayapura pada umumnya masih dilakukan secara tradisional (Kanro, 2003). Pada proses pengolahan dan materi tepung sagu mengandung dapat bakteri. Bakteri amilolitik pada tepung sagu dapat berasal dari air, tanah dan limbah yang terdapat di sekitar tempat penyediaan sagu. Selain itu, juga diketahui ada dan dapat terjadi selama perjalanan menuju tempat penjualan tepung sagu di pasar tradisional (Gunaedi *et al.*, 2009). Untuk memenuhi kekurangan produktivitas enzim amilase di pasaran dapat dilakukan dengan mengisolasi isolat bakteri yang berasal dari bahan ini. Tujuannya adalah untuk menaikkan nilai ekonomi tepung sagu asal Papua khususnya Jayapura. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik yang berasal dari tepung sagu basah dan lingkungan pengolahannya di Kabupaten Jayapura.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan selama 12 bulan di laboratorium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura. Sampel penelitian diperoleh dari tempat penyediaan tepung sagu secara tradisional di Distrik Sentani dan Kemtukgresi, Kabupaten Jayapura. Sampel berupa tanah, air limbah penyaringan tepung sagu, tepung sagu hasil pengendapan diambil di beberapa titik sentra produksi sagu.

Isolasi bakteri amilolitik dilakukan dengan menggunakan medium nutrient agar + 1% pati terlarut dengan metode *tuang spread plate* (Pelzar & Chan, 1993). Isolat yang didapat kemudian diseleksi berdasarkan daya amilolitiknya dengan menginokulasikan isolat ke dalam medium pati agar dengan cara menitikan jarum ose tepat ditengah medium (Soraya, 2012). Setelah masa

inkubasi 24 jam pada suhu ruangan, kultur ditetesi dengan iodine 0,2% dalam 2% kalium iodida hingga terbentuk zona bening yang menandakan isolat bersifat amilolitik.

Enzim diekstraksi dengan cara menumbuhkan satu ose isolat bakteri amilolitik kultur murni yang memiliki daya amilolitik terbesar pada medium minimal pati cair. Inkubasi dengan cara digojog dengan kecepatan 1200 rpm (*rotary per minute*), pada suhu 30°C dan waktu inkubasi 48 jam. Enzim dipanen dengan cara sentrifugasi medium kultivasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 20 menit. Supernatan atau cairan bening yang diperoleh merupakan ekstrak enzim amilase kasar dan digunakan untuk pengukuran aktivitas enzim dan kadar protein (Ginting, 2009).

Kadar protein dari ekstrak enzim kasar ditetapkan dengan metode Bradford (1976) menggunakan bovine serum albumin (BSA) sebagai standard diencerkan sampai 50 mL) sebagai stok BSA. Persamaan linier yang diperoleh dapat digunakan pada perhitungan kandungan protein enzim amilase.

Dasar yang digunakan untuk uji aktivitas amilase adalah pengurangan jumlah substrat, yang ditandai dengan penurunan intensitas warna biru dari kompleks pati iodine pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 700 nm (Gunaedi, 2009). Aktivitas enzim amilase ditentukan dengan formula:

$$\text{DUN/ml} = [(R_0 - R_1) / R_0] [\text{faktor pengenceran}]$$

DUN/ml (Dextrinizing unit per ml); R<sub>0</sub>, OD enzim pada 0 menit dan R<sub>1</sub>, OD enzim pada 1 jam menurut Espino dan Tambalo tahun 1997 (Gunaedi, 2009). Aktivitas spesifik α-amilase diperoleh dengan membandingkan antara aktivitas enzim (DUN/ml) dengan kadar protein (mg/ml).

Identifikasi 53 karakter isolat dilakukan secara morfologi, uji biokimiawi dan uji fisiologi isolat. Data dipaparkan secara deskriptif atau dalam bentuk tabel hasil pengamatan dengan pendekatan metode numerik fenetik. Selanjutnya, data digunakan untuk melihat hubungan similaritas dan menentukan kedudukan takson

bakteri amilolitik dengan strain acuanya dengan bantuan program MS Exel 2010, *Paint File Editor* (PFE), *Multivariate Statistic Package* (MVSP) dan *Paint Photo Shop Pro* (PSP) versi 5.0 (Sembiring, 2003).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan diperoleh 15 isolat bakteri positif amilolitik. Isolat mempunyai ciri morfologi yang berbeda satu yang lain (Gambar 1), dari 46 isolat bakteri yang ditemukan. Gunaedi (2009) telah berhasil mengisolasi 118 bakteri amilolitik dari berbagai sampel yang berasal dari beberapa lokasi sentra penyedia sagu secara tradisional.

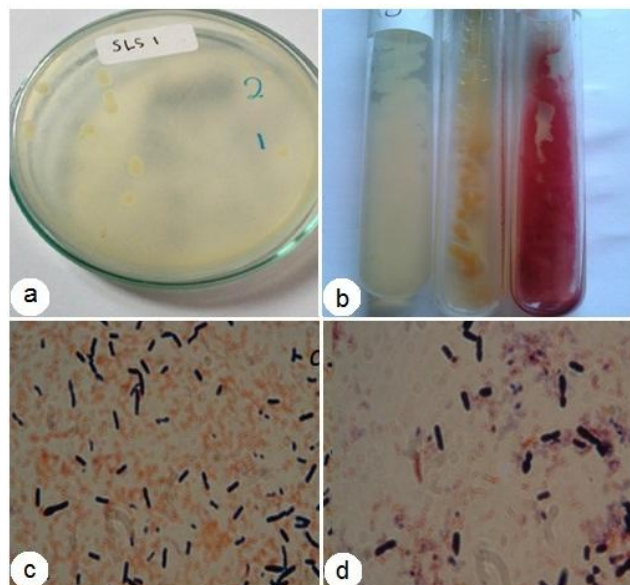
Daya amilolitik bakteri penghasil enzim amilase cukup tinggi dari masing-masing isolat (Tabel 1) dan pembentukan zona bening oleh 4 isolat bakteri amilolitik penghasil amilase terpilih (Gambar 2). Isolat yang menghasilkan diameter zona bening dua atau tiga kali diameter koloni merupakan produser enzim yang potensial (Ochoa-Solano & Olmos-Soto, 2006). Dari 15 isolat amilolitik yang diperoleh dipilih 4 isolat yang memiliki zona bening terbesar yang memiliki indeks amilolitik lebih dari 30 mm, yaitu Isolat dengan kode SU4, SU13, SU23 dan SU40 (Tabel 1).

Kadar protein dari ekstrak enzim kasar ditetapkan dengan metode Bradford (1976) menggunakan bovine serum albumin (BSA) sebagai standard. Persamaan garis linier  $y = 0,264X + 0,00131$ ,  $R^2 = 0,99$  yang diperoleh pada pembuatan kurva standar BSA dapat digunakan untuk perhitungan kandungan protein enzim amilase sampel. Menurut Lee dan Fujio, tahun 1997, untuk mengukur kadar protein sampel didahului dengan mengekstrak protein atau enzim ekstrak kasar sampel terlebih dahulu dengan menumbuhkan inokulan pada media minimal pati cair (*ammonium sulphate starch medium*) pada konsentrasi pati 1%, digojog pada 120 rpm, suhu 30°C dan waktu inkubasi 48 jam (Gunaedi, 2009).

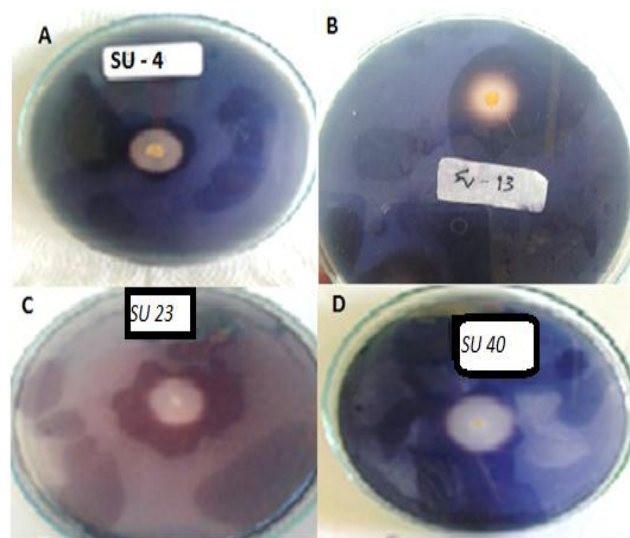
Pengukuran aktivitas enzim amilase, menunjukkan bahwa aktivitas enzim setiap isolat berbeda, isolat yang memiliki daya amilolitik

tertinggi tidak selalu menghasilkan aktivitas tertinggi bila dibandingkan isolat yang lain hal ini terlihat pada SU4 dan SU23, tetapi pada pengujian aktifitas spesifik enzim isolat yang memiliki daya amilolitik tertinggi signifikan dengan nilai aktivitas enzim spesifiknya (Tabel 2).

Pada saat proses pengukuran aktivitas enzim amilase, ada beberapa faktor yang



Gambar 1. Koloni bakteri. a. kenampakan pada media yang ditumbuhkan pada petridisk, b. kultur murni pada agar miring, c-d. morfologi isolat mikroskopis setelah pewarnaan gram.



Gambar 2. Zona bening yang terbentuk dari bakteri amilolitik terpilih.

mempengaruhi kerja enzim yang tidak sesuai dengan optimasi enzim yang dihasilkan masing-masing isolat, misalnya saja pH dan suhu yang sangat mempengaruhi kerja enzim. Pada pengukuran pH, yang dipakai adalah pH netral dan suhu ruang (30 °C) belum diketahui pH dan suhu optimumnya. Menurut Handayani *et al.* (2002) pH dari suatu larutan enzim dapat mempengaruhi keseluruhan aktivitas katalitik dengan berbagai cara dan sebagian besar enzim paling stabil pada pH fisiologi (7,4), tetapi beberapa diantaranya memperlihatkan pH maksimal pada kondisi sedikit lebih rendah atau lebih tinggi.

Identifikasi diawali dengan menentukan kedudukan genera bagi setiap isolat (*genera assignment*) dengan menentukan karakter morfologi sel, oksidase, pewarnaan gram, aerobik atau fakultatif aerobik dan karakter katalase. Berdasarkan karakter kunci genus (*genus key characters*) setiap isolat yang ditemukan diidentifikasi (*generic assignment*) untuk memastikan bahwa isolat tersebut adalah anggota genus *Bacillus* dengan menggunakan analisis *profile matching* (Sneath *et al.*, 1986). Berdasarkan analisis karakter seperti pada Tabel 3, ketiga isolat masuk ke dalam genus *Bacillus*.

Hasil pengamatan terhadap 53 karakter uji morfologi koloni, dan uji biokimiawi, serta Uji fisiologi isolat bakteri amilolitik dipaparkan secara deskriptif dalam bentuk tabel hasil pengamatan (Vebrian, 2011). Data hasil karakterisasi pada isolat bakteri tersebut melalui pendekatan sistem numerik-fenetik, selanjutnya digunakan untuk membuat dendogram guna menginterpretasi dan menentukan nilai similaritas isolat bakteri (Gambar 3) dengan strain bakteri amilolitik perbandingan yang mengacu pada *Bergey's Manual Systematical of Bacteriology* (de Vos *et al.*, 2009).

Berdasarkan hasil analisis *profile matching* atau *genera assignment* terhadap karakter kunci genus maka ke-4 isolat bakteri amilolitik yang diperoleh dipastikan sebagai anggota genus *Bacillus* (Tabel 1) karena semua isolat tersebut menunjukkan kemiripan karakter dengan karakter

Tabel 1. Daya amilolitik isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari daerah Sentani dan Kemptukgresi.

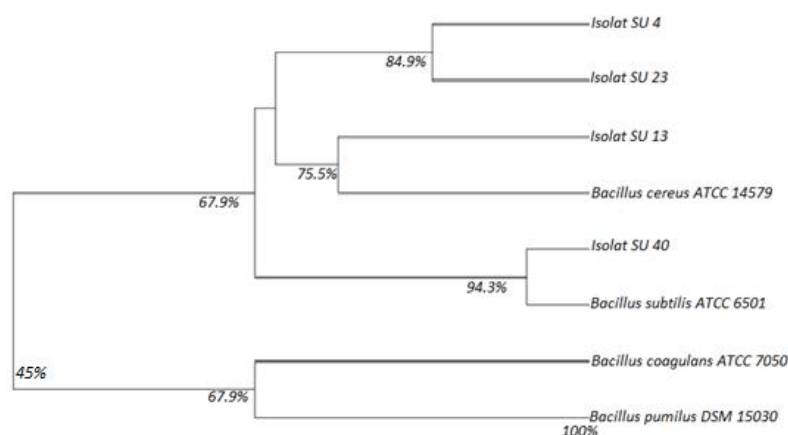
No	Kode Isolat	Diameter (mm)		Daya Amilolitik
		Koloni	Zona bening	
1.	SU-1	5,17	8,73	0,680
2.	SU-3	7,63	16,58	1,173
3.	SU-4	3,67	16,36	3,457
4.	SU-7	7,67	18,74	1,546
5.	SU-9	14,47	24,48	0,660
6.	SU-13	2,86	11,72	3,373
7.	SU-16	6,17	18,63	2,019
8.	SU-17	11,46	17,38	0,516
9.	SU-23	3,39	15,75	3,646
10.	SU-26	7,41	16,22	1,188
11.	SU-29	5,62	12,28	1,185
12.	SU-31	5,12	15,52	2,031
13.	SU-35	10,38	23,45	1,259
14.	SU-40	2,31	18,47	6,995
15.	SU-42	3,45	11,46	2,321

Tabel 2. Data hasil pengukuran aktivitas enzim amilase.

No	Kode Isolat	Aktivitas	Kadar	Aktivitas
		Enzim (u/ml)	Protein (mg/ml)	Spesifik (u/mg)
1.	SU-04	35,5774	0,2703	131,6349
2.	SU-13	18,9031	0,3311	57,0855
3.	SU-23	32,1062	0,2998	107,0909
4.	SU-40	40,6006	0,2311	201,6148

Tabel 3. *Genera assignment* beberapa isolat dan genus *Bacillus*.

No	Uji karakter	Kode isolat				<i>Bacillus</i>
		SU-4	SU-13	SU-23	SU-40	
1	Bentuk batang	+	+	+	+	+
2	Motilitas	+	+	+	+	+
3	Oksidase	+	+	+	+	+
4	Gram	+	+	+	+	+
5	Sel berpasangan	+	+	+	+	+
6	Uji katalase	+	+	+	+	+
7	Anaerob	-	-	-	-	-
8	Aerob/fakultatif	+	+	+	+	+



Gambar 3. Dendrogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara beberapa strain bakteri genus *Bacillus* dengan isolat bakteri amilolitik terpilih berdasarkan karakter fenetik yang dikonstruksi dengan *simple matching koeficient* dan *unweighted pair group methode average* (UPGMA).

kunci genus *Bacillus*. Karakter kunci genus tersebut diantaranya meliputi gram positif, sel bentuk batang, memiliki endospora, motil, bersifat aerob dan katalase positif.

Menurut Priest & Austin (1993), suatu mikroba dapat dikatakan satu genus apabila memiliki indeks similaritas pada karakter kunci antara 89-99%, dapat dikatakan satu spesies apabila memiliki indeks similaritas lebih dari 70%, dan dapat dikatakan satu strain apabila memiliki indeks similaritas 100%. Menurut Goodfellow & O'Donnell (1993) apabila nilai similaritas antara strain dengan strain lainnya  $\geq 70\%$  maka berdasarkan *taxospecies concept* strain-strain tersebut dapat dimasukkan ke dalam spesies yang sama. Nilai similaritas dan kedudukan takson bakteri amilolitik dengan aktivitas enzim tinggi sebagai berikut: tiga isolat merupakan anggota dari species *Bacillus cereus* ATCC 14579 dengan nilai similaritas sebesar 71,70% sampai 81,10% dan satu isolat anggota *Bacillus subtilis* ATCC 6501 dengan nilai similaritas sebesar 94,30%.

Berdasarkan uraian tersebut dapat diketahui bahwa dengan metode taksonomi numerik, similaritas yang didapat hanya bersifat fenetik dan bukan menunjukkan hubungan filogenetik/kekerabatan (Sembiring, 2003). Semakin banyak karakter yang diujikan maka hasilnya akan

semakin baik. Dengan demikian, walaupun nilai similaritasnya rendah belum tentu mempunyai hubungan kekerabatan yang jauh, sebaliknya strain bakteri yang mempunyai nilai similaritas tinggi belum tentu memiliki hubungan kekerabatan yang dekat.

Isolasi bakteri amilolitik potensial penghasil enzim amilase yang telah berhasil dilakukan ini memberikan informasi kepada kita tentang adanya sumber daya hayati mikroba amilolitik asal Papua khususnya Jayapura. Selain itu, sebagai penghasil enzim amilase yang memiliki peran potensial bagi dunia industri terutama pengguna enzim amilase yang bisa dimanfaatkan.

Seiring dengan meningkatnya penggunaan enzim, banyaknya kelebihan penggunaan teknologi enzim, dan meningkatnya perkembangan rekayasa genetik mikrobial, serta perkembangan proses produksi yang kontinyu dewasa ini, maka prospek pemanfaatan enzim asal mikroba ini secara komersial sangat menjanjikan.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri amilolitik penghasil enzim amilase dapat diisolasi dari lingkungan dan tepung sagu basah hasil penyediaan secara tradisional di Jayapura. Nilai aktivitas enzim amilase bakteri amilolitik yang diisolasi dari lingkungan dan tepung sagu basah hasil penyediaan secara tradisional di Jayapura cukup tinggi yaitu: isolat SU40 memiliki nilai aktivitas tertinggi yaitu sebesar 46.6006 U/ml dan yang terendah adalah SU13 sebesar 18.9031 u/ml. Nilai similaritas dan kedudukan takson bakteri amilolitik dengan aktivitas enzim tinggi sebagai berikut: tiga isolat merupakan anggota dari species *Bacillus cereus* ATCC 14579 dengan nilai similaritas sebesar 71,70% sampai 81,10% dan

satu isolat anggota *Bacillus subtilis* ATCC 6501 dengan nilai similaritas sebesar 94,30%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azmi, J. 2006. Penentuan kondisi optimum fermentasi *Aspergillus oryzae* untuk isolasi enzim amilase pada medium pati biji nangka (*Artocarpus heterophilus* Lmk.). *Jurnal Biogenesis*. 2(2): 55-58.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 72: 248-254.
- Carvalo, R.V, Coreat and J. da Silva. 2008. Properties of an amilase from thermophilic *Bacillus sp.* *Brazil J. Microbial*. 39: 102-107.
- de Vos, P., G.M. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, K.-H. Schleifer and W.B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Second Edition Volume Three. The Firmicutes. Department of Microbiology. Biological Sciences Building University of Georgia. Athens, GA.
- Ginting, Y. 2009. *Isolasi bakteri dan uji aktivitas enzim amilase kasar dari sumber air panas Semangat Gunung Kabupaten Karo, Sumatera Utara*. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara.
- Goodfellow, M. and A.G. O'Donnell. 1993. *Handbook of new bacterial systematics*. Academic Press Limited.
- Gunaedi, T. 2009. Identifikasi dan klasifikasi bakteri amilolitik isolat TG12, TG19, dan TG31 penyebab kemasaman pada tepung sagu basah berdasarkan analisis gen 16S rDNA. *Berk. Penel. Hayati*. 15: 25-30.
- Gunaedi, T., S. Margino. L. Sembiring, dan R. Pratiwi. 2009. Seleksi bakteri amilolitik penghasil asam organik dari tepung sagu basah masam. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus*. 3C: 33-37.
- Handayani, D., N.R Mubarik dan S. Listyawati. 2002. Isolasi dan karakterisasi amilase ekstrak seluler dari kapang asal limbah cair tapioka. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*. 7(2): 51-59.
- Kanro, M.Z. 2003. Tanaman sagu dan pemanfaatannya di Provinsi Papua. *Jurnal Balitbang Pertanian Papua*. 22: 1-3.
- Lakuy, H. dan J. Limbongan. 2003. Beberapa hasil kajian dan teknologi yang diperlukan untuk pengembangan sagu di Provinsi Papua. *Prosiding Seminar Nasional Sagu, Manado*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. pp: 41-47.
- Limbongan, J., A. Hanafiah, dan M. Ngobe. 2005. *Pengembangan sagu Papua*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Papua.
- Melliawati, R., Rohmatusolihat dan F. Oktavina. 2006. Seleksi mikroorganisme potensial untuk fermentasi pati sagu. *Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI*. 7(2): 101-104.
- Novia, G.M. 2009. *Karakterisasi sifat biokimia dan fisiologi bakteri*. <http://www.gyamarta21.wordpress.com> (diakses 11 Oktober 2013).
- Nurhalijah, S. 2009 *Isolasi bakteri dan uji aktivitas amilase kasar termofilik dari sumber air panas Gurukinayan karo Sumatera Utara*. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara.
- Ochoa-Solano, J. and J. Olmos-Soto. 2006. The functional property of *Bacillus* for shrimp feeds. *Food Microbiology*. 23: 519-525.
- Pandey, A., P. Nigam and C.R. Soccol 2000. Advances in microbial amilases. *Biotechnol. Appl. Biochem*. 31: 135-152.
- Pelzer, M.J. and E.C.S. Chan. 1993. *Dasar-dasar mikrobiologi 1*. Penerjemah Ratna Sari Haidetomo dkk. Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Priest, F & B. Austin. 1993. *Modern bacterial taxonomy*. Second Edition. Chapman dan Hall. London.
- Sembiring, L. 2003. *Praktikum sistematika mikroba*, Laboratorium Mikrobiologi. UGM. Yogyakarta.
- Sneath, H.A.P., N.S. Mair, M.E. Sharpe, and J.G. Holt. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2. Williams & Wilkins Company. Baltimore.
- Soraya, F. 2012. *Isolasi bakteri amilolitik asal pupa sutra attacus atlas dan karakterisasi enzim amilasena*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Vebrian, V. 2011. *Sistematika mikroba klasifikasi bakteri dengan metode taksonomi numerik fenetik*. Jurusan Biologi Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.