

BAKTERI PENGHASIL AMILASE YANG DIISOLASI DARI EKOENZIM LIMBAH BUAH-BUAHAN

Risky Hadi Wibowo^{1,2}, Welly Darwis¹, Sipriyadi^{1,2}, Morina Adfa^{2,3}, Elsi Silvia⁴, Reza Wahyuni⁴, Dhea Amelia Sari⁴, Masrukhin⁵

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Kandang Limun, Bengkulu 38112, Indonesia.

²Program Studi Magister Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Kandang Limun, Bengkulu 38112, Indonesia.

³Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Kandang Limun, Bengkulu 38112, Indonesia.

⁴Mahasiswa, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Kandang Limun, Bengkulu 38112, Indonesia.

⁵Research Center for Biology, National Research and Innovation Agency Jl. Raya Bogor KM. 46 Bogor, Indonesia. 16911

*Corresponding author, email : riskyhadiwibowo80@gmail.com

ABSTRACT

Many of potential enzymes can be found in the ecoenzyme, one of them is amylase. Amylase is an enzyme that is able to hydrolyze the glycoside bonds of starch or starch into dextrin, glucose and maltose which is widely used in various industries such as beverages. This study aims to isolate the ecoenzyme bacteria and test their ability to produce amylase. Isolation of ecoenzyme bacteria was carried out using serial dilution methods 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} . A total of 0.1 ml of each dilution series was pipetted and spread on the Nutrient agar (NA) medium. The bacterial isolates that grew were then purified and identified by morphological observation, Gram staining and their enzymatic activity was tested using Starch Agar (SA) media qualitatively. The results of this study showed there were 39 bacterial isolates from ecoenzyme with different morphological characteristics. The amylase activity test were found that 34 isolates had a positive activity to hydrolyze the starch in the SA media which was indicated by the formation of a clear zone around the bacterial colonies. Each bacterial isolate had a different hydrolysis index value, which ranged from 9.45 to 23.65. The highest clear zone diameter index value from starch hydrolysis was EJM 15 isolate.

Keywords: Ecoenzyme, Bacteria, Amylase, Clear zone, Starch

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara agraris yang kaya akan sumber daya alam yang melimpah, terutama dari sektor pertanian, seperti sayur dan buah-buahan. Namun kebanyakan sayur dan buah hanya dikonsumsi berupa sayur dan daging buahnya saja. Sisa sayur dan kulit buah yang tidak terpakai dan tidak dimanfaatkan akan menimbulkan timbunan sampah (Damayanti et al., 2020).

Permasalahan sampah di Indonesia merupakan salah satu masalah yang belum terselesaikan hingga saat ini. Sampah merupakan sisa atau barang buangan yang sudah tidak digunakan dan di pakai lagi oleh pemiliknya. Dari aktivitas manusia komposisi sampah yang dihasilkan adalah sampah organik sebanyak 60-70% dan sisanya adalah sampah anorganik 30-40% (Herawati, 2016).

Sampah organik adalah sampah yang berasal dari sisa makhluk hidup yang mudah terurai secara alami tanpa proses campur tangan manusia untuk dapat terurai. Sampah organik bisa dikatakan sebagai sampah ramah lingkungan bahkan sampah bisa diolah kembali menjadi sesuatu yang bermanfaat bila dikelola dengan tepat, tetapi bila sampah tidak dikelola dengan benar maka akan menimbulkan penyakit dan bau yang kurang sedap, hal tersebut dikarenakan adanya pembusukan sampah organik yang cepat (Fitri & Yasmin, 2011). Sedangkan sampah anorganik adalah sampah yang sudah tidak dipakai lagi dan sulit terurai. Sampah organik pada umumnya berasal dari limbah rumah tangga seperti sampah sayur dan kulit buah-buahan, hal tersebut dikarenakan sisa sayur dan kulit buah yang kurang dimanfaatkan sehingga menumpuk dan menjadi sampah (Yasin et al., 2017).

Upaya pemanfaatan sampah organik salah satunya yaitu ekoenzim. Ekoenzim merupakan produk berupa cairan yang mengandung hasil fermentasi bakteri pada limbah kulit buah dan sayur. Contoh limbah kulit buah yang sering dimanfaatkan menjadi ekoenzim seperti kulit buah nanas, pisang, jeruk manis, jeruk kalamansi dan pepaya (Surtikanti et al., 2021). Menurut Harahap et al., (2021) yang menyatakan bahwa ekoenzim di buat dengan menggunakan limbah kulit buah dan sayur yang di potong-potong, ditambahkan dengan molase dan air dengan perbandingan 3:1:10, kemudian dimasukkan ke dalam wadah atau botol yang kedap udara dan di fermentasi selama 3 bulan. Setelah 3 bulan ekoenzim bisa dimanfaatkan untuk kebutuhan sehari-hari.

Cairan ekoenzim yang berasal dai limbah sayuran dan buah-buahan seperti jeruk, nenas, pepaya, pisang dan buah-buahan lainnya diketahui memiliki banyak aktivitas enzim seperti lipase, tripsin, amilase, dan enzim fosfatase (Silaban & Simamora, 2018). Menurut Yasin et al., (2017) menyatakan bahwa enzim merupakan suatu protein aktif sangat banyak dimanfaatkan dalam bidang pangan, kesehatan dan lingkungan salah satunya yaitu amilase. Amilase merupakan enzim yang mampu mengkatalis proses hidrolisis pati untuk menghasilkan molekul lebih sederhana seperti glukosa, maltosa, dan dekstrin. Proses hidrolisa pati tersebut dilakukan melalui tiga tahapan yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Amilase juga telah digunakan di berbagai bidang industri seperti industri makanan, alkohol, gula, industri tekstil dan sirup, industri kertas, industri deterjen dan industri biodiesel. Cairan ekoenzim dari limbah organik asal kulit nanas, kulit papaya, kulit pisang dan kulit jeruk ini dilaporkan memiliki aktivitas enzim amilase, karena di dalam sampel tersebut mengandung karbohidrat berupa amilase yang merupakan substrat untuk enzim amilase namun laporan terkait bakteri ekoenzim dan potensinya sebagai penghasil amilase nya sejauh ini belum dilaporkan maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui keragaman bakteri ekoenzim pada berbagai limbah kulit buah-buahan dan aktivitas bakterinya dalam menghasilkan enzim amilase.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dilaksanakan pada Juli sampai Desember 2021, di Laboratorium Mikrobiologi, gedung *Basic Science*, Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Ekoenzim

Bakteri ekoenzim diisolasi dari cairan ekoenzim yang berasal dari kulit buah-buahan yaitu kulit jeruk kalamansi, kulit jeruk manis, kulit pisang, kulit pepaya dan kulit nenas dengan campuran air dan gula merah (perbandingan 3:10:1) yang telah difermentasi selama 3 bulan. Isolasi bakteri ekoenzim dilakukan secara aseptis dengan metode pengenceran berseri yang ditumbuhkan pada media *nutrient agar* (NA) dengan teknik cawan sebar. Isolat bakteri ekoenzim yang diperoleh kemudian dimurnikan untuk mendapatkan koloni tunggal dengan cara memindahkan koloni bakteri ke cawan Petri yang berisi NA dengan metode gores, kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 27-30 °C selama 24 jam. Biakan murni bisa juga didapatkan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri di media miring untuk memperbanyak biakan atau sebagai persediaan (Sukmawati & Hardianti, 2018).

Uji Identifikasi Morfologi Koloni Sel dan Pewarnaan Isolat Bakteri Ekoenzim

Bakteri yang tumbuh di atas media, diamati karakteristik morfologinya berdasarkan bentuk, penataan, warna koloni, sifat permukaan, margin dan elevasinya. Menurut Fat (2005), bentuk koloni dapat berbeda beda tiap spesies dan merupakan karakteristik bagi suatu spesies tertentu. Pengamatan tentang karakteristik morfologi koloni bakteri perlu dilakukan, agar mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri (Fat, 2005). Tahap identifikasi selanjutnya yaitu pewarnaan Gram, menurut Nasution et al., (2017), pengecatan gram merupakan salah satu cara yang bias dilakukan untuk melakukan identifikasi bakteri dengan cara melakukan pengecatan Gram, diantara berbagai macam bakteri yang dicat, ada bakteri yang bias menahan zat warna ungu (kristal violet) walaupun telah didekolorisasi dengan alkohol. Bakteri yang tetap mempertahankan warna ungu tergolong kedalam bakteri Gram positif. Sebaliknya, bakteri yang telah dilakukan dekolorisasi dan tidak dapat menahan zat warna dengan ciri berwarna merah termasuk kedalam keompok bakteri Gram negatif.

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara satu ose isolat bakteri ekoenzim diletakkan pada kaca objek yang sudah dibersihkan menggunakan alkohol. Kemudian ditambahkan satu tetes akuades dan difiksasi di atas lampu spiritus. Setelah itu, ditambahkan kristal violet dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian diamkan selama 30-60 detik pada suhu kamar lalu dicuci perlahan dengan akuades selama 5 detik. Kemudian kaca objek yang sudah terlihat berwarna biru ditetesi dengan larutan lugol, dibiarkan selama 1-2 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 detik. Selanjutnya dilakukan dekolorisasi dengan setetes alkohol 95%. Preparat dibilas dengan air selama lima detik untuk menghentikan aktivitas penghilangan warna. Selanjutnya kaca objek ditetesi safranin dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air secara perlahan selama 5 detik dan dikeringkan di udara. Setelah itu diamati di bawah mikroskop untuk melihat bentuk bakteri pada zat warna. Jika bakteri terlihat berwarna ungu, itu menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri gram positif. Jika bakteri terlihat merah, itu menunjukkan bahwa bakteri tersebut gram negatif (Rahmatullah et al., 2021).

Uji Aktivitas Enzim Amilase dari Bakteri Ekoenzim

Aktivitas enzim amilase dari bakteri ekoenzim diuji dengan menggunakan media agar-agar yang ditambah dengan pati 1% (*starch agar*) yang dibuat secara aseptik. Kemudian media agar-agar pati (*starch agar*) dituangkan ke dalam cawan

Petri dan 1 lup ose bakteri ekoenzim diinokulasikan ke atas media dan kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Hidrolisis pati divisualisasikan sebagai zona bening yang terbentuk dari hasil hidrolisis pati di sekitar koloni bakteri ekoenzim setelah ditetesi dengan dengan larutan indikator yodium (I₂) (Algofer et al., 2021). Diameter zona bening diukur untuk menentukan indeks hidrolisis pati yang dihasilkan dari tiap isolat penghasil amilase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri Hasil Isolasi dari Cairan Fermentatif Ekoenzim

Isolasi bakteri dilakukan dari cairan fermentatif ekoenzim yang berasal dari limbah buah – buahan yang masing-masing terdiri dari kulit nanas, kulit jeruk kalamansi, kulit jeruk manis, kulit pisang, dan kulit pepaya dengan campuran air dan gula merah dengan perbandingan 3:10:1. Isolat bakteri yang tumbuh pada media NA setelah masa inkubasi 48 jam pada suhu 29 °C kemudian dilakukan penghitungan koloni dengan menggunakan *colony counter*. Hasil penghitungan jumlah koloni bakteri disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Data total koloni bakteri ekoenzim dari berbagai limbah kulit buah-buahan yang diisolasi pada media NA

No	Sumber Ekoenzim	Pengenceran		Jumlah isolat yang diambil
		10 ⁻³	10 ⁻⁵	
1	Nanas	TBUD	253	7
2	Jeruk manis	TBUD	220	8
3	Jeruk kalamansi	TBUD	265	6
4	Pisang	292	250	9
5	Pepaya	229	148	8
Total koloni yang dimurnikan				39 isolat

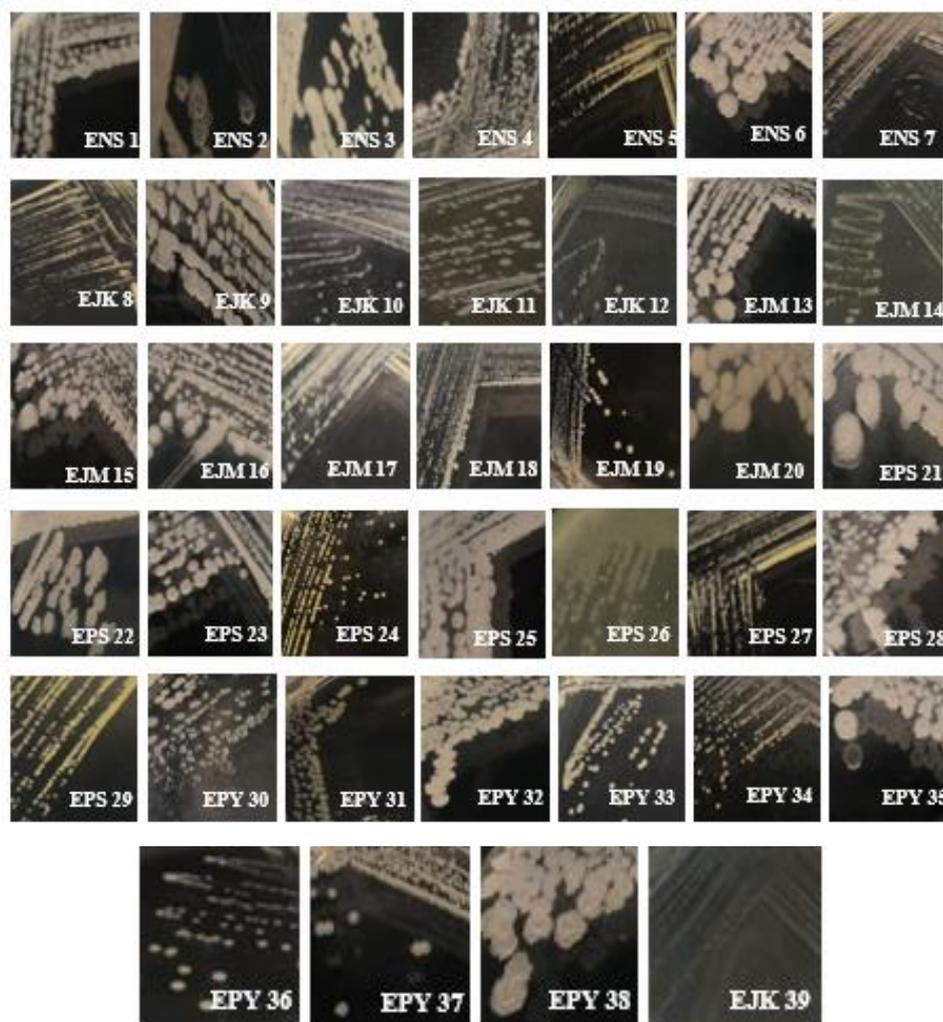
Keterangan TBUD: koloni bakteri terlalu banyak untuk dihitung

Dari hasil pengenceran secara bertingkat didapatkan jumlah isolat seperti pada tabel 1, sampel ekoenzim dari kulit nanas, kulit jeruk manis dan kulit jeruk kalamansi pada pengenceran 10⁻³ memiliki perhitungan TBUD yaitu terlalu banyak untuk dihitung yaitu koloni sampel melebihi ambang batas maksimum standar penghitungan analisis penghitungan lempeng total atau *total plate count* (TPC), yang melebihi batas maksimumnya yaitu 300 cfu/g, sedangkan pada pengenceran 10⁻⁵ jumlah koloni bakteri tiap sampel masih bisa dihitung karena belum mencapai batas maksimum standar perhitungan analisis *total plate count*. Koloni mikroba yang tumbuh pada tiap cawan sampel dihitung dengan menggunakan colony counter, jumlah koloni mikroba yang dianalisis ialah rentang jumlah antara 30-300 koloni cfu/g (Sukmawati and Hardianti, 2018). Jika jumlah koloni tiap sampel lebih dari 300 cfu/g dikategorikan turbidimetri (TBUD) Sebaran jumlah koloni tiap sampel dan tiap faktor pengenceran menunjukkan adanya keragaman data yang seragam dan sesuai prinsip faktor pengenceran, yang mana semakin tinggi faktor pengenceran maka semakin rendah jumlah koloni mikroba atau faktor pengenceran berbanding terbalik dengan jumlah koloni mikroba (Sukmawati & Hardianti, 2018).

Pemurnian isolat bakteri ekoenzim

Isolat bakteri ekoenzim yang diperoleh dari cairan ekoenzim yaitu sebanyak 39 isolat bakteri yang berasal dari limbah kulit buah – buahan yang terdiri dari 7 isolat ekoenzim nanas, 6 isolat ekoenzim jeruk kalamansi, 8 isolat ekoenzim jeruk manis, 9 isolat ekoenzim pisang, dan 8 isolat ekoenzim pepaya (tabel 1) . Isolat-isolat

ini dipilih berdasarkan perbedaan karakter morfologi, dominansi dan ukuran tumbuh koloni bakteri. Kemudian koloni bakteri diremajakan dan dimurnikan dengan menggunakan metode gores kuadran dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Peremajaan dan pemurnian isolat bakteri Ekoenzim hasil isolasi metode tanam pada gambar 1.



Gambar 1. Pemurnian isolat bakteri ekoenzim dari limbah buah – buahan, ENS: Ekoenzim Nanas, EJK: Ekoenzim Jeruk Kalamansi, EJM: Ekoenzim Jeruk Manis, EPS: Ekoenzim Pisang, dan EPY: Ekoenzim Pepaya

Identifikasi Morfologi Bakteri ekoenzim

Selanjutnya isolat bakteri Ekoenzim yang tumbuh dilakukan pengamatan terhadap karakter morfologi dengan melihat karakter pada masing-masing koloni seperti permukaan koloni, elevasi, tepi koloni, penampakan dan warna tiap koloni yang dihasilkan dari bakteri ekoenzim seperti yang disajikan pada tabel 2. Masing-masing isolat bakteri ekoenzim memiliki karakter morfologi yang berbeda-beda.

Warna isolat bakteri yang ditemukan bervariasi yaitu dominansi warna putih sebanyak 22 isolat, warna krem sebanyak 8 isolat dan warna kuning sebanyak 9 isolat. Arun & Sivashanmugam (2015) menyatakan bahwa warna bakteri pada ekoenzim didominasi oleh warna putih. Setelah dilakukan pengamatan morfologi koloni selanjutnya dilakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram untuk mengetahui jenis Gram bakteri ekoenzim, dari total 39 isolat ekoenzim, 19 isolat bakteri termasuk

jenis bakteri Gram positif dan 20 isolat bakteri termasuk ke dalam jenis Gram negatif.

Tabel 1. Karakter morfologi isolat bakteri ekoenzim yang diisoalsi dari cairan ekoenzim yang berasal dari limbah kulit buah-buahan.

No	Kode Isolat	Pengamatan Morfologi Koloni					
		Gram	Permukaan	Elevasi	Penampakan	Tepi	Warna
1.	ENS 1	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Putih
2.	ENS 2	-	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
3.	ENS 3	+	<i>Radiated</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
4.	ENS 4	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
5.	ENS 5	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Pintpoint</i>	<i>Serrated</i>	Kuning
6.	ENS 6	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
7.	ENS 7	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Kuning
8.	EJK 8	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Kuning
9.	EJK 9	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Undulated</i>	Putih
10.	EJK 10	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Pintpoint</i>	<i>Serrated</i>	Kuning
11.	EJK 11	-	<i>Wrinkled</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Undulated</i>	Putih
12.	EJK 12	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
13.	EJM 13	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
14.	EJM 14	+	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
15.	EJM 15	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Flat</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
16.	EJM 16	+	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih
17.	EJM 17	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning
18.	EJM 18	+	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih
19.	EJM 19	+	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
20.	EJM 20	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
21.	EPS 21	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
22.	EPS 22	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Serrated</i>	Putih
23.	EPS 23	-	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
24.	EPS 24	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning
25.	EPS 25	-	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Serrated</i>	Putih
26.	EPS 26	+	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih
27.	EPS 27	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Pinpoint</i>	<i>Entire</i>	Kuning
28.	EPS 28	+	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih
29.	EPS 29	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Pintpoint</i>	<i>Entire</i>	Kuning
30.	EPY 30	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
31.	EPY 31	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Kuning
32.	EPY 32	-	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Circular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
33.	EPY 33	+	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
34.	EPY 34	+	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
35.	EPY 35	+	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonated</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
36.	EPY 36	-	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
37.	EPY 37	+	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Krem
38.	EPY 38	-	<i>Wrinkled</i>	<i>Umbonate</i>	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Putih
39.	EJK 39	-	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Putih

Keterangan :

ENS : Ekoenzim Nanas

EJM : Ekoenzim Jeruk Manis

EJK : Ekoenzim Jeruk Kalamansi

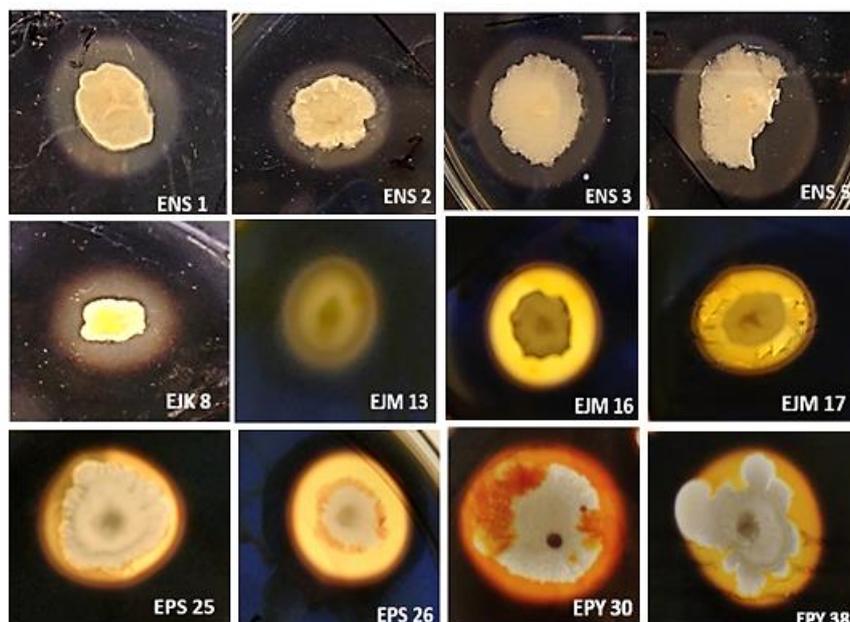
EPS : Ekoenzim Pisang

EPY : Ekoenzim Pepaya

Uji aktivitas enzim Amilase secara kualitatif

Uji aktivitas amilase secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim amilase, hasil uji divisualisasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri yang telah diberi larutan lugol atau iodin. Dari 39 isolat bakteri ekoenzim yang diuji total 31 bakteri menghasilkan uji positif amilase ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar

isolat bakteri (gambar 2), sedangkan 8 isolat lainnya menghasilkan uji negatif amilase.



Gambar 2. Zona bening yang terbentuk dari hidrolisis pati pada media pati (*starch agar*) dari beberapa isolat bakteri ekoenzim penghasil amilase setelah diinkubasi 24 jam pada suhu ruang setelah ditetesi dengan larutan indikator lugol/iodin

Bakteri ekoenzim yang dapat menghasilkan amilase ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar pati (*starch agar*) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang setelah ditetesi dengan larutan iodin sebagai indikator (gambar 2). Setelah pengamatan secara visual selanjutnya dilakukan pengukuran zona bening yang terbentuk di sekitar isolat bakteri untuk mengetahui indeks hidrolisis pati seperti yang dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terdapat 39 isolat bakteri yang berhasil dimurnikan berdasarkan ciri morfologinya. Bakteri ekoenzim mampu menguraikan senyawa organik kompleks baik yang mengandung unsur C, H, dan N menjadi senyawa yang lebih sederhana karena mampu menghasilkan enzim ekstraseluler (Basitoh et al., 2018). Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Mutiarahmi et al., (2021) yang menyatakan bahwa bakteri menggunakan nutrisi yang terdapat pada lingkungan hidupnya melalui berbagai aktivitas biokimia. Pati atau amilum merupakan salah satu zat organik yang terdapat di dalam ekoenzim. Pati merupakan cadangan makanan pada bagian sel tumbuhan yang berbentuk butiran di terdiri dari amilopektin dan amilosa (Choirunnisa et al. 2018). Struktur kimia molekul pati merupakan polimer dengan ikatan -1-4 glukopiranosida dengan cabang -1-6 (Hardi et al. 2018). Pada cairan ekoenzim, bakteri amilolitik berperan dalam mendegradasi pati menjadi senyawa yang lebih kompleks sederhana (Idris, 2016).

Hasil pengujian aktivitas amilase menunjukkan bahwa 34 isolat bakteri mempunyai hasil positif menghasilkan amilase dengan kode isolat ENS 1, ENS 2, ENS 3, ENS 4, ENS 5, ENS 6, ENS 7, EJK 8, EJK 9, EJK 11, EJK 12, EJM 13, EJM 14, EJM 15, EJM 16, EJM 17, EJM 19, EPS 21, EPS 22, EPS 23, EPS 24, EPS 25, EPS 26, EPS 27, EPS 28, EPS 29, EPS 30, EPY 31, EPY 32, EPY 34, EPY 36, EPY 38 dan EJK 38.

Tabel 3. Hasil pengukuran aktivitas amilase secara kualitatif dari bakteri ekoenzim

No	Kode Isolat	Rata-rata diameter zona bening (mm) ± SD	No	Kode Isolat	Rata-rata diameter zona bening (mm) ± SD
1	ENS 1	15,15 ± 0,15	21	EPS 21	16,30 ± 0,10
2	ENS 2	14,50 ± 0,40	22	EPS 22	14,70 ± 0,90
3	ENS 3	24,00 ± 1,00	23	EPS 23	19,00 ± 0,80
4	ENS 4	22,70 ± 0,10	24	EPS 24	16,30 ± 0,10
5	ENS 5	12,30 ± 0,10	25	EPS 25	13,75 ± 0,05
6	ENS 6	16,85 ± 0,25	26	EPS 26	18,00 ± 0,50
7	ENS 7	13,30 ± 0,20	27	EPS 27	12,95 ± 0,05
8	EJK 8	14,55 ± 0,05	28	EPS 28	21,45 ± 0,35
9	EJK 9	13,45 ± 0,05	29	EPS 29	15,50 ± 0,10
10	EJK 10	0,00 ± 0,00	30	EPY 30	13,35 ± 0,35
11	EJK 11	20,05 ± 0,05	31	EPY 31	9,45 ± 0,45
12	EJK 12	15,25 ± 0,05	32	EPY 32	15,80 ± 0,50
13	EJM 13	15,20 ± 0,00	33	EPY 33	0,00 ± 0,00
14	EJM 14	14,95 ± 0,05	34	EPY 34	11,80 ± 0,40
15	EJM 15	23,65 ± 0,35	35	EPY 35	0,00 ± 0,00
16	EJM 16	15,35 ± 0,05	36	EPY 36	13,35 ± 0,35
17	EJM 17	14,95 ± 0,15	37	EPY 37	0,00 ± 0,00
18	EJM 18	0,00 ± 0,00	38	EPY 38	18,15 ± 0,05
19	EJM 19	13,85 ± 0,05	39	EJK 39	22,45 ± 0,45
20	EJM 20	0,00 ± 0,00			

Sedangkan uji negatif hidrolisis pati terdapat pada 5 isolat bakteri, antara EJK 10, EJM 20, EPY 33, EPY 35 dan EPY 37 hal tersebut ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar bakteri ekoenzim, hal tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut tidak mampu menghidrolisis pati. Berdasarkan diameter zona bening yang mampu dihasilkan oleh bakteri ekoenzim, sebanyak 34 isolat bakteri mempunyai rata-rata diameter berbeda-beda, hal tersebut dikarenakan, perbedaan kemampuan bakteri ekoenzim dalam menghidrolisis pati. Diameter terbesar pada bakteri ekoenzim dihasilkan oleh isolat bakteri dengan kode EJM 15 dan diameter zona bening yang paling kecil dihasilkan oleh isolat bakteri dengan kode EPY 31.

Bakteri amilolitik adalah bakteri yang mampu mendegradasi pati menjadi senyawa hanya dengan memproduksi enzim amilase (Idris, 2016). Salah satu contoh bakteri amilolitik yang bisa diisolasi yaitu bakteri ekoenzim. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik untuk mendegradasi pati umumnya adalah enzim ekstraseluler. Enzim ekstraseluler adalah enzim yang diproduksi di dalam sel dan kemudian dilepaskan keluar dari sel (Basitoh et al., 2018). Ada 3 jenis enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri amilolitik yaitu α -amilase, β -amilase dan γ -amilase, enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri amilolitik bekerja sebagai biokatalis pada hidrolisis pati menjadi glukosa, maltosa dan dekstrin (Basitoh et al. 2018).

Setiap isolat bakteri ekoenzim memiliki kemampuan yang berbeda untuk menghidrolisis pati (Basitoh et al. 2018). Untuk mengetahui kemampuan indeks hidrolisis pati suatu bakteri dapat menggunakan media selektif yaitu media pati agar (Setiarto et al., 2015). Medium pati agar terdiri dari *nutrient agar* + 1% pati (Algofer et al. 2021). Isolat bakteri yang telah dimurnikan diinokulasikan pada media pati kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Media *starch agar* yang

telah ditumbuhi bakteri diteteskan dengan larutan iodium (Munif et al., 2016). Isolat bakteri yang bersifat amilolitik positif akan menghasilkan zona bening di sekitar koloni bakteri setelah ditetesi oleh larutan yodium, dan jika media bewarna hitam menunjukkan bahwa tidak terjadi proses hidrolisis pati (Ulfa, Suarsini, and Henie 2016). Warna biru-hitam pada medium disebabkan oleh molekul yodium yang menyerap ke dalam molekul pati yang membentuk pati beriodium (Fitri & Yasmin, 2011). Apabila amilum pada media telah terhidrolisis maka tidak akan terjadi ikatan iodium-amilum sehingga akan terbentuk zona bening pada media.

Bakteri ekoenzim dalam mendegradasi pati di dalam cairan ekoenzim dilakukan secara bertahap. Pati tidak langsung dapat diubah menjadi glukosa oleh enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri. Awalnya pati akan dihidrolisis menjadi senyawa dekstrin berupa polisakarida. pembentukan glukosa dan maltosa sebagai produk akhir yang terjadi secara acak. Sedangkan cara kerja -amilase pada molekul amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa, dan -limit dekstrin. Jenis limit dekstrin adalah oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang mengandung ikatan -1,6 (Risnoyatiningsih, 2011).

Salah satu manfaat bakteri amilolitik dalam dunia industri, digunakan untuk menghasilkan enzim Amilase. Enzim amilase memiliki peran yang luas dalam bidang makanan dan industri. Enzim amilase yang dihasilkan oleh mikroba salah satunya bakteri mampu menggantikan berbagai proses kimia di industri yang lebih efektif dan ramah (Setiarto et al., 2015). Enzim amilase di sektor makanan digunakan untuk menghasilkan sirup glukosa, sirup jagung fruktosa tinggi dan sirup maltosa (Basitoh et al. 2018). Industri lain memanfaatkan enzim amilase dalam proses produksi tekstil, kertas dan deterjen (Silaban & Simamora, 2018).

SIMPULAN

Total sebanyak 39 isolat bakteri ekoenzim berhasil diisolasi dan dimurnikan pada media *nutrient agar* (NA) dan diidentifikasi secara morfologi dan pewarnaan Gram. 34 isolat diantaranya menunjukkan aktivitas amilolitik positif yang mampu menghidrolisis pati pada media pati (*starch agar*). Masing-masing isolat bakteri memiliki nilai indeks hidrolisis pati yang berbeda-beda yaitu berkisar antara 9.45 – 23.65. Nilai indeks diameter zona bening dari hidrolisis amilum tertinggi dimiliki oleh isolat EJM 15. Potensi bakteri ekoenzim penghasil amilase ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti identifikasi molekuler dan biokimianya untuk mengetahui jenis dan spesies bakteri serta pengujian kuantitatif untuk mengetahui unit aktivitas enzim amilase yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat (LPPM) Universitas Bengkulu yang telah mendanai penelitian ini melalui pendanaan Skema Penelitian MANDAT/PENUGASAN dengan nomor kontrak: 1854/UN30.15/PG/2021 atas nama ketua Risky Hadi Wibowo.

REFERENSI

- Algoftar, M. A. A., Rosmansyah, F. S., Rum, I. A., Muhsinin, S., & Fatmawati, F. (2021). "Study A-Amilase Dari Mikroba Serta Pemanfaatannya Dalam Pembuatan Maltodekstrin." *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal* 6(1), 102–17.

DOI: <https://doi.org/10.52447/inrpj.v6i1.4517>.

- Arun, C., & Sivashanmugam, P. (2015). "Investigation of Biocatalytic Potential of Garbage Enzyme and Its Influence on Stabilization of Industrial Waste Activated Sludge." *Process Safety and Environmental Protection* 94(C), 471–78. doi: 10.1016/j.psep.2014.10.008.
- Basitoh, Y. K., Suarsini, E., & Prabaningtyas, S. (2018). Eksplorasi Bakteri Amilolitik Potensial dari Ranu Pani, Ranu Regulo, Ranu Grati dan Telaga Ngebe." *Jurnal Ilmu Hayat* 3(2), 52–63. <http://journal2.um.ac.id/index.php/jih/article/view/22595>.
- Choirunnisa, H. N., Sari, R. Y., Hastuti, U. S., & Witjoro, A. W. (2018). "Identifikasi Dan Uji Kemampuan Hidrolisis Pada Bakteri Amilolitik Dan Proteolitik Yang Diisolasi Dari Wadi, Makanan Khas Kalimantan Tengah." *Bionature* 18(2), 99–109. doi: 10.35580/bionature.v18i2.6138.
- Damayanti, S. S., Komala, O., & Effendi, E. M. (2020). Identifikasi Bakteri Dari Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi. *Ekologia* 18(2), 63–71. doi: 10.33751/ekol.v18i2.1627.
- Fat, A. G. (2005). "Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Publicações Novas/ New Publications Ciência E Tecnologia De Alimentos." 41, 2005.
- Fitri, Lenni, & Yasmin, Y. (2011). Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Ilmiah Pendidikan Biologi* 3(2), 20–25. <http://uilis.unsyiah.ac.id/unsyiana/items/show/3158>.
- Harahap, R. G., Nurmawati, Dianiswara, A., & Putri, D. L. (2021). Pelatihan Pembuatan Eco-Enzyme Sebagai Alternatif Desinfektan Alami Di Masa Pandemi Covid-19 Bagi Warga Km. 15 Kelurahan Karang Joang. *Sinar Sang Surya: Jurnal Pusat Pengabdian Kepada Masyarakat* 5(1), 67–73. doi.org/10.24127/sss.v5i1.1505.
- Hardi, Handayani, E., Nugroho, R. A., Saptiani, G., Sarinah, R., Agriandini, M., & Mawardi M. (2018). Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias Batrachus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas* 19(2), 480–88. doi: 10.13057/biodiv/d190215.
- Herawati, H. (2016). Potensi Pengembangan Produk Pati Tahan Cerna Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian* 30(1), 31–39. doi: <http://dx.doi.org/10.21082/jp3.v30n1.2011.p31-39>.
- Idris, H. (2016). Tanaman Kecubung (*Datura Metel* L.) Sebagai Bahan Baku Insektisida Botanik Untuk Mengendalikan Hama *Aspidomorpha Milliaris* F. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri* 21(1), 41. doi: 10.21082/litri.v21n1.2015.41-46.
- Munif, A., Wiyono, S., & Suwarno. (2016). "Isolasi Bakteri Endofit Asal Padi Gogo Dan Potensinya Sebagai Agens Biokontrol Dan Pemacu Pertumbuhan." *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 8(3), 57–64. doi: 10.14692/jfi.8.3.57.
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana R. (2021). Use of Mice As Experimental Animals in Laboratories That Refer To the Principles of Animal Welfare: A Literature Review." *Indonesia Medicus Veterinus* 10(1), 134–45. doi: 10.19087/imv.2020.10.1.134.
- Nasution, P. A., Annisah & Thasmi C. N. (2017). Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Caecum Puyuh (*Coturnix Japonica*). *Jimvet* 01(4):774–79. DOI: <https://doi.org/10.21157/jim%20vet.v1i4.5470>.
- Rahmatullah, W., Novianti E., & Sari, A. D. L. (2021). Identifikasi Bakteri Udara Menggunakan Teknik Pewarnaan Gram. *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika* 6(2), 84–92. <https://www.poltekkes-bsi.ac.id/jurnal/index.php/bsm/article/view/62>.

- Risnoyatiningih, S. (2011). "Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa Secara Enzimatis." *Jurnal Teknik Kimia* 5(2), 417–24. <http://ejournal.upnjatim.ac.id/index.php/tekkim/article/view/146>.
- Silaban, S., & Simamora, P. (2018). "Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Amilase Dari Sampel Air Tawar Danau Toba." *Edu Chemia (Jurnal Kimia Dan Pendidikan)* 3(2), 222. doi: 10.30870/educhemia.v3i2.3438.
- Sukmawati & Hardianti., F. (2018). "Analisis Total Plate Count (TPC) Mikroba Pada Ikan Asin Kakap Di Kota Sorong Papua Barat." *Jurnal Biodjati* 3(1), 72. doi: 10.15575/biodjati.v3i1.2368.
- Ulfa, Atiqa, Endang Suarsini, and Mimien Henie. (2016). Isolation and Mercury Sensitivity Test of Bacterias Isolated from Waste Disposal in Gold Mining Area in West S." *Proceeding Biology Education Conference Pendidikan Biologi FKIP UNS* 13(1), 793–99.
- Yasin, M. N., Astuti, A., & Gunawan, R. (2017). "Screening Bakteri Penghasil Amilase Dari Sedimen Sumber Air Panas Dondang Muara Jawa Screening Amilase Producing Bacteria From Dondang Hot Springs Sediment Muara Jawa." *Jurnal Atomik* 02(2), 213–15. <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JA/article/view/487/322>.