

UJI AKTIVITAS ENZIM PROTEASE BAKTERI TERMOFILIK PASCA ERUPSI MERAPI TERHADAP TEPUNG JEROAN IKAN LELE

ACTIVITY ASSAY OF PROTEASE ENZYME THERMOPHILIC BACTERIA AFTER MERAPI'S ERUPTION TO CATFISH INNARDS'S FLOUR

Oleh: Veronica Deavina P.¹, Anna Rakhmawati, M.Si², Evy Yulianti, M. Sc³
Biologi Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta
Email : veronica.haven46@gmail.com¹, anna_rakhmawati@uny.ac.id², evy_yulianti@uny.ac.id³

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim protease dari isolat bakteri D104a pada berbagai variasi lama waktu inkubasi dan konsentrasi substrat tepung jeroan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Isolat bakteri yang digunakan adalah isolat bakteri D104a, bakteri termofilik proteolitik yang diisolasi dari Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010. Pengujian aktivitas protease dilakukan dengan menggunakan metode Lowry. Aktivitas enzim protease kasar tertinggi diperoleh pada konsentrasi tepung jeroan ikan lele dumbo 1%, sebesar 0,9745 Unit/ml, dengan lama waktu inkubasi 12 jam. Aktivitas enzim protease kasar terendah diperoleh pada konsentrasi tepung jeroan ikan lele dumbo 4%, sebesar 0,0111 Unit/ml, dengan lama inkubasi selama 30 jam.

Kata kunci: aktivitas enzim, protease, bakteri termofilik

Abstract

This research was aimed to knowing activity protease enzyme from bacterial isolate D104a on variety of incubation period and concentrate of dumbo catfish innards's flour (Clarias gariepinus) as substrate. The bacterial isolates used were isolated bacterial isolate D104a from Kali Gendol after Merapi Mount's eruption at 2010. Examination of protease activity was done using by Lowry method. The highest crude protease activity was showed by 1% concentration of substrate by 0,9745 Unit/ml with 12 hours incubation peroid time. The lowest crude protease activity was showed by 4% concentrate of substrate by 0,0111 Unit/ml with 30 hours incubation peroid time.

Keywords: activity enzyme, protease, thermophilic bacteria

PENDAHULUAN

Enzim protease merupakan salah satu enzim penting dalam aplikasi bioteknologi dan industri yang berperan dalam degradasi protein (Sugiyono, 2008: 157). Enzim protease yang diperjualbelikan di seluruh dunia, sebanyak 60% dari total enzim (Agustin, 2012: 149).

Enzim protease dapat diperoleh dari berbagai sumber antara lain tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Umumnya, enzim yang telah diperoleh berasal dari kondisi tidak ekstrim. Seiring dengan adanya perkembangan bioteknologi, industri memerlukan enzim yang dapat bekerja pada kondisi ekstrim dalam proses

kimianya. Sehingga banyak peneliti berusaha mencari sumber enzim protease termostabil.

Pada tahun 2013, Anna Rakhmawati dan Evy Yulianti telah berhasil mengisolasi 348 isolat bakteri berasal dari Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010. Pada isolat bakteri termofilik D104a, mampu menghasilkan indeks proteolitik tertinggi pada suhu 65 °C dengan menggunakan medium NB selama 21 jam (Anna *et al.*, 2013: 01).

Menurut data Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) pada tahun 2015, hampir 99% kebutuhan enzim untuk industri masih berstatus impor dengan perkiraan nilai

hampir sebesar Rp. 187,5 Milyar. Kebutuhan enzim cenderung meningkat setiap tahun dan diperkirakan permintaan pasar global terhadap enzim meningkat sekitar 7 persen (2015-2020) per tahun. Keadaan ini tentunya sangat merugikan jika ditinjau secara ekonomi, mengingat Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan sumber alam hayati, terutama mikroba penghasil enzim termasuk protease (Agustin, 2012: 149).

Pada tahun 2012, Fakultas Ekonomi Universitas Atma Jaya melakukan survey konsumsi ikan lele di Yogyakarta. Hasil survey menunjukkan bahwa Yogyakarta memiliki angka konsumsi ikan lele mencapai 16 sampai 17 ton per hari. Jika dalam sehari wilayah Yogyakarta mengkonsumsi 17 ton lele, maka jumlah jeroan yang tidak dimanfaatkan kurang lebih mencapai 1,1 ton. Menurut Abdi *et al.*, (2012: 2) kandungan protein pada jeroan hati ikan lele sebanyak $23,03 \pm 1,19$ % (jantan) dan $21,50 \pm 0,46$ % (betina), sehingga jeroan ikan lele dapat dimanfaatkan menjadi salah satu sumber protein alternatif bagi bakteri termofilik sebagai substrat dalam menghasilkan enzim protease.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim protease dari isolat bakteri D104a dengan berbagai konsentrasi dan variasi lama waktu inkubasi pada substrat tepung jeroan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen secara deskriptif kuantitatif dengan perlakuan variasi konsentrasi substrat dan lama

inkubasi. Masing-masing perlakuan tiga kali pengulangan.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta pada bulan April 2014.

Subjek Penelitian

Populasi penelitian adalah bakteri termofilik enzim proteolitik yang diisolasi dari Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010. Sampel penelitian adalah isolat D104a dari bakteri termofilik proteolitik yang diisolasi dari Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi 2010.

Prosedur

Penelitian ini menggunakan tepung jeroan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) sebagai alternatif substrat. Membuat tepung jeroan dengan cara mengeringkan jeroan ikan lele dalam oven pada suhu 80 °C hingga kadar airnya berkurang. Setelah itu menghaluskan jeroan ikan lele hingga berbentuk butiran tepung yang lebih halus. Kemudian membuat media produksi menggunakan tepung jeroan ikan lele dalam berbagai konsentrasi 1%, 2%, 3%, dan 4%.

Sebanyak 10% starter isolat D104a diinokulasikan secara aseptis pada berbagai konsentrasi media produksi. Setelah itu menginkubasi dalam berbagai variasi waktu inkubasi. Lama waktu inkubasi adalah 0 jam, 6 jam, 12 jam, 18 jam, 24 jam dan 30 jam dalam keadaan statik pada suhu 65 °C.

Enzim protease kasar diperoleh dengan mengekstrak media produksi pada masing-masing perlakuan. Sebanyak 10 ml media disentrifuge selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm. .

Supernatan yang diperoleh merupakan enzim protease kasar.

Metode yang digunakan dalam menghitung kadar protein kasar dengan menggunakan metode Lowry. Satu ml supernatan ditambahkan dengan 5 ml pereaksi C reagen lowry, dikocok dengan segera dan dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 0,5 ml pereaksi D reagen Lowry, dikocok dengan segera dibiarkan pada suhu kamar selama 30 menit.

Prinsip kerja metode Lowry adalah terbentuknya suatu kompleks dengan ikatan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen Cu^+ . Ion Cu^+ dan gugus radikal dari tirosin, triptofan, dan sistein bereaksi dengan pereaksi Folin untuk menghasilkan suatu produk yang tidak stabil yang mereduksi molibdenum atau tungsten blue. Protein akan bereaksi dengan pereaksi Folin-Ciocalteu membentuk senyawa kompleks berwarna biru yang disebabkan adanya reaksi antara basa tembaga dengan sampel protein yang diuji (Maria, 2011: 104-105).

Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Kadar proteinnya ditentukan dengan membandingkan dengan kurva standar BSA. Dalam penghitungan aktivitas enzim, 1,0 unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah yang menyebabkan perubahan 1,0 mikromol ($\mu\text{mol} = 10^{-6} \text{ mol}$) substrat per menit pada 25 °C pada keadaan pengukuran optimal (Lehninger, 2000: 248-249).

Konsentrasi sampel ditentukan dengan cara memasukkan data serapan sampel ke dalam

persamaan linear kurva standar dan dilanjutkan dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Aktivitas Protease} = \frac{C \times 1000}{T \times V}$$

- C : konsentrasi enzim dari persamaan regresi dengan memasukkan nilai absorbansi sebagai sumbu Y (mm)
 T : waktu inkubasi (menit)
 1000 : faktor konversi (mm menjadi μm)
 V : volume enzim (ml)

Teknik Analisis Data

Data yang berupa data kualitatif akan dianalisis secara deskriptif. Sedangkan data kuantitatif berupa aktivitas enzim akan dianalisis dengan analisis varian dua arah (*two way anova*). Jika hasilnya menunjukkan data signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test atau sering disebut uji DMRT untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar kelompok perlakuan.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penentuan kadar protein kasar dilakukan secara kuantitatif. Tabel 1 menunjukkan hasil pengujian kadar protein kasar pada tiap perlakuan.

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Protein Kasar

Lama Inkubasi	Kadar Protein Kasar ($\mu\text{g/ml}$)			
	Substrat 1%	Substrat 2%	Substrat 3%	Substrat 4%
0 Jam	4,075	15,188	4,445	2,963
6 Jam	223,756	168,928	67,793	21,857
12 Jam	701,646	341,932	151,517	111,137
18 Jam	453,069	198,565	104,469	67,052
24 Jam	164,853	259,320	100,394	60,014
30 Jam	127,067	317,852	89,650	20,004

Kadar protein kasar tertinggi semua perlakuan diperoleh pada perlakuan konsentrasi substrat 1% dan lama waktu inkubasi 12 jam,

yaitu sebesar 701,646 $\mu\text{g/ml}$. Kadar protein kasar tertinggi pada perlakuan substrat 2%, 3%, dan 4% masing-masing sebesar 341,932 $\mu\text{g/ml}$, 151,517 $\mu\text{g/ml}$, dan 111,137 $\mu\text{g/ml}$. Perlakuan konsentrasi substrat 2% menunjukkan hasil kadar protein kasar yang tidak stabil. Setelah melewati lama inkubasi 12 jam, kadar protein kasar mengalami peningkatan dan penurunan.

Lama waktu inkubasi yang diperlukan untuk mencapai nilai tertinggi yaitu pada lama inkubasi selama 12 jam. Setelah melewati waktu 12 jam, kadar protein kasar semakin menurun.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Enzim Protease

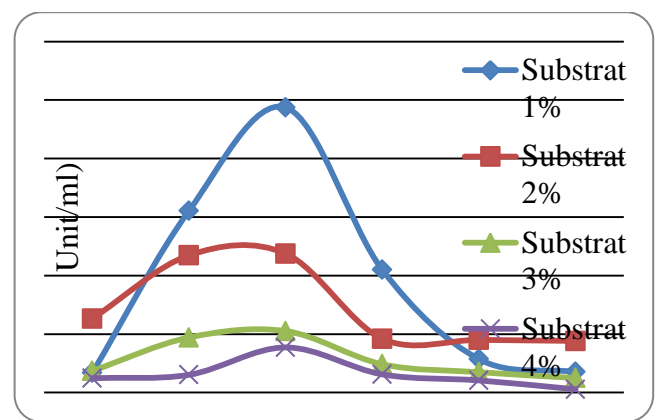
Lama Inkubasi	Aktivitas Enzim Protease Kasar (Unit/ml)			
	Substrat 1%	Substrat 2%	Substrat 3%	Substrat 4%
0 Jam	0,0679	0,2531	0,07409	0,0493
6 Jam	0,6215	0,4692	0,1883	0,0607
12 Jam	0,9745	0,4749	0,2104	0,1543
18 Jam	0,4195	0,1838	0,0967	0,06208
24 Jam	0,1144	0,18008	0,0697	0,0416
30 Jam	0,0705	0,1765	0,0498	0,0111

Tabel 2 menunjukkan hasil dari uji aktivitas enzim protease kasar pada tiap perlakuan. Aktivitas enzim protease tertinggi pada konsentrasi substrat 1%, 2%, 3%, dan 4% masing-masing sebesar 0,9745 Unit/ml, 0,4749 Unit/ml, 0,2104 Unit/ml, dan 0,1543 Unit/ml. Pada konsentrasi substrat 1% dan lama inkubasi 12 jam memiliki nilai aktivitas enzim protease tertinggi, yaitu sebesar 0,9745 Unit/ml. Sedangkan aktivitas enzim protease terendah adalah konsentrasi substrat 4% dengan lama inkubasi selama 30 jam, yaitu sebesar 0,0111 Unit/ml.

Aktivitas enzim protease kasar semakin bertambah seiring bertambahnya lama waktu inkubasi. Lama waktu inkubasi yang diperlukan

untuk mencapai nilai tertinggi yaitu selama 12 jam. Setelah melewati waktu 12 jam, aktivitasnya mulai menurun.

Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil aktivitas enzim pada penelitian ini adalah tingginya aktivitas enzim pada 12 jam inkubasi, sesuai dengan fase eksponensial pada kurva pertumbuhan mikroorganisme, yang terjadi pada jam ke 6 hingga jam ke 12 (Cappuccino *et al.*, 2013: 145).



Gambar 1. Grafik Aktivitas Enzim Protease Kasar

Kurva aktivitas enzimnya menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat semakin lambat laju aktivitas enzimnya. Hal ini berbanding terbalik dengan kajian teori yang telah disampaikan, bahwa meningkatnya konsentrasi substrat, kecepatan reaksi juga akan meningkat akibat makin cepatnya substrat yang terikat pada enzim. Salah satunya faktor yang menyebabkan adalah terlalu pekatnya substrat, sehingga substrat semakin sulit masuk ke dalam sel bakteri.

Selain itu dapat pula disebabkan karena enzim menjadi jenuh oleh substratnya. Sehingga kompleks enzim-substrat yang telah terbentuk akan terurai dalam reaksi dapat balik kedua, yang lebih lambat dan menghasilkan produk serta enzim bebas. Produk yang dihasilkan akan

semakin menghambat laju aktivitasnya (Lehninger, 2000: 241). Berkurangnya nutrisi dan oksigen atau kerapatan sel yang meningkat menyebabkan kondisi lingkungannya bersifat toksik bagi mikroorganisme (Talaro *et al.*, 2012: 211).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Isolat bakteri D104a mampu menghasilkan enzim protease kasar dalam berbagai konsentrasi substrat tepung jeroan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan lama inkubasi. Aktivitas enzim tertinggi terdapat pada konsentrasi 1%, yaitu sebesar 0,9745 Unit/ml pada lama inkubasi 12 jam.

Saran

Perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam dengan menambahkan variasi konsentrasi atau faktor yang lain untuk memanfaatkan kemampuan mikroorganisme isolat D104a dalam menghasilkan enzim protease termofilik.

DAFTAR PUSTAKA

Abdi, H., Christianus, E., Ramezani Fard, Saad C.R., Hosseini, S.A. 2012. *Proximate and Fatty Acid Composition of the Liver of Cultured Asian Redtail Catfish (Hemibagrus nemurus) and African Catfish (Clarias gariepinus)*. Journal of Fisheries and Aquatic Science. Malaysia: Universiti Putra Malaysia.

Agustin Krisna W., Lia Oriana N. 2012. *Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Hasil Isolasi dari Whey Tahu*.

Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 13 No. 3. Hlm: 149-156. Malang : Universitas Brawijaya

Anna Rakhmawati, Evy Yulianti., dan Eli Rohaeti. 2013. *Pengembangan Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler Termostabil*. Laporan Penelitian. Yogyakarta: FMIPA UNY

BPPT. 2015. *Ciptakan Pabrik Enzim Pertama di Indonesia, BPPT Transfer Teknologi Produksi Enzim ke PT Petrosida Gresik*. Diakses melalui <https://www.bppt.go.id/teknologi-agroindustri-dan-bioteknologi/2490-ciptakan-pabrik-enzim-pertama-di-indonesia-bppt-transfer-teknologi-produksi-enzim-ke-pt-petrosida-gresik> pada hari Sabtu tanggal 05 December 2015 pukul 15:38 WIB.

Cappuccino, James G., dan Sherman, Natalie. 2013. *Microbiology, a Laboratory Manual 10th Edition*. New Jersey : Pearson Education, Inc.

Lehninger, Albert L. 2000. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta : Erlangga.

Maria, Bintang. 2011. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta : Erlangga.

Sugiyono., R. A. J. Lintang dan R. A. Sabe. 2008. *Karakterisasi Protease Bakteri Termofil Mata Air Laut Panas Poso, Sulawesi Tengah*. Jurnal Penelitian Perikanan. 2(II). Hlm. 156-162.

Talaro, Kathleen Park., Chess, Barry. 2012. *Foundations in Microbiology 8th Edition*. New York : McGraw-Hill.

Tribun News. 2012. *Pasokan Lele di Yogya Kurang Tujuh Ton Perhari*. Diakses melalui <http://jogja.tribunnews.com/2012/05/30/pasokan-lele-di-yogya-kurang-tujuh-ton-perhari/> pada hari Minggu tanggal 30 Maret 2014 pukul 10:06 WIB