

**KARAKTERISASI MOLEKULER BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
DENGAN GEN 16S rRNA PENGHASIL ENZIM PROTEASE YANG
BERPOTENSI SEBAGAI PROBIOTIK DARI FERMENTASI
MARKISA KUNING (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*)
DI SUMATERA BARAT**

TESIS

Oleh

**HABIBI HIDAYAT
0921207027**



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

i

**Karakterisasi Molekuler Bakteri Asam Laktat (BAL) Dengan Gen 16S rRNA
Penghasil Enzim Protease Dan Yang Berpotensi Sebagai Probiotik Dari
Fermentasi Markisa Kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*)
Di Sumatera Barat**

Oleh : Habibi Hidayat

(Dibawah bimbingan Prof. Dr. Sumaryati Syukur dan Prof. Dr. Abdi Dharma)

RINGKASAN

Pergeseran pola makan masyarakat modern dengan konsumsi bahan makanan yang mengandung protein dan lemak yang tinggi serta kandungan serat yang rendah diduga sebagai salah satu pemicu munculnya berbagai penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan. Modifikasi komposisi bakteri saluran pencernaan dapat dilakukan melalui konsumsi bakteri hidup sehingga dapat menjaga keseimbangan bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan. Bakteri asam laktat (BAL) termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, sehingga disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yang disebut bakteri probiotik. Enzim pencernaan ekstraseluler yang dihasilkan dapat membantu proses pencernaan pada manusia seperti enzim protease. Salah satu keragaman hayati yang dapat menghasilkan mikroorganisme potensial sebagai penghasil enzim protease berasal dari buah Markisa (*Passiflora sp.*).

Mengingat manfaat dan kandungan buah markisa bagi kesehatan sangat penting, salah satunya untuk sistem pencernaan maka peneliti perlu melakukan

penelitian untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial dari buah Markisa kuning untuk dikembangkan sebagai penghasil enzim protease, sehingga dapat membantu sistem pencernaan manusia yang meliputi uji aktivitas enzim protease, uji potensi probiotik, dan karakterisasi molekuler yang berasal dari sampel Markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) dengan judul "Karakterisasi molekuler bakteri asam laktat (BAL) dengan gen 16S rRNA penghasil enzim protease yang berpotensi sebagai probiotik dari fermentasi Markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) di Sumatera Barat.

Karakterisasi molekuler bakteri asam laktat (BAL) dengan gen 16S rRNA penghasil enzim protease yang berpotensi sebagai probiotik dari fermentasi Markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) di Sumatera Barat telah dilakukan di laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman, serta laboratorium Biokimia Universitas Andalas dari bulan September sampai dengan Desember 2010. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi molekuler gen 16S rRNA enzim protease dari bakteri asam laktat (BAL) yang dapat membantu kesehatan manusia khususnya sistem pencernaan manusia.

Dari hasil pengamatan keenam isolat menunjukkan aktivitas enzim protease dan aktivitas antimikroba serta resistensi terhadap asam dalam media. Tiga isolat dipilih untuk dilakukan uji selanjutnya berdasarkan diameter zona bening. Dari metode screening isolat M₁ menunjukkan aktivitas enzim yang tertinggi, yaitu sebesar 6,5, M₂ sebesar 6, dan M₃ sebesar 5,75. Sedangkan dengan menggunakan metode spektrofotometer diperoleh kadar protein dari persamaan regresi untuk masing-masing sampel M₁, M₂, dan M₃ sebesar 0,65023 mg/mL, 0,58854 mg/mL, 0,65943 mg/mL. Sedangkan aktivitas enzim yang

diperoleh 0,72567 Unit/mL, 0,6553 Unit/mL, dan 0,8626 Unit/mL. Aktivitas enzim spesifik yang dihasilkan sebesar 1,11594 Unit/mg, 1,1134 Unit/mg, dan 1,3081 Unit/mg.

Hasil uji aktivitas antimikroba dan resistensi terhadap asam isolat M₁, M₂, dan M₄ menunjukkan aktivitas yang tinggi berdasarkan diameter zona bening. Isolat M₄ merupakan isolat unggul karena memiliki aktivitas enzim, aktivitas antimikroba, dan resistensi terhadap asam yang tertinggi, sehingga dilakukan isolasi DNA terhadap isolat M₄. Selanjutnya di amplifikasi gen 16S rRNA dengan menggunakan PCR diperoleh produk 1.500 bp. Kemudian dilakukan sekuensing dan diperoleh persentase identitas dari isolat M₄ yang diisolasi dari buah Markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) sebesar 98% yang memiliki kekerabatan terdekat dengan *Weissella cibaria strain II-1-59*.

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pergeseran pola makan masyarakat modern dengan konsumsi bahan makanan yang mengandung protein dan lemak yang tinggi serta kandungan serat yang rendah diduga sebagai salah satu pemicu munculnya berbagai penyakit yang berhubungan dengan saluran pencernaan. Modifikasi komposisi bakteri saluran pencernaan dapat dilakukan melalui konsumsi bakteri hidup sehingga dapat menjaga keseimbangan bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan. Salah satu bakteri yang beredar dipasaran adalah bakteri asam laktat (BAL), khususnya dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Sunjaya, 2008).

Bakteri asam laktat (BAL) termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin, sehingga disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan khususnya dalam membantu proses pencernaan manusia yang disebut bakteri probiotik.

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Menurut Grajek (2005) bakteri probiotik tidak bersifat patogen, secara genetik stabil, dan resisten terhadap enzim pencernaan. Enzim pencernaan

ekstraseluler dan intraseluler yang dihasilkan dapat membantu proses pencernaan pada manusia seperti enzim protease dan laktase (putranto, 2006).

Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai biokatalis dalam sel hidup. Kemajuan dalam teknologi fermentasi, rekayasa genetika dan teknologi aplikasi enzim menyebabkan penggunaan enzim dalam industri semakin meluas. Enzim telah banyak digunakan dalam bidang industri pangan, kesehatan, farmasi, dan industri kimia lainnya. Salah satu enzim yang banyak digunakan dalam bidang kesehatan adalah enzim protease. Nilai perdagangan enzim dunia mencapai 3-4 miliar dolar per tahun, 4-5 juta dolar diantaranya dari pasar Indonesia yang keseluruhannya diimpor dari negara-negara produsen enzim. Pasar yang luas dan sumber daya alam yang mendukung merupakan peluang berharga bagi pengembangan industri enzim di negara Indonesia (Kosim, 2010).

Sumber enzim yang paling banyak digunakan berasal dari mikroorganisme, karena lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan tanaman maupun hewan. Hal ini disebabkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik, serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim. Adanya mikroorganisme yang unggul merupakan salah satu faktor penting dalam usaha produksi enzim. Oleh karena itu, penggalan mikroorganisme indigenous penghasil protease perlu dilakukan di Indonesia.

Keragaman hayati yang tinggi memberikan peluang yang besar untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial untuk dikembangkan sebagai penghasil enzim. Salah satu keragaman hayati yang dapat menghasilkan

mikroorganisme potensial berasal dari buah Markisa (*Passiflora sp.*). Buah Markisa merupakan salah satu komoditas unggulan kabupaten Solok propinsi Sumatera Barat, karena memiliki kandungan gizi yang tinggi serta ekstrak buah markisa banyak mengandung fitokimia yang mampu membunuh sel kanker seperti polifenol dan karotenoid.

Penelitian mengenai bakteri asam laktat (BAL) sebagai penghasil enzim protease telah banyak dilakukan pada berbagai bahan pangan, misalnya makanan fermentasi (Djaafar et al., 1996). Namun, sampai saat ini penelitian karakterisasi molekuler bakteri asam laktat (BAL) sebagai penghasil enzim protease yang bersumber dari buah-buahan belum dilakukan. Padahal diduga buah-buahan merupakan sumber bakteri asam laktat yang potensial karena kandungan karbohidrat sederhana dan asam-asam organiknya yang tinggi. (Sarkono, 2006).

Mengingat manfaat dan kandungan buah markisa bagi kesehatan sangat penting, salah satunya untuk sistem pencernaan maka peneliti perlu melakukan penelitian untuk mendapatkan mikroorganisme yang potensial dari buah Markisa kuning untuk dikembangkan sebagai penghasil enzim protease, sehingga dapat membantu sistem pencernaan manusia yang meliputi uji aktivitas enzim protease, uji potensi probiotik, dan karakterisasi molekuler yang berasal dari sampel Markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) dengan judul "Karakterisasi molekuler bakteri asam laktat (BAL) dengan gen 16S rRNA penghasil enzim protease yang berpotensi sebagai probiotik dari fermentasi Markisa kuning (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) di Sumatera Barat".

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

1. Hasil Pengamatan bentuk morfologi dari masing-masing isolat diperoleh jenis bakteri *streptobacilli* (bacillus) gram positif, yaitu isolat M₂, M₃, M₄, M₅, dan M₆. satu isolat yang berbentuk *streptococcus* (coccus), yaitu M₁.
2. Isolat yang mempunyai kemampuan tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen adalah isolat M₁, M₂, dan M₄.
3. Kadar protein yang diperoleh dari persamaan regresi untuk masing-masing sampel M₁, M₂, dan M₄ adalah 0,65023 mg/mL, 0,58854 mg/mL, dan 0,65943 mg/mL. Aktivitas enzim yang diperoleh 0,72567 Unit/mL, 0,6553 Unit/mL, 0,8626 Unit/mL. Dan untuk aktivitas spesifik yang dihasilkan sebesar 1,11594 Unit/mg, 1,1134 Unit/mg, dan 1,3081 Unit/mg.
4. Isolat M₂ dan M₄ yang diperoleh bersifat probiotik karena resisten terhadap asam yaitu pada pH 2,0.
5. Isolat M₄ yang diisolasi dari buah Markisa Kuning (*passiflora edulis* var. *flavicarpa*) mempunyai persentase kesamaan tertinggi sebesar 98% dengan *Weisella cibiria strain 11-1-59*

5.2 SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan tentang karakterisasi bakteriosin dan pemurnian dengan kolom untuk memurnikan bakteriosin dengan kromatografi kolom, serta menentukan struktur asam-asam amino dari isolat bakteri yang sudah diidentifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Chainulfillah. 2003. *Dekteksi Bakteri Patogen Stereptococcus Pyogenes dengan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR)*. 6 (1) : 1-4 (2003).
- Anam, Khairul. 2010. *Produksi Enzim Amilase*. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Arici, M. 2003. *Some Characterization of Lactobacillus Isolates from Infant Faeces*. Turkey : Food Microbiology
- Baron, C. dan P. C. Zambryski. 1995. *Notes from the Underground: Highlights from Plant-Microbe Interaction*. *Tibtech*. 13 : 356-361.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, and M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 365 hlm.
- Das, Gitishre. 2010. *Isolation, Purification And Mass Production Of Protease Enzyme From Bacillus subtilis*. India : Bagalore
- Dewita, Sri M. 2010. *Identifikasi Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Biskuit Blondo Yang Berpotensi Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen*. Padang : Universitas Andalas
- Feliatra. 1999. *Identifikasi Bakteri Patogen (Vibrio sp) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau*. II (1) : 28-33 (1999).
- Fuller, R. (ed). (1992). *Probiotik and Scientific Basi*. London : Chapman andhall.
- Goldin, B.R. 1998. *Health benefits of Probiotics*. *British J. Nutr.* 80. Suppl. 2, S231-S233.
- Grajek, Wlodzimer., et al. 2005. *probiotics, Prebiotics and Antioxidants as Functional Foods*. *Acta Biochimica Polonica*. 52 (3) : 665-671
- Hardiningsih, Riani, dkk. 2005. *Isolasi Dan Uji Resistensi Beberapa Isolat Lactobacillus Pada pH Rendah*. Bogor: I.IPI
- Harnel. *Evaluasi Kinerja Juicer Tipe Mekanis Untuk Buah Markisa Pada Berbagai Tingkat Kematangan*. Sumatera Barat : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Sumatera Barat.
- Haryanto, R. 2005. *Antara Antibiotik, Probiotik dan Prebiotik*. Bandung : Asisten mobil lab Basic Science Center ITB.