

SKRINING MIKROBA PENGHASIL PROTEASE ALKALI*

Anthoni Agustien, Jasmi Jusfah dan Dewi Insani**)

ABSTRAK

Enzim protease alkali merupakan enzim yang dapat menghidrolisis protein dalam suasana alkali. Isolasi mikroba alkalifil dilakukan dari bak pengapuran pada proses penyamakan kulit dengan metoda "Total Plate Count"(TPC) dan skrining mikroba yang dapat menghasilkan enzim protease alkali ditentukan dengan metoda Meinhardt. Dari penelitian diperoleh 76 koloni bakteri (7600 sel/ml) yang bersifat alkalifil dan 12 isolat bakteri dan hanya 1 isolat aktinomisetes yang dapat menghasilkan enzim protease alkali. Dua isolat bakteri AND-001 dan AND-004 berpotensi baik dalam menghasilkan enzim protease alkali.

Kata kunci: Protease alkali, skrining, isolat

*)Data SPP-DPP Universitas Andalas tahun 2000

**)Jurusan Biologi FMIPA UNAND, Padang

I. PENDAHULUAN

Enzim protease merupakan enzim yang berfungsi dalam mengkatalisis ikatan peptida pada protein. Dalam industri enzim, protease merupakan enzim yang paling penting, karena 60% dari hasil produksi industri enzim di seluruh dunia adalah protease. Spesifik substrat dan aktivitas protease yang sangat luas, sehingga enzim ini dapat digunakan dalam berbagai bidang terutama industri detergen dan penyamakan kulit.

Menurut Moon dan Parulekar (1990), dalam industri detergen yang digunakan adalah enzim protease alkali yang dihasilkan oleh mikroba.

Menurut Hamamoto dan Horikoshi (1990), enzim yang bersifat alkali bekerja optimum pada pH alkali (lebih besar dari pH 10) dan mikroorganisme alkalifil dapat menghasilkan enzim ekstraselular yang bersifat alkali. Alkalifil merupakan organisme yang dapat hidup pada pH alkali dan pH optimum untuk pertumbuhannya di atas pH 8, biasanya antara pH 9-10 (Grant, 1990).

Banyak dari genus *Bacillus* yang bersifat alkalifil yang telah diisolasi untuk digunakan sebagai aplikasi dalam bidang bioteknologi, karena enzim-enzim yang dihasilkan stabil pada suasana alkali seperti enzim protease yang dihasilkan *Bacillus alkaleophilus*, *Bacillus firmus* dan puna-puna alkalifil (Grant, 1990). Oyamou et al., (1997), telah melakukan skrining mikroba penghasil protease alkali dan didapatkan 1400 isolat yang dapat mendegradasi kasein dengan strains *Paenobacter* sp Z-183 yang mempunyai zona bening yang paling besar.

Semenjak ditemukannya organisme yang dapat hidup pada lingkungan yang mempunyai suhu ekstrim, pH ekstrim, tekanan tinggi dan salinitas yang tinggi hal ini

sangat menarik perhatian pada bidang bioteknologi khususnya tentang potensi enzim yang dihasilkan oleh organisme tersebut (Afari dan Kelly, 1995).

Indonesia sebagai salah satu negara mega diversity di bumi sangat kaya akan aneka ragam spesies makhluk hidup. Pengetahuan mengenai kekayaan akan mikroorganisme yang indigenes Indonesia masih sedikit sekali (Gandjar dan Octari, 1999).

Dari survey yang telah dilakukan terhadap industri penyamakan kulit di Padang Panjang, kulit mentah yang masih mengandung sisa-sisa daging terlebih dahulu dimasukkan ke dalam bak yang berisi air kapur dan dibiarkan selama 10 hari. Setelah dilakukan pengukuran pH air pada bak tempat proses pengapuran terhadap kulit mentah ternyata pH airnya 11-12 (alkali). Untuk itu kemungkinan besar akan diperoleh mikroba alkalifil yang dapat menghasilkan enzim protease alkali dari sumber air pengapuran pada proses penyamakan kulit.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan mikroba yang menghasilkan enzim protease alkali.

II. METODA PENELITIAN

I. Bahan dan Alat-alat

1.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, medium Nutrient Agar (NA), Skim Agar-2%, PDA, medium pertumbuhan aktinomicetes, akuradeshi, spiritus.

1.2 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan otoklav, petridish, tabung reaksi, jarum ose, tusuk gigi, beker glass, erlenmeyer, kertas pH universal, botol sampel

2. Cara kerja

2.1 Di lapangan

Pengambilan sampel dilakukan pada bak penampungan tempat proses pengapuran terhadap kulit mentah. Dengan menggunakan botol steril diambil sampel air yang mempunyai sekitar pH 12. Dicatat juga sifat fisik air lainnya seperti bau dan warna air.

2.2 Di laboratorium

2.2.1 Isolasi mikroba

Isolasi mikroba dilakukan dengan metoda Total plate count (TPC). Dilakukan pengenceran sampel air sampai 10^{-2} dengan akuaadesi. Kemudian dipipet 1 ml ke dalam cawan petri dan pada masing-masing cawan petri dituangkan medium mempunyai pH 10 yakni medium NA untuk pertumbuhan bakteri, medium PDA untuk pertumbuhan jamur dan medium spesifik untuk pertumbuhan aktinomycetes. Selanjutnya dinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam, dicatat jumlah koloni mikroba

2.2.2 Screening mikroba penghasil protease alkali

Screening mikroba penghasil enzim protease alkali dilakukan menurut metoda Meinhardt (1996) sebagai berikut :

Kolon-koloni bakteri, jamur dan aktinomycetes yang terdapat pada media NA, PDA dan medium spesifik dimodifikasi dengan menggunakan tusuk pipet steril pada media Skim Agar 2% (pH 8). Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam. Jika terbentuk zona bening ("clear zone") disekitar koloni bakteri, hal ini memberikan indikasi bahwa bakteri tersebut menghasilkan enzim protease alkali ekstraselular. Diukur zona bening masing-masing koloni bakteri. Selanjutnya isolat-isolat mikroba tersebut dibiakan pada medium agar miring untuk stok.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut :

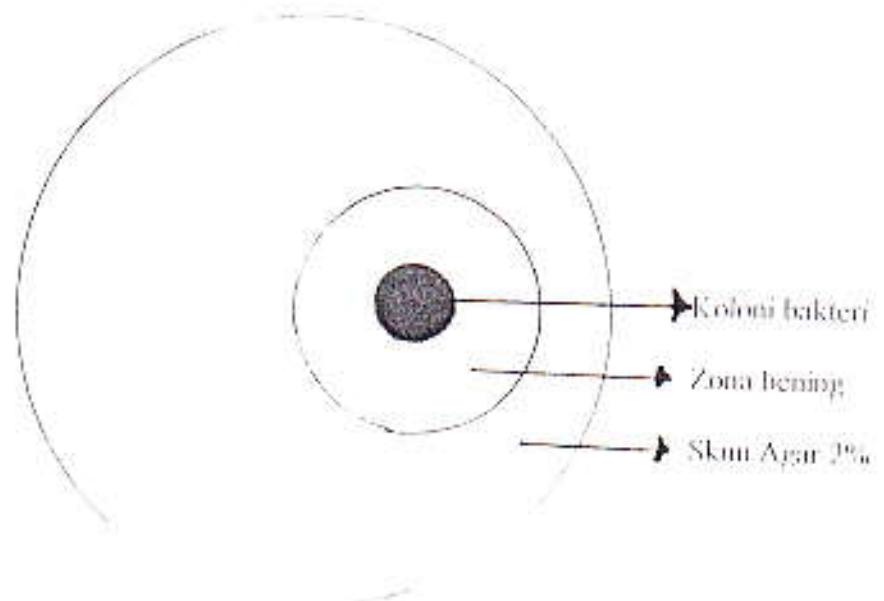
1. Isolasi mikroba

Isolasi mikroba dari bak pengapuran kulit didapatkan 76 koloni bakteri dan hanya 1 koloni aktinomycetes, serta tidak ditemukannya jamur. Hal ini berarti hanya bakteri dan aktinomycetes yang dapat hidup pada air pengapuran yang mempunyai pH 12 yang bermaksud bahwa bakteri dan aktinomycetes tersebut termasuk mikroba yang alkalifil, sedangkan jamur tidak mampu untuk hidup pada medium yang mempunyai pH alkali. Menurut Grant (1990), alkalifil merupakan organisme yang dapat hidup pada pH alkali dan pH optimum untuk pertumbuhannya di atas pH 8.

2. Skrining mikroba penghasil enzim protease alkali

Dari skrining bakteri dan aktinomycetes yang menggunakan metoda Meinhardt (1996), diperoleh 12 isolat bakteri dan 1 isolat aktinomycetes berindikasi menghasilkan

enzim protease alkali secara ekstraseluler yakni dengan adanya zona bening disekitar koloni mikroba. Terbentuknya zona bening disekitar koloni mikroba hal ini disebabkan mikroba dapat mengsekresikan enzim protease alkali ke media Skim agar 2% yang mempunyai pH alkali dan selanjutnya menghidrolisis ikatan peptida dari protein yang terdapat dalam medium Skim Agar 2% (kasein) menjadi oligopeptida ataupun dalam bentuk peptida-peptida (asam-asam amino) yang kemudian masuk ke dalam sel mikroba. Untuk lebih jelasnya zona bening dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Zona bening yang terdapat disekitar koloni mikroba pada medium Skim Agar 2%

Menurut Hamamoto dan Horikoshi (1990), enzim yang bersifat alkali bekerja optimum pada pH alkali (lebih besar dari pH 10) dan mikroorganisme alkalifil dapat menghasilkan enzim ekstraselular yang bersifat alkali.

Koloni-koloni bakteri dan aktinomycetes yang mempunyai zona bening diukur diameter zona beningnya (tabel 1).

Tabel 1. Diameter zona bening, masing-masing isolat mikroba

No.	Kode Isolat	Diameter Zona bening (cm)
1.	AND-001	2,4
2.	AND-003	1,4
3.	AND-004	2,0
4.	AND-007	1,2
5.	AND-010	1,8
6.	AND-011	0,8
7.	AND-012	1,2
8.	AND-020	1,0
9.	AND-024	1,4
10.	AND-036	1,6
11.	AND-040	1,0
12.	AND-053	1,4
13.	AND-067	1,2

Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa masing-masing isolat mempunyai zona bening yang berbeda satu sama lainnya. Dalam hal ini berarti masing-masing isolat memiliki aktivitas enzim yang berbeda dalam menghidrolisis protein yang terdapat pada medium Skim Agar. Adanya perbedaan aktivitas enzim, hal ini disebabkan konformasi enzim, urutan dan jumlah asam amino pembentuk enzim serta kuantitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Dari tabel juga dapat diketahui adanya 2 isolat (AND-001 dan AND-004) yang mempunyai diameter zona bening sama atau lebih besar dari 2 cm, hal ini menunjukkan kedua isolat tersebut mempunyai potensi yang baik dalam menghasilkan enzim protease

alkali. Menurut Sasmitadipa (1990), mikroba yang mempunyai indeks proteolitik sama atau besar dari 7 cm merupakan galur yang sangat potensial dalam menghasilkan enzim protease.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

1. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Mikroba yang dapat menghasilkan enzim protease alkali sebanyak 12 isolat bakteri dan satu isolat aktinomicetes.
2. Isolat bakteri AND-001 dan AND-004 berpotensi baik untuk menghasilkan enzim protease alkali.

2. SARAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disarankan :

Perlu diteliti lebih lanjut mengenai isolasi dan uji aktivitas enzim protease alkali dari masing-masing isolat mikroba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Dana DPP/SPP, Lembaga Penelitian Universitas Andalas, yang telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini dengan no. kontrak 33/L.PUA/DPP-SPP/VIII/2000.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, M.W.W dan R.M. Kelly, 1995, Enzymes from organism in extreme environments, *Chem. Eng. News.*, 13-15
- Gandjar, I. dan A. Oetari, 1999, Mosaice, Makalah pada Pertemuan Ilmiah Tahunan PERMI, Padang
- Grant, W.D., 1990, Alkaline Environments, *Encyclopedia of Microbiology*, 4, 73-80
- Hannamoto, T. dan K. Horikoshi, 1990, Alkaliphiles, *Encyclopedia of Microbiology*, 4, 81-87
- Moon, S. H. dan S.J. Parolekar, 1990, A parametric study of protease production in batch and fed batch cultures of *Bacillus firmus*, *Biotech. Bioeng.*, 37, 467-483
- Meinhardt, F., 1996, Mikrobielle molekurbilogie, Institut für Mikrobiologie, University of Munster
- Oyama, H.; M. Kinjoh; M. Watan dan S. Murao, 1997, Purification and Characterization of an Alkaline Proteinase Produced by *Pinelobacter* sp. Z-483, 351-353
- Sastrambandja, I., 1990, Pemuliaan mikroorganisme, PAU Bioteknologi JTH, Bandung