

Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Universitas Airlangga

SELESAI

PAMERAN
01 DEC 1995

**IDENTIFIKASI JENIS MIKROBA SAMPAH ORGANIK
PENGHASIL GLUKOAMILASE**

**Ketua Peneliti :
Dra. DWI WINARNI**

Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1993/1994
SK. Rektor Nomor : 3533/PT.03.H/N/1993**

Nomor Urut : 169

Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Universitas Airlangga

KKS
Kk
576
Ide

**IDENTIFIKASI JENIS MIKROBA SAMPAH ORGANIK
PENGHASIL GLUKOAMILASE**

Ketua Peneliti :

Dra. DWI WINARNI

Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

0031619943141



SELESAI

MILIK
PERPUSTAKAAN
"UNIVERSITAS AIRLANGGA"
SURABAYA

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai Oleh : DIP/OPF Unair 1993/1994
SK. Rektor Nomor : 3533/PT.03.H/N/1993

Nomor Urut : 169

LEMBAGA PENELITIAN

Jl. Darmawangsa Dalam 2 Telp. (031) 42322 Surabaya 60286

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

- a. Judul Penelitian : "Identifikasi Jenis Mikroba Sampah Organik Penghasil Glukamilase"
- b. Macam Penelitian : Fundamental Terapan Pengembangan
- Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap dengan Gelar : Dra. Dwi Winarni
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan/NIP. : Penata Muda/IIIA/131 836 619
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas / Jurusan : MIPA/Biologi
- f. Universitas : Airlangga
- g. Bidang Ilmu yang Diteliti : Mikrobiologi
- Jumlah Tim Peneliti : 5 Orang
- Lokasi Penelitian : Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Univ. Airlangga
- Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. Alamat : -
- Jangka Waktu Penelitian : 3 Bulan
- Biaya yang Diperlukan : Rp 1.500.000,00
- Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : 21 Desember 1993
- b. Hasil Penilaian : Baik Sekali Baik
 Sedang Kurang



Mengetahui / Mengesahkan :
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. dr. Soedijono
NIP 130261501

DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

IDENTIFIKASI JENIS
MIKROBA SAMPAH ORGANIK
PENGHASIL GLUKOAMILASE

Peneliti :

Dra. Dwi Winarni
Drs. Salamun, M.Kes.
Drs. Agus Supriyanto
Dra. Ni'matuzahroh
Drs. R. Agung Samsumaharto

0031619943141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai: DIP/OPF Tahun 1993/1994

S. K. Rektor Nomor : 9539/PT 03. H/N/1993

Tanggal : 7 Mei 1993

RINGKASAN PENELITIAN

| | |
|------------------|--|
| Judul Penelitian | : IDENTIFIKASI JENIS MIKROBA SAMPAH ORGANIK PENGHASIL GLUKOAMILASE |
| Ketua Peneliti | : Dwi Winarni |
| Anggota Peneliti | : Salamun Agus Suprijanto Ni'matuzahroh R. Agung Samsumaharto |
| Fakultas | : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga |
| Sumber Biaya | : DIP Operasional Perawatan dan Fasilitas Universitas Airlangga tahun 1993/1994. SK Rektor : 3533/PT03.H/N/1993 |

Glukoamilase adalah enzim yang mampu menghidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa dan digunakan dalam industri sirup glukosa kadar tinggi, sirup fruktosa kadar tinggi, dan gula kristal yang dapat dikonsumsi langsung atau digunakan sebagai bahan baku dalam industri pangan dan farmasi. Enzim ini merupakan enzim ekstraselular dan dapat diproduksi oleh mikroba terutama yang hidup di lingkungan yang banyak mengandung pati.

Dengan menggunakan sampel sampah organik yang diambil dari tempat pembuangan akhir kecamatan Sukolilo -sebagai salah satu tempat yang mengandung banyak pati-diharapkan penelitian ini dapat menjawab permasalahan (1) jenis mikroba sampah organik apa saja yang dapat menghasilkan glukoamilase, (2) bagaimanakah aktifitas enzim dan pola pertumbuhan masing-masing jenis mikroba teridentifikasi dan (3) berapakah persentase pati yang dapat diubah menjadi glukosa oleh masing-masing jenis mikroba teridentifikasi.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai bahan pertimbangan dalam upaya eksplorasi mikroba penghasil glukoamilase sekaligus menjadi bahan masukan alternatif pendaurulangan sampah organik. Adapun tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi jenis mikroba sampah organik penghasil glukoamilase sekaligus mengamati aktifitas enzim, pola pertumbuhan dan kadar glukosa maksimum untuk mengetahui berapa persen pati yang dapat diubah menjadi glukosa oleh masing-masing jenis mikroba teridentifikasi dalam media pati 1%.

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Airlangga bulan Juli-Agustus 1993. Isolasi mikroba dari bahan penelitian dilakukan dengan media diferensial agar pati 1%. Identifikasi berpedoman pada pustaka *The Yeast : A Taxonomic Study* (Kreger-van Rij. 1984)

edisi ke 3. Sedangkan penentuan aktifitas enzim (menggunakan uji gula tereduksi metode Somogyii-Nelson) dan penghitungan jumlah mikroba yang dilakukan terhadap sampel biakan dalam media cair yang diambil tiap selang waktu rata-rata 5 jam sekali.

Dari hasil penelitian didapatkan kesimpulan bahwa : (1) Jenis mikroba (selain jamur) yang ditemukan pada sampel sampah organik yang diteliti adalah *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera*, (2) aktifitas enzim glukoamilase produk dua jenis mikroba tersebut dipengaruhi oleh jumlah populasi mikroba, dan (3) pati yang dapat diubah menjadi glukosa oleh glukoaminase produk *S. diastaticus* sebesar 11,08% dan oleh produk oleh produk *E. fibuligera* sebesar 9,25%. Disarankan agar efektifitas pemanfaatan mikroba ini sebagai agen pendaurulang sampah organik masih harus diteliti lebih lanjut mengingat kemampuannya yang sangat minimal.

K A T A P E N G A N T A R

Tim peneliti mengucapkan puji syukur kepada Tuhan Yang Mahaesa, karena telah berhasil menyelesaikan penelitian ini.

Pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian yang membiayai penelitian ini, Ketua Jurusan Biologi dan Pimpinan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas hingga penelitian ini dapat terlaksana.

Tentunya masih banyak kekurangan di dalam laporan penelitian ini. Untuk itu kritik dan saran yang membangun kami terima dengan senang hati.

Harapan kami, semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi mereka yang memerlukannya.

Surabaya, akhir Nopember 1993

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

| | halaman |
|--|---------|
| RINGKASAN PENELITIAN | i |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | iv |
| DAFTAR GAMBAR | vi |
| DAFTAR LAMPIRAN | vii |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang Masalah | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 2 |
| 1.3. Tujuan Penelitian | 3 |
| 1.4. Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. Tinjauan Tentang Glukoamilase | 4 |
| 2.2. Dekomposisi Pati oleh Mikroba | 6 |
| 2.3. Tahapan Umum Pertumbuhan Populasi Mikroba | 7 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 9 |
| 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian | 9 |
| 3.2. Sampel Penelitian | 9 |
| 3.3. Bahan dan Alat Penelitian | 9 |
| 3.4. Urutan Kerja Penelitian | 10 |
| 3.4.1. Isolasi mikroba penghasil gluko- amilase | 10 |
| 3.4.2. Identifikasi jenis mikroba | 11 |
| 3.4.3. Produksi glukoamilase | 11 |
| 3.4.4. Pengambilan Sampel dan perlakuan terhadap sampel | 11 |
| 3.4.5. Pembuatan kurva pertumbuhan mi- kroba | 12 |
| 3.4.6. Penentuan aktifitas enzim | 12 |
| 3.4.7. Penentuan kadar glukosa ter- tinggi hasil hidrolisis | 13 |
| 3.5. Analisis Data | 13 |

| | | |
|--------|---|----|
| BAB IV | HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 14 |
| 4.1. | Identifikasi Jenis Mikroba | 14 |
| 4.2. | Aktifitas Enzim, Pola Pertumbuhan, dan Kadar Glukoamilase Maksimum yang Dapat Dihasilkan Mikroba Ter- identifikasi | 15 |
| 4.2.1. | <i>Saccharomyces diastaticus</i> | 15 |
| 4.2.2. | <i>Endomycopsis fibuligera</i> | 18 |
| BAB V | KESIMPULAN DAN SARAN | 20 |
| 5.1. | Kesimpulan | 20 |
| 5.2. | Saran | 20 |
| | DAFTAR PUSTAKA | 21 |
| | LAMPIRAN | |

DAFTAR GAMBAR

| | halaman | |
|----------|---|----|
| Gambar 1 | Bagan hidrolisis pati oleh glukamilase | 5 |
| Gambar 2 | Struktur kimia zat pati | 6 |
| Gambar 3 | Pertumbuhan populasi dan aktifitas glukamilase <i>Saccharomyces diastaticus</i> | 15 |
| Gambar 4 | Pertumbuhan populasi dan aktifitas glukamilase <i>Endomycopsis fibuligera</i> | 19 |

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Data hasil penentuan aktifitas enzim glukamilase produk *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera*
- Lampiran 2. Data hasil pengukuran jumlah populasi *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera*
- Lampiran 3. Kurva baku hubungan serapan cahaya dengan kadar glukosa
- Lampiran 4. Kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah sel *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera* dalam media cair pati 1%

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Enzim glukoamilase adalah enzim yang mampu menghidrolisis pati menjadi glukosa (Panji, 1988). Penggunaan enzim ini dalam industri meningkat dari tahun ke tahun (Crueger, 1984; Atlas, 1982) dan dilibatkan dalam produksi sirup glukosa kadar tinggi (90-97% D-glukosa), gula kristal dan sirup fruktosa kadar tinggi (*High Fructose Syrup/ HFS*) yang lebih manis dari glukosa tetapi tidak mengakibatkan peningkatan kadar gula darah jika dikonsumsi (Crueger, 1982; Panji, 1988). Produk-produk tersebut selain dapat dikonsumsi langsung, digunakan pula sebagai bahan baku di dalam industri pangan dan farmasi (Sardjoko, 1991)

Glukoamilase dapat dihasilkan oleh beberapa jenis jamur (*Aspergillus niger* dan *Rhizopus spp*), dan ragi/khamir (Panji, 1988; Kuswanto, 1988; Vihinen, 1989; Sardjoko, 1991) dan digolongkan sebagai enzim ekstraselular (Timotius, 1982; Syukur, 1983; Suriawiria, 1985) yaitu enzim yang setelah diproduksi, akan dikeluarkan ke lingkungan untuk mendegradasi pati menjadi unit-unit glukosa dari lingkungan sebelum diserap masuk ke dalam sel mikroba (Syukur, 1983; Suriawiria, 1985). Jika di lingkungan terdapat pati, mikroba penghasil glukoamilase akan dipacu untuk memproduksi enzim, sedangkan



jika tak ada pati hanya diproduksi dalam jumlah minimal yang sangat sedikit (Syukur, 1983). Dengan demikian, tempat-tempat pembuangan sampah yang mengandung pati melimpah, merupakan lingkungan yang akan dapat memacu mikroba penghasil glukamilase meningkatkan produksi enzimnya dan berbiak di lingkungan tersebut.

Manuhara (1993) berhasil mengisolasi mikroba sampah organik penghasil glukamilase, tetapi belum sampai tingkat identifikasi mikroba tersebut.

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi jenis mikroba sampah organik penghasil glukamilase sekaligus melengkapinya dengan hasil pengukuran aktifitas enzim, pola pertumbuhan dan kadar glukosa tertinggi yang dapat dihasilkan (untuk mengetahui persentase pati yang mampu dihidrolisis) masing-masing jenis mikroba teridentifikasi.

1.2. Rumusan Masalah

Dari latar belakang tersebut di atas, dirumuskan permasalahan sebagai berikut.

- (a) Jenis mikroba sampah organik apa sajakah yang dapat menghasilkan glukamilase?
- (b) Bagaimanakah aktifitas enzim dan pola pertumbuhan masing-masing jenis mikroba yang teridentifikasi ?
- (c) Berapakah persentase pati yang dapat diubah menjadi glukosa oleh masing-masing jenis mikroba yang teridentifikasi?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi jenis mikroba sampah organik penghasil glukamilase sekaligus mengamati aktifitas enzim, pola pertumbuhan dan persentase pati yang dapat diubah menjadi glukosa oleh masing-masing jenis mikroba teridentifikasi dalam biakan cair mengandung pati 1%.

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi upaya eksplorasi mikroba penghasil glukamilase dan eksplorasi mikroba yang berkemampuan sebagai agen pendaaurulang sampah.

BAB II

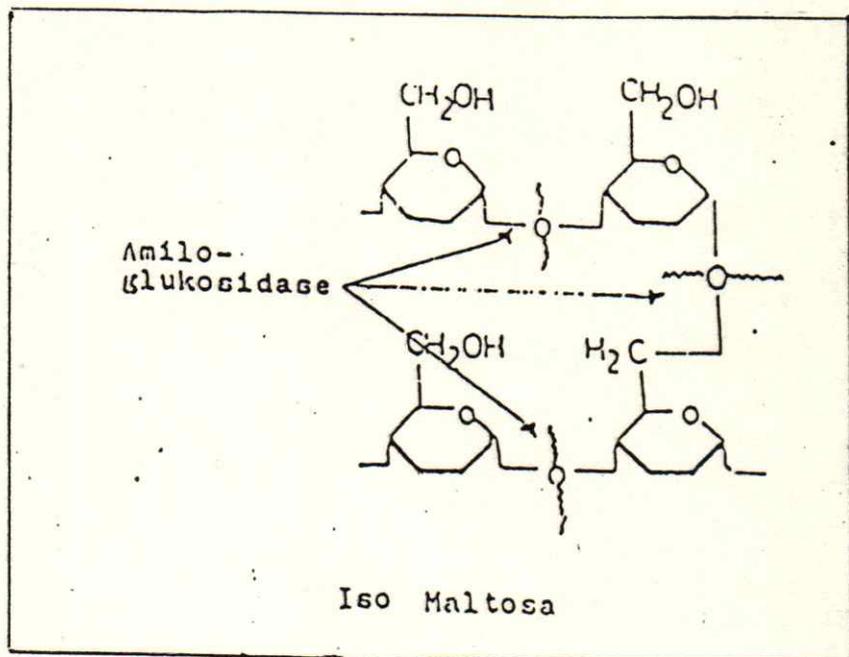
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Glukoamilase

Enzim glukoamilase yang dikenal pula sebagai α -1,4 glukon glukohidrolase (Crueger, 1984) dan amiloglukosidase (Wiseman, 1979) adalah salah satu jenis enzim amilase - enzim yang mampu menghidrolisis pati menjadi glukosa dan tergolong sebagai enzim yang mampu menghasikan gula tereduksi dalam waktu yang cepat (Wiseman, 1979). Berbeda dengan jenis amilase yang lain, glukoamilase mampu menghidrolisis pati dengan jalan memutus ikatan glikosidik α -1,4 secara berurutan dari ujung non pereduksi dan ikatan cabang α -1,6 (Syukur, 1983; Atlas, 1984; Panji, 1988). Menurut Crueger (1984), kemampuan glukoamilase memecah ikatan cabang α -1,6 lebih lambat dari kemampuannya memutus ikatan α -1,4 sehingga pada akhir hidrolisis seringkali didapatkan sedikit dekstrin pada hasil hidrolisisnya.

Dalam industri pemanis, glukoamilase biasanya digunakan setelah penggunaan amilase. Jadi setelah pati didegradasi menjadi unit-unit dekstrin, baru glukoamilase bekerja. Proses seperti ini dapat menghasilkan unit glukosa sampai 98% (Crueger, 1984).

Glukoamilase dapat diproduksi oleh berbagai jenis mikroba di antaranya adalah jamur (*Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Penicillium sp*, *Rhizopus sp*) dan ragi (*Endomyces sp*, *Endomycopsis fibuligera*, *E. capsularis*, dan *Saccharomyces diastaticus*) (Wiseman, 1979).



Gambar 1. Bagan hidrolisis pati oleh gluukoamilase (Sumber: Wiseman, Alan. 1985. *Handbook of Enzyme Biotechnology*. 2nd. ed. New York: Ellis Horwood Ltd)

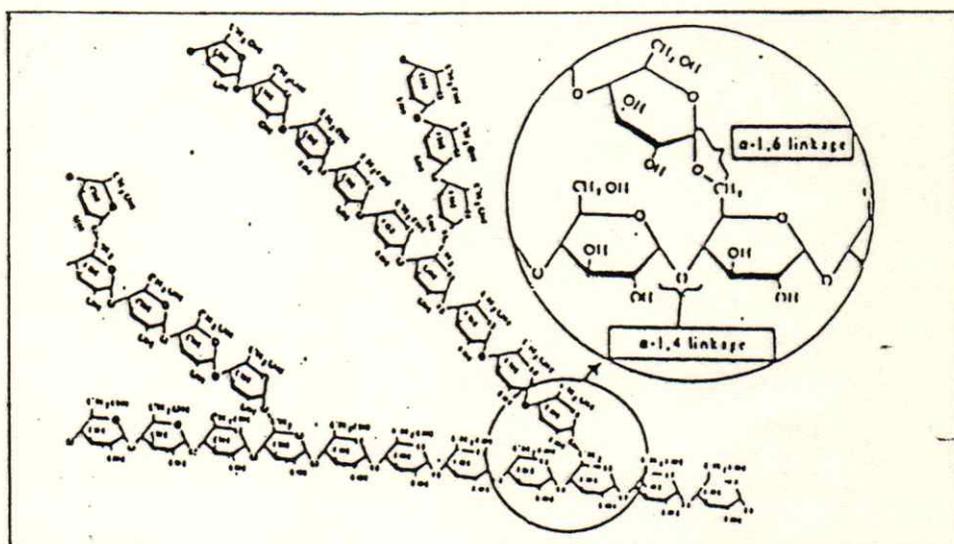
Glukoamilase digolongkan ke dalam jenis enzim ekstraselular (Wiseman, 1979; Syukur, 1983) yaitu enzim yang setelah disintesis di dalam sel dikeluarkan ke lingkungan di sekitar sel dan akan menghidrolisis pati di luar sel. Selain itu gluukoamilase hanya diproduksi jika di lingkungan sel terdapat pati, sedangkan dalam keadaan tak ada pati, diproduksi dalam jumlah minimal yang sangat sedikit (Syukur, 1983). Fowler, et al. (1990) menyatakan bahwa gen pengatur sekresi gluukoamilase pada *A. niger* hanya akan terekspresi jika di lingkungan terdapat pati. Sifat gluukoamilase yang disekresikan oleh berbagai jenis mikroba tersebut di atas ternyata sangat beragam (Takahashi, et al, 1985; Dharmsthiti, et al. 1986; Vihinen, et al. 1989). Sebagai contoh, jenis

glukoamilase yang dihasilkan oleh *Rhizopus sp.*, *A. niger*, dan ragi *Endomycopsis fibuligera* mampu mendegradasi pati kasar (*raw starch*) sedangkan glukoamilase produksi mikroba lain hanya mampu mendegradasi pati terlarut (*soluble starch*).

2.2. Dekomposisi Pati Oleh Mikroba

Pati adalah polisakarida dengan massa relatif tinggi dan tersusun atas monosakarida glukosa melalui ikatan α -glikosidik (α -1,4 dan α -1,6) (Baum, et al, 1981).

Adanya sampah organik yang banyak mengandung sisa tanaman/ sisa bahan pangan yang mengandung pati- yang mendominasi tempat-tempat pembuangan akhir di Surabaya maupun kota-kota lain di Indonesia (Hasan Purbo, 1982 dalam Purwadio, 1988)- akan merupakan sumber energi dan sumber karbon bagi pertumbuhan sel-sel baru mikroba pemanfaat pati. Dekomposisi pati di tempat-tempat pembuangan sampah di



Gambar 2. Struktur kimia zat pati (Sumber : Baum, J.S. et al. 1981. *Laboratory Exercise in Organic and Biological Chemistry*. New York : Mc. Millan Publishing Co)

Kodya Surabaya yang mempunyai suhu lingkungan lebih dari 30°C memungkinkan terpacunya mikroba pendekomposisi untuk meningkatkan aktifitas dan pertumbuhan populasinya sehingga dekomposisi berlangsung lebih cepat. Tercampurnya pati dengan bahan-bahan lain juga mendukung kecepatan dekomposisi ini (Sutedjo, 1991).

2.3. Tahapan Umum Pertumbuhan Populasi Mikroba

Menurut Timotius (1982) tahapan pertumbuhan populasi mikroba meliputi tahap permulaan, tahap logaritma, dan tahap tetap maksimum.

2.3.1. Tahap permulaan

Pada tahap permulaan kecepatan pertumbuhan sama dengan nol atau lebih dari nol tapi belum mencapai maksimum. Kecepatan pertumbuhan dimulai dari nol kemudian meningkat mendekati maksimum. Tahap ini merupakan gejala adaptasi terhadap lingkungan yang baru di mana sel memerlukan bahan-bahan penting, enzim-enzim yang perlu disintesis kembali. Seringkali tidak ditemukan tahap permulaan jika inokulum (bibit/*starter*) berasal dari biakan yang sel-selnya masih aktif membelah (tahap logaritma) sehingga dapat langsung masuk ke tahap logaritma.

2.3.2. Tahap logaritma

Tahap logaritma dimulai jika kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Massa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial dengan waktu generasinya sebagai konstanta.

Selama tahap ini biakan dalam keadaan paling homogen dengan sel-sel semua tumbuh pada kecepatan dan interval sama. Pertumbuhan sel pada tahap logaritma sering disebut sebagai pertumbuhan eksponensial.

2.3.3. Tahap tetap maksimum

Tahap tetap maksimum terjadi setelah tahap logaritma, kecepatan pertumbuhan populasi mikroba pada tahap ini berangsur-angsur turun dan akhirnya saat memasuki tahap ini kecepatan pertumbuhannya sama dengan nol. Adanya tahap tetap maksimum disebabkan antara lain karena kekurangan nutrisi, akumulasi hasil-hasil metabolisme akhir dan lain-lain. Jika disebabkan kekurangan nutrisi, jumlah sel total (sel yang hidup dan yang mati) tetap, sedang jika disebabkan oleh akumulasi hasil metabolisme yang menghambat pertumbuhan, maka jumlah mikroba akan bertambah banyak.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Airlangga, dan dilakukan pada bulan Juli sampai Agustus 1993.

3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian berupa sampah yang diambil dari tempat pembuangan akhir kecamatan Sukolilo Kodya Surabaya.

3.3. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Agar Bacto, media *Malt Extract* (cair dan padat), ekstrak ragi (*yeast extract*), gula-gula untuk uji fisiologi (glukosa, maltosa, galaktosa dan sukrosa), akuades, pati terlarut (*soluble starch*), reagen Somogyii I, reagen Somogyii II, reagen Nelson, akuademineral, larutan fisiologis NaCl 0,85%, larutan iodine (Lugol).

Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, mikropipet, makropipet, jarum ose, pembakar spiritus, penangas air, gelas beker, labu erlenmeyer, penjepit kayu, kaca obyektif dan penutup, mikroskop cahaya, *Vernier microscope* OSK 4685, spektrofotometer Hitachi 150-20, sentrifus, inkubator dan *shaker*.

3.4. Urutan Kerja Penelitian

3.4.1. Isolasi mikroba penghasil glukoamilase

Isolasi mikroba penghasil glukoamilase dilakukan dengan media differensial pati 1% (1% pati dan 0,5% ekstrak ragi dalam agar 5%). Adapun urutan proses isolasi adalah sebagai berikut:

- (a) dibuat suspensi sampah dalam larutan NaCl 0,85% (0,85 g/100 ml larutan);
- (b) suspensi sampah dibiakkan dalam cawan petri berisi media diferensial pati 1%, pada suhu inkubasi 32⁰C dan waktu inkubasi 24 jam;
- (c) diamati morfologi koloni yang tumbuh, koloni yang sama ditandai dengan spidol di bagian bawah cawan petri;
- (d) dituangkan larutan Lugol ke dalam biakan. Koloni mikroba penghasil glukoamilase akan dikelilingi area jernih di sekitar koloni, karena gula hasil hidrolisis pati oleh glukoamilase yang diproduksi ke sekitar koloni tidak dapat bereaksi dengan larutan Lugol. Sedangkan area media yang belum terhidrolisis akan berwarna biru-hitam. Batas area jernih ditandai dan diukur diameternya dengan *Vernier microscope* yang berskala $\frac{1}{2}$ milimeter dengan ketelitian sampai 0,005 mm, dan
- (e) mikroba penghasil glukoamilase (dipilih 9 koloni dengan ukuran diameter area jernih terbesar) dipindahkan ke media agar pati miring untuk keperluan identifikasi.

3.4.2. Identifikasi Jenis Mikroba

Identifikasi jenis mikroba dilakukan dengan berpedoman pada buku *The Yeast: A Taxonomic Study* (Kreger-van Rij, 1984) edisi ke-3 yang meliputi pengamatan makroskopis (morfologi koloni) dari biakan mikroba dalam media cair dan padat *Malt Extract* yang diinkubasi pada 25°C selama 3 (tiga) hari, pengamatan mikroskopis (morfologi sel vegetatif) dan uji fisiologi (kemampuan memfermentasi jenis gula-gula tertentu).

3.4.3. Produksi Glukoamilase

Produksi glukoamilase dengan fermentasi cair (dalam media cair pati 1%) pada erlenmeyer 1000 ml dengan volume produksi 250 ml dengan 3% inokulum (persentase inokulum ditentukan berdasar pustaka *Biotechnology, a Textbook of Industrial Microbiology* oleh Cruieger, 1984). Proses produksi dilakukan selama 48 jam. Biakan dikocok pada shaker pada suhu 32°C.

3.4.4. Pengambilan sampel dan perlakuan terhadap sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara aseptis dengan interval rata-rata 5 jam. Sampel disentrifugasi pada 2000 rpm. Pengukuran serapan cahaya untuk menentukan jumlah mikroba dilakukan terhadap endapan mikroba yang dilarutkan pada larutan fisiologis sampai volume semula untuk meniadakan pengaruh warna media terhadap hasil pengukuran serapan cahaya, sedangkan pengukuran aktifitas enzim dilakukan terhadap supernatan yang mengandung glukoamilase.

3.4.5. Pembuatan kurva pertumbuhan mikroba

Pembuatan kurva pertumbuhan masing-masing jenis mikroba teridentifikasi berdasar atas data jumlah mikroba.

Penentuan jumlah mikroba dilakukan dengan jalan mengkonversikan hasil pengukuran serapan cahaya sampel biakan pada $\lambda=660$ nm pada kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba.

3.4.6. Penentuan aktifitas enzim

Penentuan aktifitas enzim dilakukan dengan uji gula tereduksi metode Somogyii-Nelson terhadap supernatan sampel sesuai dengan cara kerja yang dilakukan Manuhara (dalam *Isolasi dan Identifikasi Aktifitas Enzim Glukoamilase Mikroba Sampah Organik*, 1993).

Sedangkan penghitungan aktifitas enzim berdasar rumus :

$$A.E. = \frac{f_s \times A \times K \times f_0}{t} \cdot 10^3$$

dengan A.E. = aktifitas enzim (dalam unit)

f_s = faktor pengenceran sampel

A = serapan cahaya terukur pada $\lambda=520$ nm

K = kadar glukosa pada serapan cahaya=1 (diperoleh dari kurva baku hubungan antara serapan cahaya terukur dengan kadar glukosa)

f_0 = faktor pengenceran ekstrak enzim sampel

10^{-3} = perubahan harga kadar glukosa terukur

t = waktu pengujian.

3.4.7. Penentuan kadar glukosa tertinggi

Kadar glukosa tertinggi ditentukan berdasar serapan cahaya tertinggi masing-masing sampel (saat pengukuran aktifitas enzim) yang dikonversikan pada persamaan kurva baku hubungan serapan cahaya dengan kadar glukosa.

3.5. Analisis Data

Analisis data penelitian dilakukan terhadap data aktifitas enzim dan pertumbuhan mikroba untuk mengetahui saat tahap pertumbuhan apa glukamilase diproduksi optimum dan terhadap kadar glukosa maksimum untuk mengetahui persentase pati yang dapat diubah menjadi glukosa.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Identifikasi Jenis Mikroba

Hasil identifikasi jenis mikroba menunjukkan bahwa dalam sampel sampah organik yang diteliti ditemukan 2 (dua) jenis mikroba penghasil glukoamilase dari golongan yeast (ragi/khamir) yaitu *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera*.

Saccharomyces diastaticus adalah khamir yang jika dibiakkan dalam media cair malt extract (dinkubasi 3 hari pada 25^o C) sel-selnya berbentuk sferis, oval, silindris atau elongatus, membentuk tunas (*bud*) multilateral, tak nampak adanya pseudomiselia. Sel-sel ini dalam pengamatan di bawah mikroskop dapat berupa sel tunggal, rangkaian sel (berpasangan atau membentuk rantai pendek) atau kelompokan sel (*cluster*). Koloni yang tumbuh pada media malt extract agar berbutir, buram, berwarna krem sampai kecoklatan, permukaan koloni tak rata (menonjol) dan disertai adanya celah-celah diametrikal yang jelas.

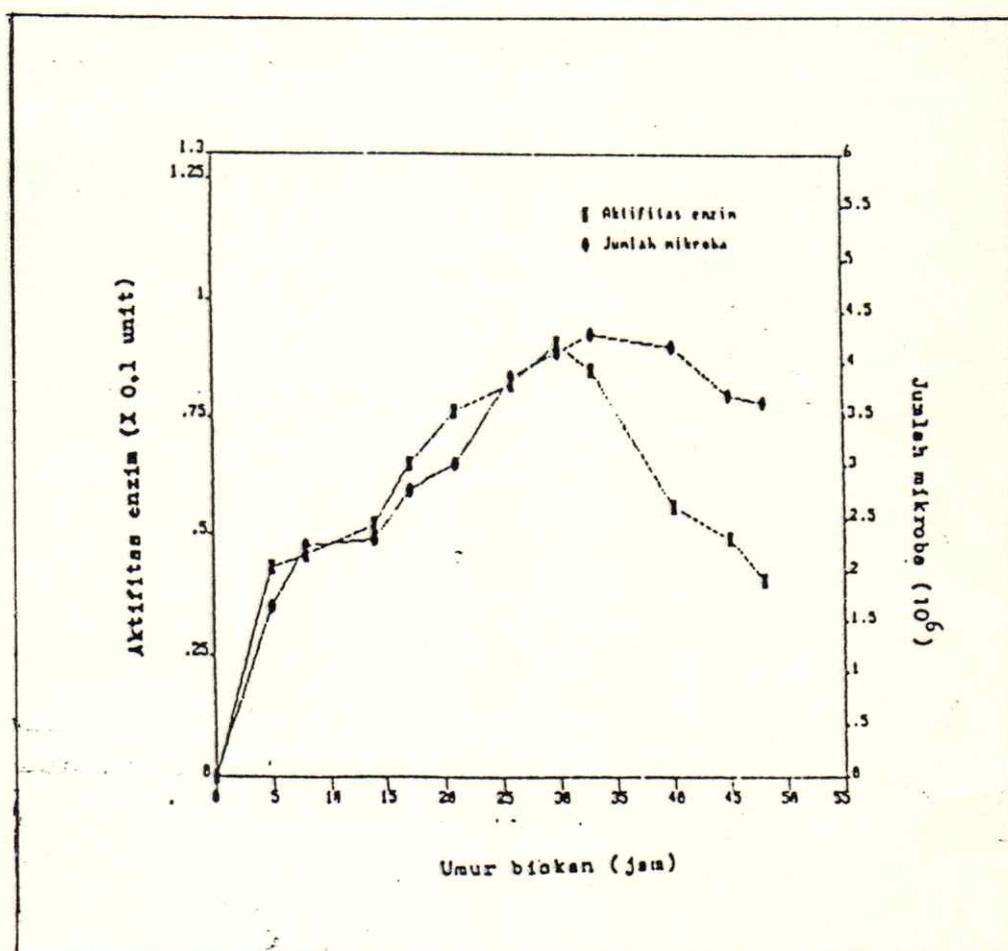
Hasil uji fisiologis menunjukkan bahwa *S. diastaticus* mampu memfermentasi galaktosa, sukrosa, maltosa dan glukosa, tetapi tak mampu memfermentasi laktosa.

Sedangkan *Endomycopsis fibuligera*, merupakan yeast yang sel-selnya dapat membentuk tunas yang bentuknya beragam dan dalam pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya pseudomiselia yang berlimpah. Dalam uji fisiologis, yeast ini tak mampu memfermentasi galaktosa dan laktosa.

4.2. Aktifitas Enzim, Pola Pertumbuhan dan Kadar Glukosa Maksimum Yang Dapat Dihasilkan Masing-Masing Jenis Mikroba Teridentifikasi

4.2.1. *Saccharomyces diastaticus*

Hasil penentuan aktifitas enzim dan jumlah populasi dari sampel biakan *S. diastaticus* dalam media cair pati 1% (data pada lampiran 1 dan lampiran 2) dituangkan dalam grafik sebagai berikut (Gambar 3.).



Gambar 3. Pertumbuhan populasi dan aktifitas enzim glukamilase *Saccharomyces diastaticus*.

15

Dari Gambar 3. nampak bahwa aktifitas enzim glukoamilase yang dihasilkan oleh *S. diastaticus* dalam media cair pati 1% meningkat terus mulai umur biakan 0 jam sampai mencapai maksimum pada umur biakan 14 jam (1,1474 unit), dan setelah itu menunjukkan adanya penurunan.

Sedangkan jumlah populasi di dalam biakan meningkat terus mulai umur biakan 0 jam dan mencapai maksimum pada umur biakan 17 jam ($1,49 \cdot 10^6$ /ml biakan). Dalam kurun waktu umur biakan 0-17 jam, populasi *S. diastaticus* berada dalam tahap logaritma-tahap di mana kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Selama tahap ini, biakan ada dalam keadaan paling homogen dengan sel-sel semua tumbuh pada kecepatan dan interval yang sama (Timotius, 1982). Setelah 17 jam, jumlah populasi mulai menurun perlahan (ada dalam tahap tetap maksimum) dan kemudian menurun drastis setelah umur biakan 40 jam.

Dari dua grafik pada Gambar 3. tersebut nampak bahwa aktifitas enzim terus menunjukkan peningkatan saat jumlah populasi *S. diastaticus* menunjukkan peningkatan pula, dan aktifitas enzim mencapai maksimal saat populasi *S. diastaticus* berada pada akhir tahap logaritma (sebelum memasuki tahap tetap maksimum).

Hal tersebut di atas dimungkinkan terjadi karena keberadaan pati yang melimpah dalam media saat umur biakan 0 jam akan memacu sel-sel *S. diastaticus* untuk menghasilkan glukoamilase, sehingga aktifitas enzimnya meningkat setelah jam ke-0. Dengan disekresikannya glukoamilase lebih banyak ke media akan menyebabkan peningkatan hidrolisis pati dalam

media menjadi glukosa. Glukosa ini kemudian dimanfaatkan oleh *S. diastaticus* untuk meningkatkan jumlah populasinya. Jumlah populasi menurun (pada umur biakan 17 jam) segera setelah aktifitas enzim menurun (saat umur biakan 14 jam).

Dalam penelitian ini tidak diperoleh data pasti apakah penurunan aktifitas enzim yang segera diikuti oleh penurunan jumlah populasi masuk ke dalam tahap tetap maksimum tersebut disebabkan oleh kekurangan nutrien atau oleh penimbunan hasil metabolisme. Tetapi jika diamati dari data jumlah populasinya—yang diperoleh dari penentuan jumlah sel hidup, bukan jumlah sel total—yang cenderung tidak menurun drastis, besar kemungkinan bahwa keadaan tersebut disebabkan oleh berkurangnya nutrien (dalam hal ini pati) di dalam media. Kemungkinan ini diperkuat pula oleh perlakuan selama penelitian berlangsung yaitu bahwa selama produksi enzim tidak dilakukan penambahan media baru ke dalam biakan produksi.

Sedangkan jumlah glukosa maksimum yang dapat dihasilkan oleh hidrolisis glukoamilase produk *S. diastaticus* saat aktifitas enzim maksimum adalah sebesar 0,1108 g/100 ml biakan. Dengan demikian pati yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh *S. diastaticus* adalah $\frac{0,1108}{1} \times 100\% = 11,08\%$. Persentase ini masih sangat jauh lebih kecil dibanding data kadar glukosa hasil hidrolisis pati dalam industri (dapat menghasilkan 90–97% glukosa) seperti yang dikemukakan oleh Crueger (1982) dan Panji (1988).

4.2.2. *Endomycopsis fibuligera*

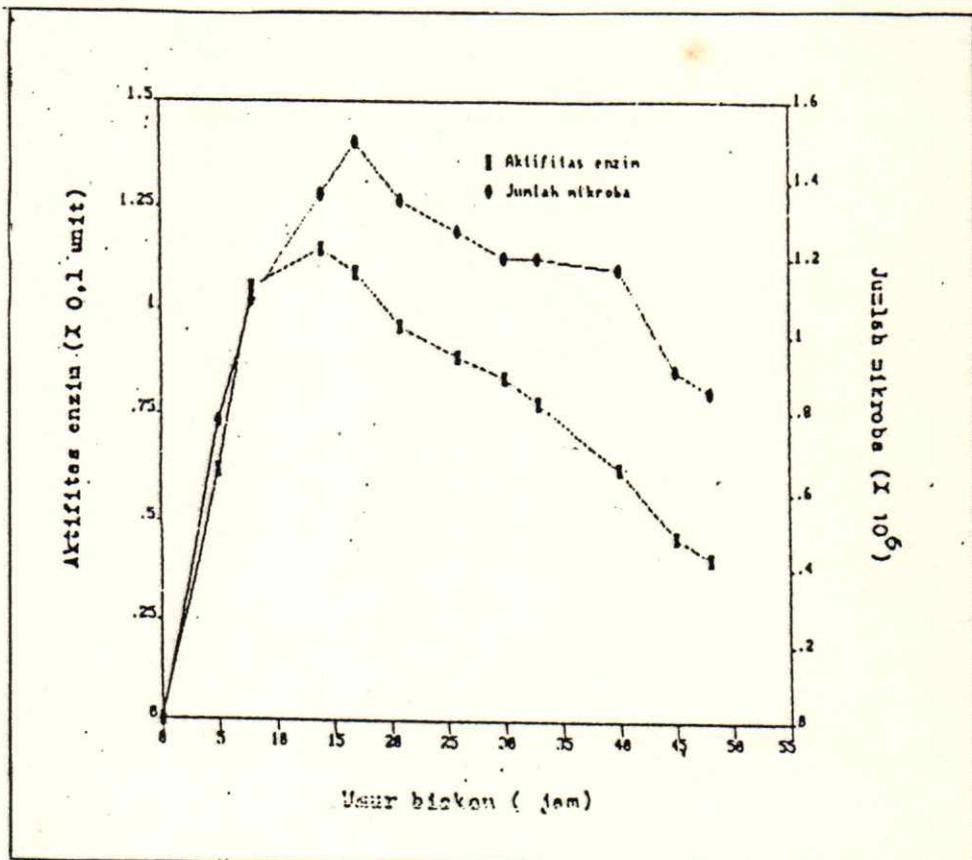
Hasil penentuan aktifitas enzim dan jumlah populasi dari sampel biakan *E. fibuligera* dalam media cair pati 1% (data pada lampiran 1 dan lampiran 2) dituangkan dalam grafik (Gambar 4.).

Dari gambar tersebut nampak bahwa aktifitas enzim meningkat terus mulai umur biakan 0 jam sampai mencapai maksimum pada umur biakan 30 jam (0,9110 unit) dan kemudian menurun.

Jika diamati pula grafik jumlah populasi mikroba yang juga mengalami peningkatan mulai umur biakan 0 jam dan mencapai maksimum pada umur biakan 33 jam ($4,29 \cdot 10^6$), nampak bahwa hubungan antara aktifitas enzim dan pertumbuhan populasi *E. fibuligera* dalam media cair pati 1% serupa dengan pola yang diperlihatkan *S. diastaticus* dalam jenis media yang sama, hanya waktu pencapaian aktifitas gluukoamilase maksimum jauh lebih lambat dari waktu yang diperlukan oleh *S. diastaticus* (terpaut 16 jam).

Dibanding dengan persentase pati yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh *S. diastaticus*, persen pati yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh gluukoamilase dari *E. fibuligera* lebih rendah yaitu 9,25% (kadar glukosa maksimum yang dihasilkan saat aktifitas enzimnya maksimum adalah 0,0925 g/100 ml biakan).

Persen pati yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa bergantung pada besarnya aktifitas enzim. Jika aktifitas enzim tinggi, persen pati yang dihidrolisis menjadi glukosa akan tinggi pula. Jika dugaan penurunan aktifitas enzim yang



Gambar 4. Pertumbuhan populasi dan aktifitas enzim glukamilase *Endomycopsis fibuligera*

diikuti dengan menurunnya jumlah populasi mikroba benar disebabkan oleh terbatasnya nutrisi (pati) dalam media, perlu dikaji besarnya kadar pati dalam media yang digunakan untuk produksi enzim ini agar proses produksi enzim optimum, dan dengan demikian dapat diperoleh persentase hidrolisis pati yang maksimum.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

- (1) Pada sampah organik dari tempat pembuangan akhir Sukolilo, Surabaya ditemukan mikroba penghasil glukoamilase jenis *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera*.
- (2) Aktifitas enzim glukoamilase yang diproduksi oleh *S. diastaticus* dan *E. fibuligera* dipengaruhi oleh jumlah populasinya.
- (3) Dalam media cair pati 1%, aktifitas enzim glukoamilase maksimum dicapai produk *S. diastaticus* pada umur biakan 14 jam dan produk *E. fibuligera* pada umur biakan 30 jam.
- (4) Persentase hidrolisis pati menjadi glukosa pada medium cair pati 1% oleh glukoamilase produk *S. diastaticus* adalah 11,08% dan produk *E. fibuligera* adalah 9,25%.

5.2. Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan agar efektifitas pemanfaatan *S. diastaticus* dan *E. fibuligera* sebagai agen pendaaur ulang sampah harus diteliti lebih lanjut mengingat kemampuan hidrolisisnya yang sangat rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. 1984. *Microbiology, Fundamentals and Applications*. 2nd ed. New York : Mc. Millan Publishing Co.
- Baum, J.S. et al. 1981. *Laboratory Exercise in Organic and Biological Chemistry*. New York : Mc. Millan Publishing Co.
- Crueger, Wulf and Anneliese. 1984. *Biotechnology, A Textbook of Industrial Microbiology*. Sunderland : Sinaeur Associates Inc.
- Dharmsthiti, S.C., et al. 1986. *Production of Glucoamylase from Aspergillus niger*. Microbial Utilization of Renewable Resources. vo. 4. Japan. pp. 107-113.
- Fowler, T, et al. 1990. *Regulation of glaA Gene of Aspergillus niger*. Curr-Genet. Dec ed. 18(6).
- Kreger - van Rij, NJW. 1984. *The Yeast : A Taxonomic Study*. 3rd ed. Amsterdam : Ilsevier Science Publishing Co.
- Kuswanto, Kapti Rahayu. 1988. *Isolasi dan Pengujian Aktifitas Enzim*. Yogyakarta : PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Manuhara, JSW. 1993. *Isolasi dan Identifikasi Aktifitas Enzim Glukoamilase Mikroba Sampah Organik*. Surabaya : Lemlit Unair.
- Panji, C. 1988. *Penuntun Praktikum Bioindustri*. Bogor : PAU IPB - Lembaga Sumberdaya Informasi Institut Pertanian Bogor.

- Purwadio, H. 1988. *Pengaruh Tempat Pembuangan Akhir Sukolilo Terhadap Phisik Lingkungan Sekitarnya*. Pusat Penelitian Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Sardjoko. 1991. *Bioteknologi, Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Suriawiria, U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung : Penerbit Angkasa.
- Sutedjo, MM, dkk. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Syukur, S. 1983. *Studi Pendahuluan Biokonversi Pati Menjadi Glukosa Secara Sel Amobil*. Bandung : Tesis Fak. Pasca Sarjana Institut Teknologi Bandung.
- Takahashi, T. et al. 1985. *Different Behavior Towards Raw Starch of Three Forms of Glucoamylase from Rhizopus sp*. Journal of Biochemistry. Sep. ed. Japan.
- Timotius, K.H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Salatiga : Universitas Kristen Satya Wacana.
- Wiseman, Alan. 1979. *Topics in Enzyme and Fermentation Biotechnology*. vol 3. New York : Ellis Horwood Ltd.
- Wiseman, Alan. 1985. *Handbook of Enzyme Biotechnology*. 2nd ed. New York : Ellis Horwood Ltd.
- Vihinen, M. et al. 1989. *Microbial Amylolytic Enzymes*. Crit - Rev - Biochem - Mol - Biol. 24 (4). pp. 329-418.



L A M P I R A N

Lampiran 1

Data hasil penentuan aktifitas enzim glukoamilase produk *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera*.

Aktifitas enzim ditentukan berdasar rumus

$$A.E. = \frac{f_s \times A \times K \times f_o}{t} \cdot 10^{-3}$$

dengan $f_s = 10$

A = nilai hasil pengukuran serapan cahaya

$K = 91,53$

$f_o = 1$

$t = 10$ menit

dengan hasil sebagai tabel berikut

| Umur biakan | Aktifitas Enzim (unit) | |
|-------------|------------------------------|-----------------------------|
| | produk <i>S. diastaticus</i> | produk <i>E. fibuligera</i> |
| 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0,6221 | 0,4314 |
| 8 | 1,0533 | 0,4591 |
| 14 | 1,1474 | 0,5223 |
| 17 | 1,0912 | 0,6515 |
| 21 | 0,9611 | 0,7662 |
| 26 | 0,8870 | 0,8231 |
| 30 | 0,8350 | 0,9110 |
| 33 | 0,7712 | 0,8513 |
| 40 | 0,6232 | 0,5672 |
| 45 | 0,4553 | 0,5015 |
| 48 | 0,4002 | 0,4123 |

Lampiran 2

Data jumlah populasi *Saccharomyces diastaticus* dan *Endomycopsis fibuligera* (ditentukan berdasar konversi serapan cahaya sampel terukur pada $\lambda = 660$ nm terhadap kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah mikroba)

| Umur biakan | Jumlah populasi (10^6)/ml biakan | |
|-------------|--------------------------------------|----------------------|
| | <i>S. diastaticus</i> | <i>E. fibuligera</i> |
| 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0,78 | 1,60 |
| 8 | 1,09 | 2,21 |
| 14 | 1,39 | 2,27 |
| 17 | 1,49 | 2,76 |
| 21 | 1,35 | 3,00 |
| 26 | 1,27 | 3,87 |
| 30 | 1,20 | 4,12 |
| 33 | 1,19 | 4,29 |
| 40 | 1,17 | 4,17 |
| 45 | 0,91 | 3,68 |
| 48 | 0,85 | 3,62 |

Lampiran 3

Kurva baku hubungan serapan cahaya dengan kadar glukosa, memenuhi persamaan $y = 93,11x - 1,58$, dengan x adalah serapan cahaya terukur pada $\lambda = 520$ nm dan y adalah kadar glukosa ($\mu\text{g/ml}$)

Lampiran 4

Kurva baku hubungan serapan cahaya dengan jumlah sel.

Untuk *Saccharomyces diastaticus*, memenuhi persamaan

$$y = (1983x - 0,4913) 10^5$$

dan untuk *Endomycopsis fibuligera*, memenuhi persamaan

$$y = (1812x - 2,734) 10^5$$

dengan y adalah jumlah sel/ml biakan dan x adalah serapan cahaya terukur pada $\lambda = 660 \text{ nm}$.