

ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS BAKTERI PROTEOLITIK UNTUK BIOREMEDIASI LIMBAH INDUSTRI AMPAS TAHU DI KOTA MAKASSAR

Isolation and pathogenicity test of proteolytic bacteria for bioremediation of tofu dregs industrial waste in Makassar city

Febi Pratiwi¹

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden: febipratiwi2016@poltekkes-mks.ac.id, 082225533954

ABSTRACT

Tofu dregs are natural ingredients that contain high levels of protein. Tofu industrial waste on the environment if discharged directly into the waters can cause a pungent odor, pollute the water, and disturb the aquatic ecology which causes the death of fish and other biota. Proteolytic bacteria for waste treatment can be found in various sources that contain high protein such as in tofu industrial waste water, so bioremediation is carried out which is the use of microorganism that have been selected to grow on certain pollutants as an effort to reduce these pollutant levels. The purpose of this study was to isolate proteolytic bacteria from tofu industrial waste and to carry out pathogenicity tests so that they can be used as bioremediation agents. The test conducted in this study was a test for producing protease enzymes using skim agar milk media. The results of the study were the formation of clear zones on the agar skim milk medium, indicating proteolytic bacteria that have the potential to be used in bioremediation process of tofu dregs waste.

Keywords: *Proteolytic Bacteria, Bioremediation, Tofu Waste*

ABSTRAK

Ampas tahu adalah salah satu bahan alami yang mengandung protein cukup tinggi. Limbah industri tahu pada lingkungan jika dibuang langsung ke perairan dapat menyebabkan bau yang menyengat, polusi pada air, dan mengganggu ekologi perairan yang menyebabkan kematian ikan dan biota lainnya. Bakteri proteolitik untuk penanganan limbah dapat ditemukan di berbagai sumber yang mengandung protein tinggi seperti pada limbah cair industri tahu, sehingga dilakukan bioremediasi yang merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya menurunkan kadar polutan tersebut. Tujuan penelitian ini mengisolasi bakteri proteolitik dari limbah industri tahu dan melakukan uji patogenitas sehingga dapat digunakan sebagai agen bioremediasi, uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji penghasil enzim protease dengan menggunakan media susu skim agar. Hasil penelitian adalah terbentuknya zona bening pada media susu skim agar hal ini menunjukkan bakteri proteolitik yang berpotensi untuk digunakan dalam proses bioremediasi limbah ampas tahu.

Kata Kunci: Bakteri Proteolitik, Bioremediasi, Limbah Ampas Tahu

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara yang masyarakatnya sering mengkonsumsi tahu, sehingga banyak industri yang terdapat disetiap daerah. Proses pembuatan tahu masih menggunakan teknologi sederhana

dan menghasilkan limbah. Limbah yang dihasilkan dalam proses pembuatan tahu berupa limbah padat dan cair. Limbah tersebut biasanya tidak dikelola sehingga mencemari lingkungan (Lestari, 2016).

Kegiatan industri tahu biasanya dilakukan oleh usaha skala kecil dengan

modal terbatas, sehingga tidak memiliki unit pengolahan limbah. Limbah padat biasanya langsung dibuang ke saluran-saluran pembuangan, selokan atau badan air tanpa pengolahan terlebih dahulu. Limbah padat tahu mengandung zat organik yang menyebabkan pertumbuhan mikroba dalam air. Hal tersebut akan mengakibatkan kadar oksigen dalam air turun. Limbah industri tahu juga mengakibatkan air kotor atau keruh (Handayani, 2018).

Dampak limbah padat industri tahu pada lingkungan jika dibuang langsung ke perairan dapat menyebabkan bau yang menyengat, dan polusi lingkungan perairan sehingga mengganggu ekologi perairan yang menyebabkan kematian ikan dan biota lainnya. Upaya mengatasi permasalahan pembuangan limbah yang mengganggu lingkungan dan kesehatan, yaitu metode dengan mikroorganisme seperti proteolitik yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi bahan organik (Nugraha, 2011).

Bakteri proteolitik untuk penanganan limbah dapat ditemukan di dalam berbagai sumber yang mengandung protein tinggi seperti pada limbah cair industri tahu (Fong dan Tan, 2000). Bakteri proteolitik dapat digunakan sebagai agen bioremediasi. Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya menurunkan kadar polutan tersebut (Bambang Priadie, 2012).

Seleksi patogenitas bakteri dapat dilakukan dengan media *MacConkey* dan *Blood Agar Plate (BAP)*, seleksi bakteri proteolitik juga dapat dilakukan dengan metode yang sudah ada pada media *Skim Milk Agar (SMA)*.

Penelitian yang sebelumnya pernah dilaporkan oleh (Sabrina & Ethica, 2018) menyimpulkan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media SMA merupakan bakteri proteolitik. Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler. Penelitian ini penting dilakukan untuk mengurangi limbah organik tahu industri pembuatan tahu (Arifiani & Ethica, 2018).

METODE PENELITIAN

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif observatif. Dengan dilakukan pemeriksaan

laboratorium untuk mengetahui uji patogenitas bakteri proteolitik terhadap limbah industri ampas tahu di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Kemenkes Makassar pada Januari 2023.

Populasi, sampel, Besar sampel dan teknik pengambilan sampel

Populasi pada penelitian ini adalah industri-industri tahu yang berada di kota Makassar.

Sampel pada penelitian ini adalah limbah industri ampas tahu di kota Makassar.

Penentuan besar sampel pada penelitian ini yaitu dengan cara sampling jenuh karena jumlahnya 4 sampel.

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah secara sampling jenuh yaitu penentuan sampel yang menjadikan semua anggota populasi sebagai sampel.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate bakteri yang berasal dari limbah cair industri tahu, media yang digunakan yaitu, *Nutrient Agar (NA)*, *Blood Agar Plate (BAP)*, *MacConkey Agar (MCA)*, *NaCl fisiologis*, *Skim Milk Agar (SMA)* (Sigma Aldrich, USA), dan aquadest steril (Arifiani & Ethica, 2018).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, autoclave, microwave, incubator, cawan petri, tabung reaksi, pipet ukur, ose, lampu bunsen, mikro pipet, yellow tip, blue tip, dan dirgal sky (Arifiani & Ethica, 2018).

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di laboratorium kesehatan makassar pada bulan Januari 2023, dengan melakukan isolasi bakteri pada ampas tahu hasil proses pembuatan tahu didapatkan isolate bakteri dengan melakukan dua uji penghasil protease dan uji patogenitas.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer. Data primer merupakan materi atau kumpulan fakta yang dikumpulkan oleh peneliti pada saat penelitian berlangsung.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan kita dapat melihat pada tabel 4.1 menunjukkan gambaran umum koloni bakteri yang diisolasi dari sampel ampas tahu, keempat isolat bakteri yang berhasil diisolasi memiliki bentuk bulat, warna putih keruh, tepi rata dan elevasi yang berbeda. Pada koloni bakteri dari sampel 1 dan 4

memiliki permukaan cembung sedangkan pada koloni sampel dari sampel 2 dan 3 memiliki permukaan rata. Untuk konsistensi semua bakteri yang diisolasi tekstur kering dan memiliki bau khas ampas tahu yang sudah basi.

Hasil isolat bakteri pada ampas tahu berdasarkan karakteristik koloni isolat bakteri pada pewarnaan gram dapat dikelompokkan seperti dapat dilihat pada tabel 4.2.

Hasil pewarnaan gram bakteri yang diisolasi dari ampas tahu pada tabel 4.2 menunjukkan bakteri yang ditemukan pada isolat bakteri pada sampel ampas tahu diidentifikasi karakteristik koloni sampel 1 Coccus gram positif, sampel 2 Coccobasil gram negatif, sampel 3 Coccus gram positif, dan sampel 4 Coccobasil gram negatif.

Pada tabel 4.3 menunjukkan hasil pertumbuhan bakteri dari pengenceran sampel ampas tahu pada media NA (*Nutrient Agar*), dimana semua isolat ampas tahu yang ditanam menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Pertumbuhan bakteri pada media SKM (Skim Milk Agar) dapat dilihat pada gambar 4.1 menunjukkan kemampuan isolat bakteri dari sampel 1 menghasilkan zona bening protease di sekitar koloni bakteri. Sedangkan isolat bakteri dari sampel 2,3,4 tidak terdapat zona bening pada media.

Pada penanaman dengan media MC (MacConkey) menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada media BAP (Blood Agar Plate) dapat dilihat pada gambar 4.2 dari isolat sampel 1, didapatkan koloni berwarna putih abu bentuk bulat cembung dengan ukuran sedang, gamma hemolisa yang berarti sel darah tidak mengalami lisis. Isolat bakteri dari sampel 2,3 dan 4 tidak dilanjutkan penanamannya pada media BAP dan MCA, karena koloni bakteri dari sampel tersebut tidak menghasilkan zona bening protease pada media SKM (Skim Milk Agar).

PEMBAHASAN

Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler, yaitu enzim pemecah protein

yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel. Semua bakteri mempunyai enzim protease didalam sel, tetapi tidak semua mempunyai enzim protease ekstraseluler. Protease merupakan salah satu enzim yang paling banyak digunakan dalam industri dan telah banyak di komersikan. protease yang digunakan dalam industri biasanya dimanfaatkan untuk memecah protein daging pada pengolahan sosis kering, menghasilkan peptide bioaktif, serta dapat meningkatkan sifat-sifat organoleptik produk olahan (Purnomo, 2012). Keuntungan lain dari protease asal mikroba adalah produksi yang lebih menguntungkan bagi lingkungan karena sangat sedikit menghasilkan limbah yang bahkan dapat dimanfaatkan kembali menjadi kompos (Hamza, 2017).

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri menjadi 2 yaitu bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Pada pewarnaan gram, hasil yang didapat akan ditentukan dari komposisi dinding sel pada bakteri. Pada pewarnaan gram ini reagen yang digunakan ada 4 jenis, yaitu kristal violet, lugol, etanol, dan safranin (Maristiasa et al., 2019). Hasil dari pewarnaan gram bakteri yang diisolasi dari ampas tahu yang tumbuh pada media NA pada pembesaran 100 kali untuk sampel 1 dan 3 menunjukkan bakteri coccus gram positif dimana bakteri berwarna ungu dan berbentuk bulat bergerombol seperti buah anggur, sedangkan pada sampel 2 dan 4 menunjukkan bakteri coccobasil gram negatif dimana bakteri berwarna merah berbentuk batang pendek.

Pada media SMA (Skim Milk Agar) terlihat pertumbuhan koloni bakteri dari sampel 1 mampu menghasilkan zona bening protease di sekitar koloni bakteri. Terbentuknya zona bening protease ini membuktikan bahwa pertumbuhan koloni bakteri pada sampel 1 yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan penghasil enzim protease.

Susu skim mengandung kasein yang disertakan dalam medium pertumbuhan bakteri berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperhatikan aktivitas hidrolitik protease. Protease mengkatalisis degradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptide

CO-NH dengan masuknya air dengan molekul. Reaksi tersebut melepaskan asam amino. Susu skim tersuspensi dalam medium setelah di inokulasi dan inkubasi kultur plate agar, bakteri mensekresikan protease. Hal ini diperlihatkan dengan adanya daerah bening di sekeliling pertumbuhan bakteri. Luasnya daerah bening disekeliling pertumbuhan bakteri tidak mewakili jumlah protease yang dihasilkan akan bertambah dengan bertambahnya waktu inkubasi (Winahyu, 2019).

Pada media MC (MacConkey) menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri karena pada umumnya media MC (MacConkey) adalah media selektif untuk bakteri golongan gram negative dengan menghambat pertumbuhan bakteri golongan positif, juga untuk mengisolasi bakteri batang gram negative berdasarkan kemampuan bakteri memfermentasi laktosa atau tidak. Media MC (MacConkey) digunakan terutama untuk famili enterobacteriaceae dan genus pseudomonas. Media MC (MacConkey) bisa dikatakan sebagai media uji penguat dimana media ini mengandung laktosa, kristal violet dan neutral red bile salt yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Hal ini menyebabkan tidak semua bakteri dapat tumbuh dengan baik sehingga media ini dapat digunakan secara khusus untuk mengidentifikasi bakteri gram negatif (Sari et al., 2019).

Pada media BAP (Blood Agar Plate) dapat terlihat bahwa koloni tumbuh berwarna putih abu bentuk bulat cembung dengan ukuran sedang dengan gamma hemolisa yang berarti sel darah tidak mengalami lisis hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu melisis darah (y-hemolisis). Hemolisin merupakan toksin yang dikeluarkan oleh bakteri dengan membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni (Rahmi et al. 2015). aktivitas hemolisin suatu bakteri memiliki hubungan korelasi terhadap pembentukan faktor virulensi bakteri tersebut (Boriollo et al. 2017). Hal ini berhubungan dengan bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik juga memiliki peranan dalam faktor virulensinya (Monod, 2008). Protease memainkan peranan penting dalam berbagai proses patologis (Vermelho et al., 1996).

Umumnya bakteri yang mampu melakukan fermentasi laktosa merupakan bakteri non patogen. Jika isolat pada MC tidak mampu memfermentasikan laktosa (NLF) tetapi pada media BAP tidak mendegradasi sel darah merah (Y-hemolisis), isolat tersebut dianggap memiliki sifat patogenitas relatif rendah (Arifiani & Ethica, 2018).

Isolat sampel 1 merupakan isolat bakteri indigen (bakteri asal) yang terdapat pada ampas tahu. Ampas tahu merupakan bahan alami yang mengandung protein cukup tinggi sehingga diyakini banyak mengandung bakteri penghasil protease terbukti dengan diperolehnya pertumbuhan koloni pada bakteri sampel 1 dalam penelitian ini yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim protease. Enzim protease merupakan salah satu enzim hidrolitik yang penting dalam degradasi limbah organik. Selain merupakan isolat bakteri yang menghasilkan enzim protease, isolat bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi dan seleksi bakteri proteolitik berpotensi untuk digunakan dalam proses bioremediasi limbah ampas tahu (Pamungkas et al., 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan: Dari 4 sampel ampas tahu yang dijadikan bahan penelitian diperoleh 1 isolat bakteri dari sampel 1 yang dapat menghasilkan enzim protease. Hasil uji penghasil enzim protease terbukti isolat sampel 1 mampu menghasilkan enzim protease.

Hasil isolasi pertumbuhan koloni bakteri pada media MC (MacConkey) diperoleh tidak adanya pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada media BAP (Blood Agar Plate) dapat terlihat bahwa koloni bakteri sampel 1 tumbuh dan menunjukkan hasil gamma hemolisa (y-hemolisis).

Seleksi patogenitas isolate bakteri dari sampel 1 menunjukkan sifat yang tidak patogen. Sehingga isolat bakteri yang diperoleh dari penelitian ini berpotensi untuk digunakan dalam proses bioremediasi limbah ampas tahu.

SARAN

Perlu dilakukan identifikasi jenis bakteri yang telah berhasil diisolasi dari ampas tahu.

Perlu dikembangkan isolate bakteri dari sampel 1 agar dapat digunakan sebagai

agen bioremediasi limbah tahu.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiani, N., & Ethica, S. N. (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Lipase dan Protease yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi dari Limbah Biomedis Cair Puskesmas Halmahera Kota Semarang. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*, 1, 268–275.
- Bambang Priadie. (2012). Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 10(1), 38–48. <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/ilmulingkungan>
- Hamza, T. A. (2017). Bacterial Protease Enzyme: Safe and Good Alternative for Industrial and Commercial Use. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, 3(1), 1–10. <http://www.aiscience.org/journal/ijcbshtp://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
- Lestari, P. B. (2016). Biodegradasi Limbah Cair Tahu Dari Mikroorganisme Indigen Sebagai Bahan Ajar Mikrobiologi Lingkungan Di Perguruan Tinggi. *Jurnal Edukasi Matematika Dan Sains*, 2(1), 84. <https://doi.org/10.25273/jems.v2i1.197>
- Maristiasa, N. P., Wardoyo, F. A., Darmawati, S., & Ethica, S. N. (2019). Isolasi dan Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Proteolitik untuk Bioremediasi Limbah Industri Tahu. *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*, 2, 164–170.
- Monod, M. (2008). Secreted proteases from dermatophytes. *Mycopathologia*, 166(5–6), 285–294. <https://doi.org/10.1007/s11046-008-9105-4>
- Pamungkas, N. D., Firmansyah, A., & Ethica, S. N. (2018). Isolasi dan Uji Patogenitas Bakteri Indigen Penghasil Enzim Selulase dari Limbah Ampas Kelapa di Pasar Tradisional Ngawen untuk Bioremediasi. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*, 1, 261–267. https://www.researchgate.net/publication/329130783_Isolasi_dan_Uji_Patogenitas_Bakteri_Indigen_Penghasil_Enzim_Selulase_dari_Limbah_Ampas_Kelapa_di_Pasar_Tradisional_Ngawen_untuk_Bioremediasi_Isolation_and_Pathogenicity_Test_of_Indigenous_Bacteria_Pro
- Sabrina, A. N., & Ethica, S. N. (2018). Potensi Bakteri Indigen Penghasil Enzim Protease dan Lipase sebagai Agen Bioremediasi Limbah Biomedis Puskesmas Tlogosari Kulon Potential of Indigenous Bacteria Producing Protease and Lipase Enzymes as Bioremediation Agents of Biomedical Waste of Puskesmas. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*, 1, 276–282.
- Sari, D. P., Rahmawati, & W, E. R. P. (2019). Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya. *Jurnal Labora Medika*, 3(1), 29–35. <http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLa bMed>
- Vermelho, A. B., Meirelles, M. N. L., Lopes, A., Petinate, S. D. G., Chaia, A. A., & Branquinha, M. H. (1996). Detection of extracellular proteases from microorganisms on agar plates. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 91(6), 755–760. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000600020>

Tabel 4.1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri Pada Media Nutrient Agar

Kode	Bentuk	Warna	Ukuran	Tepi	Permukaan	Konsistensi
Sampel 1	Bulat	Putih Keruh	0,10	Rata	Cembung	Kering
Sampel 2	Bulat	Putih Keruh	0,10	Rata	Rata	Kering
Sampel 3	Bulat	Putih Keruh	0,10	Rata	Rata	Kering
Sampel 4	Bulat	Putih Keruh	0,10	Rata	Cembung	Kering

Sumber: Data Primer,2023

Tabel 4.2. Karakteristik koloni Isolat Bakteri pada Pewarnaan.

Kode	Karakteristik Koloni
Sampel 1	Coccus, gram positif
Sampel 2	Coccobasil, gram negatif
Sampel 3	Coccus, gram positif
Sampel 4	Coccobasil, gram negatif

Sumber: Data Primer,2023

Tabel 4.3. Hasil Pertumbuhan bakteri dari isolasi ampas tahu

Sampel	Media NA	Media SMA	Media BAP	Media MCA
Sampel 1	Bentuk bulat kecil berwarna putih keruh	Terdapat zona bening	Bentuk bulat cembung ukuran sedang, gamma hemolisa	Tidak ada pertumbuhan bakteri
Sampel 2	Bentuk bulat kecil berwarna putih keruh	Tidak terdapat zona bening pada media	Tidak dilanjutkan	Tidak dilanjutkan
Sampel 3	Bentuk bulat kecil berwarna putih keruh	Tidak terdapat zona bening pada media	Tidak dilanjutkan	Tidak dilanjutkan
Sampel 4	Bentuk bulat kecil berwarna putih keruh	Tidak terdapat zona bening pada media	Tidak dilanjutkan	Tidak dilanjutkan

Sumber: Data Primer,2023

Dokumentasi Penelitian

Timbang sampel dan pengenceran awal 10 gr / 90 ml



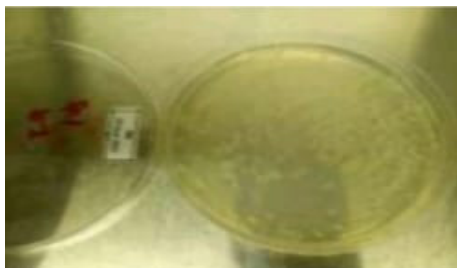
Pengenceran bertingkat



Penanaman di media Nutrient Agar



Hasil Pengamatan koloni dari media NA
(Sampel 1 & Sampel 2)



(Sampel 3 & Sampel 4)

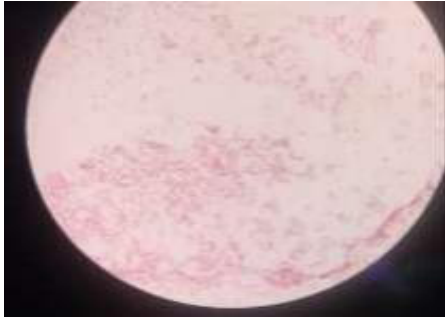


Hasil Pewarnaan Gram

(Sampel 1 & Sampel 2)



(Sampel 3 & Sampel 4)



Hasil Meremajakan Koloni dari NA

(Sampel 1 & Sampel 2)



(Sampel 3 & Sampel 4)

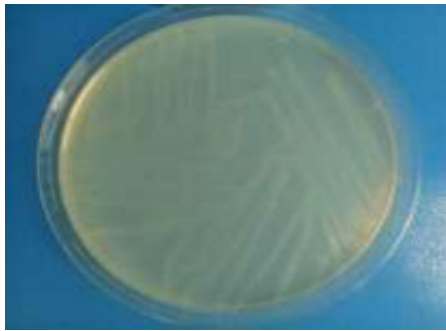


Hasil Pengamatan di Media Skim Milk Agar (SMA)

(Sampel 1 & Sampel 2)



(Sampel 3 & Sampel 4)



Hasil pengamatan di Media Blood Agar Plate (BAP) & Media MacConkey Agar (MCA) sampel 1

