

SNKP 2017

Seminar Nasional Kimia
& Pembelajarannya



“PENGUATAN RISET KIMIA DAN PEMBELAJARAN KIMIA
MENDUKUNG PRODUKTIVITAS KINERJA ANAK BANGSA”

PROSIDING

5 November 2017

Aula O1 FMIPA

Universitas Negeri Malang

ISBN 978-602-96714-3-8

ORGANIZED BY:



SUPPORTED BY:



DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| HALAMAN SAMPUL | 1 |
| ORGANISASI KEGIATAN | 3 |
| KATA PENGANTAR | 5 |
| DAFTAR ISI | 7 |
| MAKALAH PEMBICARA UTAMA | 14 |
| Peranan Transformative Learning dalam Pendidikan Kimia: Pengembangan Karakter, Identitas Budaya, dan Kompetensi Abad Ke-21 | |
| Yuli Rahmawati | 15 |
| Development of Highly Efficient Interface Device for Mass Spectrometry and Organic Polymer-Based Monoliths: Application to Bioanalytical Chemistry | |
| Akhmad Sabarudin | 36 |
| Obesitas dan Herbal Anti Obesitas: Studi Kasus pada Inhibitor Lipase Pankreas | |
| Subandi | 84 |
| MAKALAH PEMBICARA PARALEL | 119 |
| Pengaruh Aktivasi Fisika pada Zeolit Alam dan Lempung Alam terhadap Daya Adsorpsinya | |
| Bayu Wiyantoko, Pipit Novi Andri, Dyah Anggarini | 120 |
| Pengaruh Perbandingan Komposisi Ag@Fe₃O₄ – Asam Oleat terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus dan Eschericia Coli | |
| Fauziatul Fajaroh, Sefin Nur Aisyah, Nazriati, Yahmin, Siti Marfu'ah, Ida Bagus Suryadharma | 129 |
| Pemanfaatan Zeolit Alam/Ni Sebagai Katalis pada Hidrolisis Selulosa Menjadi Glukosa dengan Bantuan Ultrasonik | |
| Sumari, Yahmin, Fauziatul Fajaroh, Funky | 136 |
| Kajian Pengaruh Waktu dan pH Optimum dalam Adsorpsi Methyl Violet dan Methylene Blue Menggunakan Abu Daun Bambu | |
| Kuntari, Naela Salsa Bila, Meidi Yuwono | 147 |
| Sintesis dan Karakterisasi Karbon Teraktivasi Asam dan Basa Berbasis Mahkota Nanas | |
| Noor Rahmadani, Puji Kurniawati | 154 |
| Kajian Diversitas Keratinase Berdasarkan Urutan Residu Asam Amino dan Struktur Protein | |
| Suharti | 162 |

| | |
|---|-----|
| Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Potensial dari Tauco Surabaya Evi Susanti, Suharti, Hadiyan Rahman Ramadhan, Fira Fatma | 172 |
| Pemurnian Enzim Keratinase Bakteri Bacillus sp. MD24 Menggunakan Metode Fraksinasi Amonium Sulfat Yulia Gita Choirani, Suharti, Muntolib | 183 |
| Hidrolisis Asam Fosfat untuk Produksi Gelatin dari Sisik Ikan Kakap Merah Warlinda Eka Triastuti, Laela Inayatus, Handyta Faradiella, Debi Wulandari, Rengganis Ela, Faiza Amalia..... | 193 |
| Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Ion Tembaga(Li) dengan Ligan Ion Tiosianat Dan Isokuinolina Linda Kusumawati, I Wayan Dasna, Nazriati | 200 |
| Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Zink(II) Asetat dan N,N'-dietiltiourea Alifa Meilia Nur Auzie, Fariati, Effendy | 210 |
| Immobilisasi Senyawa Koordinasi Astaxanthin dengan Ion Fe(III) dalam Matrix Carbon Aktif Dion Notario, Rokiy Alfanaar | 216 |
| Impregnasi TiO₂ Pada Zeolit Alam Cikembar Sukabumi untuk Fotodegradasi Metilen Biru Devi Indah Anwar, Lela Lailatul Khumaisah, Salih Muharam, Nurma Lisafitri | 223 |
| Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks M(R-COO)_x (M = Cu²⁺, Fe³⁺, R-COO⁻ = Ion karboksilat) I Wayan Dasna, Fidyah Nanda Kusuma, Oktavina Kartika Putri | 223 |
| Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks dari Kadmium(II) Nitrat dan Ligan 2,2'-Bipiridina dengan Stoikiometri Sebesar 1 : 3 Erlyna Yunestha Sansivera, Fariati, Effendy..... | 243 |
| Pengembangan Metode Analisis Ni dalam Air Laut Prigi Menggunakan ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry) Anugrah Ricky Wijaya, Bambang Semedi..... | 249 |
| Perbandingan Metode Penentuan Vitamin C Pada Minuman Kemasan menggunakan Metode Spektrofotometer UV-Vis Dan Iodimetri Evi Triyana Damayanti, Puji Kurniawati | 258 |
| Penentuan Umur Pakai Karet Perapat (Rubber Seal) Katup Tabung Gas LPG Melalui Metode Perendaman dalam N-Pentana Hani Handayani, Aprilia Sita, dan Yati Nurhayati | 267 |
| Pengaruh Metode Pencucian terhadap Penurunan Kadar Klorin dalam Beras dengan Titrasi Argentometri Indriyana Rachmadani Santoso, Tri Esti Purbaningtias | 277 |

| | |
|--|-----|
| Pengembangan Sensor Optik Berbasis Kertas untuk Penetapan Kadar Kuersetin dalam Obat Herbal Daun Jambu Biji Mochammad Amrun Hidayat, Mochammad Yuwono, Bambang Kuswandi . | 286 |
| Pelepasan Kalium Diklofenak pada Matriks Sediaan Lepas Lambat Berbasis Karagenan-Xanthan Gum Irma Kartika K, Eli Hendrik Sanjaya, Binti Nafingatul Khusna, Febri Fiatul Rohmah | 297 |
| Penentuan Kadar Besi (Fe) pada Air Sungai Brantas di Wilayah Kota Malang Ratna Jamilatul Mufidah, Irma Kartika Kusumaningrum, Yudhi Utomo, Suhadi Ibnu, I Wayan Dasna..... | 309 |
| Evaluasi Sifat Ketahanan Oksidasi Termal pada Vulkanisat dari Berbagai Tingkatan Mutu Karet Alam Tanpa Bahan Pengisi Santi Puspitasari, Woro Andriani, Berlian Dwi Hadiyati | 320 |
| Etika dalam Perkembangan Ilmu Kimia Surjani Wonorahardjo | 334 |
| Implementasi Model Pembelajaran Tefapreneur untuk Membangun Minat dan Keberanian Berwirausaha Sussi Widiastuti..... | 344 |
| Rancang Bangun Sistem Monitoring Plan Pengontrol Proses Secara Realtime pada Pembuatan Pupuk Organik Arief Mardiyanto, Akhyar, Suherman | 352 |
| Keterlaksanaan Kegiatan Pembelajaran Kimia Menggunakan Prinsip Berpusat pada Peserta Didik <i>Student Centred Learning</i> (SCL) di SMA Kabupaten Ponorogo Darsono Sigit, Oktavia Sulistina | 365 |
| Pengaruh <i>Study History Sheet</i> (SHS) pada Model Pembelajaran <i>Cooperative Learning Together</i> terhadap Hasil Belajar Peserta Didik Kelas XI MIPA SMA Negeri 5 Jember Pokok Bahasan Asam-Basa Geovany Arofatz Zahro, Ridwan Joharmawan, Yudhi Utomo..... | 373 |
| Profil Pengetahuan Metakognitif Siswa Kelas XI MIA SMA pada Materi Asam Basa Parlan, Ida Bagus Suryadharma, Ina Safitri | 380 |
| Efektivitas Penerapan Pendekatan Inkuiri Terbimbing pada Mata Kuliah Kimia Dasar Materi Kelarutan dan Hasil Kali Kelarutan Theresia Wariani, Vinsensia H.B. Hayon, Alfons Bunga Naen | 390 |
| Kajian Teori tentang Penerapan Pembelajaran Inkuiri Terbimbing- Peta Konsep dalam Upaya untuk Mengembangkan Keterampilan Berpikir Tingkat Tinggi Siswa pada Materi Kesetimbangan Kimia Suchory Sapto Putri, I Wayan Dasna, Siti Marfu'ah | 401 |
| Efektivitas Model Pembelajaran Learning Cycle 5E Untuk Mengatasi Kesulitan Pemahaman Konsep Reaksi Redoks pada Siswa Kelas X | |

SMAN 9 Malang

Anis Fitria, Endang Budiasih, Dedek Sukarianingsih 413

Pembelajaran Inkuiri dengan Mengeksplisitkan Hakikat Sains (NOS) untuk Meningkatkan Pemahaman Hakikat Sains, Keterampilan Proses Sains, dan Penguasaan Konsep Siswa pada Materi Laju Reaksi

Claudia Niken Shinta, Sri Rahayu, Sutrisno 421

Strategi Analogi dalam Pembelajaran Praktikum Sel Volta

Findiyani Ernawati Asih, Suhadi Ibnu, Suharti 432

Efektivitas Model Pembelajaran Learning Cycle 6 Fase untuk Meningkatkan Kemampuan Berpikir Tingkat Tinggi Siswa Kelas XI SMAN 1 Pandaan Pada Materi Hidrolisis Garam dan Larutan Penyangga

Isnaini Yunitasari, Endang Budiasih, & Dermawan Affandy 445

Pengaruh Kegiatan Praktikum Berbasis Inkuiri Terbimbing versus Verifikasi dan Pengetahuan Awal terhadap Hasil Belajar Kognitif Siswa SMA pada Materi Kelarutan dan Hasil Kali Kelarutan

Jakub Sadam Akbar, I Wayan Dasna, Surjani Wonorahardjo..... 457

Pengaruh Strategi Pembelajaran Inkuiri Terbimbing terhadap Kemampuan Berpikir Tingkat Tinggi (Higher Order Thinking Skills, Hots) Siswa Kelas X MIPA SMA Negeri 02 Batu pada Materi Reaksi Redoks

Kiki Fitlah Pradani, Endang Budiasih, M Muchson..... 465

Implementasi Strategi Pembelajaran Inkuiri Terbimbing dengan pendekatan Science, Environment, Technology, and Society (SETS) terhadap Keterampilan Proses Sains Siswa pada Materi Laju Reaksi

Made Irma Rusmayanti, I Wayan Dasna, Hayuni Retno W 475

Analisis Pengetahuan Metakognitif Larutan Penyangga Siswa Kelas XI IPA SMA

Yezhi Prisvitasari, Effendy, Nazriari..... 483

Identifikasi Pemahaman Submikroskopik Kesetimbangan Kimia pada Siswa Kelas XI SMA Negeri 10 Malang

Asri Nurul Husnah, Muhammad Su'aidy, Yahmin 491

Analisis Kesalahan Konsep Siswa pada Materi Bentuk dan Kepolaran Molekul dengan Teknik *Certainty Of Response Index* (CRI)

Billy A.Kalay, Subandi, Endang Budiasih 499

Identifikasi Konsepsi Alternatif Asam Basa Menggunakan *Two-Tier Diagnostic Test*

Muntholib, Wardatul Laila Al Fitri, Jian Mayangsari, dan Mochammad Sodik Ibnu 508

Kajian Teks Perubahan Konsep untuk Mengatasi Miskonsepsi Gaya antar Molekul

Dwi Miftakhul Ma'rufah, Effendy, dan Surjani Wonorahardjo 521

| | |
|---|-----|
| Upaya Mencegah Miskonsepsi Materi Stoikiometri dengan Strategi Pembelajaran Problem Solving pada Siswa Kelas X MIA SMA Negeri 1 Lawang Pinta Nisa Fitri, Endang Budiasih, dan Dedek Sukarianingsih..... | 529 |
| Mengembangkan Keterampilan Berargumentasi Siswa SMA dalam Materi Asam Basa melalui Isu-isu Sosiosaintifik Arum Setyaningsih, Sri Rahayu, Fauziatul Fajaroh..... | 537 |
| Kajian Keterampilan Argumentasi pada Pembelajaran Kimia Menggunakan ADI Berbasis Konteks Yuli Subekti, Suhadi Ibnu, Subandi | 549 |
| Kajian tentang Potensi Strategi <i>Process Oriented Guided Inquiry Learning (POGIL)</i> dalam Meningkatkan Hasil Belajar Siswa Angga Puspitaningrum, Endang Budiasih, Yudhi Utomo | 563 |
| Mengembangkan Kemampuan <i>Scientific Explanation</i> melalui Pembelajaran Kimia dengan POGIL Berkonteks <i>Socioscientific Issues (SSI)</i> Fitri Aldresti, Sri Rahayu, Fauziatul Fajaroh | 571 |
| Hubungan Pemanfaatan Media <i>ScreenCast-O-Matic</i> Melalui <i>Lesson Study Of Learning Community (LSLC)</i> untuk Meningkatkan Kompetensi Pedagogik Mahasiswa PPL Pendidikan Kimia Hironimus Tangi | 582 |
| <i>Community of Inquiry</i> dalam <i>Blended Learning</i> untuk Meningkatkan Pemahaman Konsep Kimia Indira Wahyu Alfaterra, Surjani Wonorahardjo, Suharti | 591 |
| Efektifitas Strategi Inkuiri Terbimbing, Inkuiri Terbimbing Berorientasi Proses (POGIL) dan Verifikasi dalam Meningkatkan Pemahaman Konsep Keseimbangan Kimia Qory Laila Rusda, Suhadi Ibnu, Nazriati | 596 |
| Keyakinan Pedagogik Guru Kimia Madrasah Aliyah dalam Menerapkan Pembelajaran Literasi Sains Teguh Hendri Ariyanto, Sri Rahayu, Yahmin | 603 |
| Pengaruh Urutan Penyajian Representasi dalam Pembelajaran Inkuiri Terbimbing terhadap Hasil Belajar Siswa Trining Puji Astutik, Suhadi Ibnu, Effendy | 609 |
| Efektivitas Penerapan Pendekatan <i>Contextual Teaching And Learning (CTL)</i> yang Diintegrasikan dengan Modul Paktikum IPA SMP pada Materi Pokok Bahan Kimia Rumah Tangga pada Siswa SMPK Muder Teresa Oebufu Yanti Rosinda Tinenti | 618 |
| Pengembangan Instrumen Asesmen Pemahaman Konseptual Berorientasi <i>Higher Order Thinking Skills (HOTS)</i>, Keterampilan Proses Sains, dan Sikap terhadap Sains pada Bahan Kajian | |

| | |
|--|-----|
| Hidrokarbon dan Minyak Bumi Dwi Isnaini Amin, Sutrisno, Darsono Sigit | 639 |
| Efektivitas Penggunaan Modul Elektronik Senyawa Hidrokarbon Berbasis Mind Map dengan Pendekatan <i>Learning Cycle</i> 5 Fase terhadap Hasil Belajar Siswa SMA Kelas X SMA Negeri 2 Lumajang Fenti Eka Nurulia | 650 |
| Pengembangan Lembar Kerja Siswa Berbasis Core (<i>Connecting, Organizing, Reflecting and Extending</i>) Ririn Eva Hidayati | 661 |
| Pengembangan Instrumen Asesmen Berpikir Kritis pada Materi Asam Basa untuk Siswa SMA M. Muchson, Sri Rahayu, Dwi Agusningtyas | 672 |
| Analisis Kebutuhan Buku Suplemen Kimia Berbasis Kearifan Lokal Suku Asmat Papua Henie Poerwandar Asmaningrum, Kamariah | 681 |
| Analisis Pelaksanaan Perkuliahan Kimia Organik 1 (Studi Kasus Perkuliahan Kimia Organik 1) Hayuni Retno Widarti, Siti Marfuah, Rini Retnosari | 702 |
| Kesalahan Konsep Klasifikasi Materi dan Perubahannya pada Siswa Kelas VII SMPN 2 Ngadiluwih Kabupaten Kediri Dyah Waluyati | 712 |
| Pemahaman Konsep Kelarutan dan Hasil Kali Kelarutan (Ksp) pada Peserta Didik Program 4, 5, dan 6 Semester SMAN 3 Malang Lailatus Sholikhah, Fariati, Herunata | 718 |
| Pengaruh Model Pembelajaran Inkuiri Terbimbing Kolaboratif terhadap Hasil Belajar Kognitif Siswa Kelas XI MIA MAN 1 Malang pada Materi Larutan Penyangga Mentari Arie Dian Safitri, Ridwan Joharmawan, Mohammad Sodik Ibnu | 723 |
| Pengaruh Kemampuan Penalaran Formal terhadap Hasil Belajar Kimia Dasar Materi Pokok Larutan Penyangga Mahasiswa Semester II Program Studi Pendidikan Kimia Tahun Akademik 2016/2017 Vinsensia H.B.Hayon, Theresia Wariani, Alfons Bunga Naen | 731 |
| Pengembangan Lembar Kegiatan Siswa (LKS) Berbasis Pendekatan Saintifik untuk Meningkatkan Kemampuan Berpikir Tingkat Tinggi (<i>Higher Order Thinking Skills</i>) Siswa pada Materi Hidrolisis Garam Kelas XI SMA Ririn Iswanti, Endang Budiasih, dan Parlan | 737 |
| Peningkatan Kemampuan Berpikir Kritis Siswa Melalui Model Pembelajaran <i>Learning Cycle</i> 5E –<i>Think Pair Share</i> pada Materi Larutan Penyangga Dewi Lestarani, Endang Budiasih, Siti Marfu'ah | 748 |

| | |
|---|-----|
| Pengembangan LKS berbasis Kreativitas bagi Siswa SMA Kelas X dalam Membuat Alat Pendeteksi Banjir Sederhana Wawan Wahyu, Ali Kusrijadi, Dede Hamjah | 759 |
| Penerapan Kotak Asam-Basa untuk Meningkatkan Karakter dan Prestasi Belajar Kimia Siswa SMP Atik Joedanarni | 768 |
| Potensi Strategi <i>Process Oriented Guided Inquiry Learning</i>(POGIL) dalam Meningkatkan Pemahaman Konsep pada Materi Ikatan Kimia Aldila Candra Kusumaningrum, Subandi, Endang Budiasih..... | 781 |
| Konsep Modul Gambar Proses (MC-GP) pada Pembelajaran Sistem Koloid Berbasis SCL di Sekolah Menengah Ika Iffah Ilmiah, Sutarto, Nuriman..... | 790 |
| Peningkatan Kualitas Pembelajaran Matakuliah Dasar-dasar Kimia Analisis melalui Strategi <i>Think Pair Share</i> (TPS) – <i>Problem Posing</i> dengan Pemberian <i>Advance Organizer</i> (AO) Endang Budiasih, Dedek Sukarianingsih, dan M. Su'aidy | 802 |

Evi Susanti, dkk_Biokimia

Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Potensial dari Tauco Surabaya

Evi Susanti, Suharti, Hadiyan Rahman Ramadhan, Fira Fatma
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Malang
Jalan Semarang 5 Malang 65145
e-mail: esusanti.kim@gmail.com

Abstrak: Tujuan penelitian ini adalah mengetahui keragaman bakteri proteolitik dan memperoleh bakteri proteolitik potensial dari pangan fermentasi tauco Surabaya. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu penentuan karakter kimiawi tauco, isolasi dan pemurnian bakteri proteolitik, dan seleksi untuk memperoleh bakteri proteolitik yang potensial berdasarkan nilai indeks proteolitik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suspensi tauco yang diuji memiliki pH 5,0 dan kadar protein sebesar 31 mg/mL, diperoleh 21 isolat bakteri proteolitik dengan karakter morfologi koloni yang berbeda. Sebanyak 8 kandidat isolat bakteri proteolitik yang potensial telah berhasil dimurnikan. Dua isolat yang merupakan bakteri proteolitik potensial dengan nilai indeks proteolitik diatas 3,0 yaitu HTcUM₈ sebesar 3,30 dan HTcUM₁₀ sebesar 3,00.

Kata kunci: proteolitik, tauco, seleksi, bakteri, Surabaya

Abstract: The aims of this research were to know the diversity of proteolytic bacteria and to obtain the potential proteolytic bacteria from tauco fermented food of Surabaya. This research was conducted in several stages: determination of chemistry character of tauco, isolation and purification of proteolytic bacteria, and selection to obtain potential proteolytic bacteria based on proteolytic index value. The results showed that the tested tauco suspension had pH 5.0 and protein content of 31 mg/mL, 21 isolates of proteolytic bacteria with different colony morphology were obtained. A total of 8 candidates of potential proteolytic bacteria isolates have been successfully purified. Two isolates of potential proteolytic bacteria with proteolytic index values were above 3.0 were HTcUM₈ (3.30) and HTcUM₁₀ (3.00).

Keywords: proteolytic, tauco, selection, bacteria, Surabaya

Tauco merupakan produk pangan olahan khas Indonesia, hasil fermentasi kacang kedelai yang berbentuk pasta dan berwarna coklat kemerahan. Tauco memiliki bau tajam khas dengan rasa yang gurih, sehingga digunakan sebagai bumbu penyedap masakan. Tauco diperoleh dengan cara kacang kedelai kuning dikukus, digiling kasar, ditambahkan beberapa bumbu dan difermentasi hingga membentuk pasta, kemudian direndam dalam air garam dan difermentasi lagi selama beberapa minggu hingga berubah warna menjadi coklat kemerahan.

Kacang kedelai sebagai bahan baku tauco memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, yaitu sebesar 35% berat kering, bahkan dapat mencapai 40-44% pada

kacang kedelai varietas unggul (Koswara, 1992). Data ini sejalan dengan Suprapti (2003) yang menyatakan bahwa kacang kedelai mengandung protein sebesar 34,9 g dari 100 g kacang kedelai kering yang diuji. Proses fermentasi pada bahan pangan yang mengandung protein menghasilkan produk olahan yang berasa gurih karena protein dalam kacang kedelai terdegradasi menjadi asam amino oleh aktivitas bakteri penghasil protease (bakteri proteolitik) selama proses fermentasi berlangsung. Chantawannakul, dkk., (2002) menunjukkan bahwa bakteri proteolitik dari *thua nao* (pangan fermentasi kacang kedelai hitam dari Thailand) adalah *Bacillus subtilis*. Cho dkk. (2003) menunjukkan bahwa bakteri proteolitik dari *meju* (pangan fermentasi kacang kedelai dari Korea) adalah *Bacillus amyloliquefaciens*. Fermentasi kacang kedelai pada tauco, *thua nao*, dan *meju* secara umum hampir sama, kedelai yang telah dibersihkan dan dikukus kemudian difermentasi. Kacang kedelai pada proses fermentasi *thua nao* dan *meju* dibungkus daun pisang sedangkan pada tauco dibiarkan di ruang terbuka. Proses dan lingkungan fermentasi yang berbeda tersebut maka diduga tauco mengandung bakteri proteolitik yang berbeda dengan yang dijumpai pada *thua nao* dan *meju*. Hingga saat ini belum pernah dilaporkan bagaimana keragaman dan potensi bakteri proteolitik dari tauco Jawa Timur.

Eksplorasi bakteri proteolitik dari isolat Lokal masih sangat penting untuk dilakukan. Bakteri lokal umumnya memiliki kemampuan adaptasi dan produktivitas metabolit yang tinggi. Bakteri proteolitik menghasilkan berbagai jenis protease ekstraselular sesuai dengan medium yang diberikan. Protease adalah enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida dalam protein. Kebutuhan protease sebagai enzim industri masih sangat tinggi dan digunakan pada berbagai proses industri. Indonesia pada tahun 2001 tercatat mengimpor protease sebesar 108 ribu ton dan pada tahun 2001 sebesar 122,3 ribu ton (Sutandi, 2003). Kebutuhan itu untuk mensuplai kebutuhan protease untuk detergen, proses pengolahan limbah, penyamakan kulit, farmasi dan industri pangan seperti pengempukan daging dan isolasi kolagen dari jaringan ikat untuk produksi gelatin. Berdasarkan hal tersebut maka telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan seleksi bakteri proteolitik dari tauco untuk memperoleh bakteri proteolitik potensial dari pangan fermentasi tauco Surabaya.

METODE

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan peralatan yang berbahan gelas antara lain: cawan petri, *spreader*, pipet volume 5 mL, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, labu ukur 50 mL, gelas piala 50 mL dan 100 mL, Erlenmeyer 250 mL dan 500 mL, corong kaca, botol kaca, dan lampu spiritus. Peralatan instrumentasi meliputi, spektroskopi UV-*visible* merk Shimadzu, dan peralatain lain seperti: autoklaf, inkubator, neraca analitik ACIS, jangka sorong, batang ose ujung lingkaran, kertas whatmann nomor 40, kertas coklat, kertas indikator pH, dan *laminar air flow*. Bahan-bahan dalam penelitian ini yang berderajat p.a., meliputi:

asam asetat, natrium klorida, natrium, NaOH, reagen Folin Cioceltau, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, BSA (*bovine serum albumine*), Na_2CO_3 , glukosa, larutan uji Gram (larutan Kristal violet, larutan Iodin, larutan Safranin), pepton Oxoid, tirosin, TCA (trikloroasetat), kasein, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, minyak imersi, buffer fosfat pH 7.

Preparasi, Penentuan pH dan Kadar Protein Tauco

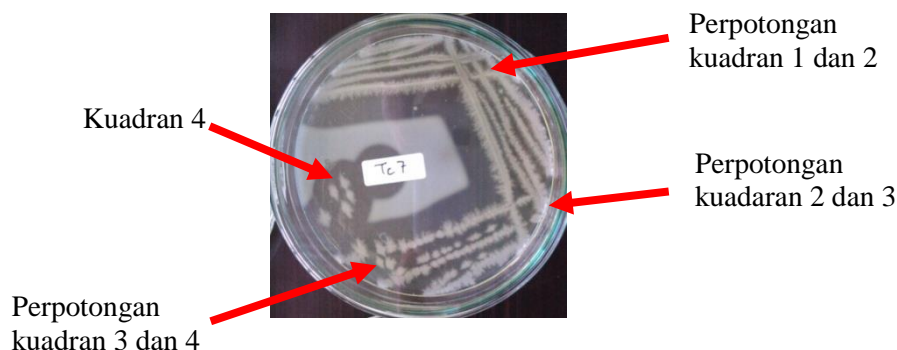
Sebanyak 25 g tauco diletakkan pada mortar steril, kemudian dihancurkan dengan pestel, ditambahkan dengan 250 mL akuades steril, sehingga terbentuk suspensi sampel tauco. Selanjutnya pH suspensi diukur dengan menggunakan kertas indikator pH dan diukur kadar proteinnya dengan metode Lowry.

Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Pengukuran kadar protein dengan metode Lowry menggunakan metode penentuan kadar protein ini mengacu pada penelitian Lowry 1964 dalam Bollag dkk., 1996. Sebanyak 0,5 mL sampel yang mengandung 0 (blanko), 20, 40, 60, 80, 100 μg *Bovine Serum Albumin* (BSA), ditambah 2,5 mL pereaksi Biuret, diaduk hingga homogen. Campuran diinkubasi pada suhu kamar tepat 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,25 mL Folin Ciaucalteau 1 N dan diinkubasi pada suhu kamar tepat 30 menit. Nilai absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 750 nm. Kadar protein ditentukan dengan menginterpolasikan nilai absorbansi sampel tauco ke kurva standar protein.

Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik dari Tauco

Isolasi dan seleksi bakteri proteolitik dilakukan beberapa tahap, yaitu: (1) bakteri diencerkan pada pengenceran $10^0 - 10^5$, (2) inokulasi bakteri pada media Susu Skim Agar (SSA) dengan metode sebar dengan cara 100 μL masing-masing larutan pada pengenceran $10^0 - 10^5$ disebar pada media susu skim dengan menggunakan batang *spreader*. Produk disimpan pada suhu kamar selama 48 jam. Bakteri yang menghasilkan protease akan membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri pada media susu skim agar, (3) pengukuran indeks proteolitik untuk menentukan isolat potensial, dilakukan dengan cara mengukur diameter zona bening dibagi diameter koloni bakteri dengan menggunakan jangka sorong. Koloni bakteri dari isolat yang potensial ditapiskan pada media susu skim agar dengan metode gores kuadran yang memiliki perpotongan pada kuadran 1,2,3 dan 4. Metode gores kuadran dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh koloni bakteri yang seragam dan terbentuk koloni yang memisah pada kuadran 4. Koloni bakteri yang seragam pada setiap perpotongan kuadran dan ujung goresan yaitu kuadran 1,2,3 dan 4 dilakukan pewarnaan Gram (Gambar 1).



Gambar 1. Titik- titik Pengambilan Isolat untuk Konfirmasi Kemurnian Bakteri dengan Uji Gram

Pemurnian Isolat Bakteri Proteolitik

Pemeriksaan kemurnian isolat bakteri proteolitik dilakukan melalui pewarnaan Gram dengan cara kaca preparat dibersihkan dengan alkohol kemudian ditetesi dengan akuades steril. Sebanyak 1 - 2 ose koloni tunggal digoreskan pada kaca preparat yang telah ditetesi akuades steril dan difiksasi dengan pemanasan di atas bunsen. Preparat digenangi Gram A (kristal violet) dan didiamkan selama satu menit agar kristal violet meresap ke dalam sel bakteri. Cat dibuang dan preparat dibilas dengan akuades. Preparat digenangi Gram B (lugol) dan didiamkan selama dua menit agar lugol meresap ke dalam sel bakteri. Cat dibuang dan preparat dibilas dengan akuades. Preparat digenangi Gram C (alkohol) dan didiamkan selama lima belas detik untuk melarutkan zat warna kristal violet dan lugol. Cat dibuang dan preparat dibilas dengan akuades. Preparat digenangi Gram D (safranin) dan didiamkan selama tiga puluh detik agar safranin meresap ke dalam sel bakteri. Cat dibuang dan preparat dibilas dengan akuades. Preparat yang telah diwarnai difiksasi dengan pemanasan di atas bunsen. Preparat diamati secara mikroskopis pada perbesaran 1000x dengan ditetesi minyak imersi di atas kaca preparat untuk melihat bentuk sel bakteri. Bakteri disebut Gram positif bila hasil pewarnaan diperoleh sel bakteri berwarna ungu, sedangkan bila diperoleh sel bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah Gram negatif (Pelczar & Chan, 2008).

Konfirmasi Indeks Proteolitik Isolat Murni

Satu ose koloni tunggal isolat murni diencerkan pada pengenceran 10^0 , 10^1 , 10^2 , 10^3 , 10^4 , dan 10^5 . Larutan pada pengenceran 10^0 - 10^5 diambil 100 μ L masing-masing dan diinokulasikan dengan metode sebar pada media susu skim agar, diinkubasi pada temperatur kamar, dan diukur diameter zona bening yang dihasilkan koloni tunggal pada jam ke-48.

HASIL

Tauco dari Surabaya memiliki kadar protein 31 mg/mL dan pH 5,0. Isolasi bakteri proteolitik dari tauco tersebut menunjukkan terdapat 11 isolat yang

memiliki morfologi koloni berbeda dan terpisah-pisah dengan baik seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Selanjutnya diberi nama masing-masing koloni sebagai isolat HTcUM₁ – HTcUM₁₁ seperti ditunjukkan pada Tabel. Masing-masing koloni ditapiskan ke dalam medium SSA hingga diperoleh koloni tunggal. Isolat HTcUM₄ memiliki beberapa bentuk morfologi koloni, ada yang mirip dengan koloni pada isolat HTcUM₆ dan HTcUM₉. Maka tidak dilakukan pemurnian pada isolat HTcUM₄, diwakili oleh HTcUM₆ dan HTcUM₉. HTcUM₆ memiliki 2 isolat yang morfologinya berbeda. Masing-masing dimurnikan menjadi HTcUM_{6.1} dan HTcUM_{6.2}. HTcUM_{6.1} dimurnikan menjadi HTcUM_{6.1.1} dan HTcUM_{6.1.2}. HTcUM_{6.2} dimurnikan menjadi HTcUM_{6.2.1} dan HTcUM_{6.2.2}. HTcUM₉ dimurnikan menjadi HTcUM_{9.1} dan HTcUM_{9.2}. HTcUM₇ dimurnikan menjadi HTcUM_{7.1} dan HTcUM_{7.2}, sehingga total isolat selama pemurnian menjadi 20 isolat. Konfirmasi kemurnian isolat bakteri dilakukan dengan pengecatan Gram. Gambar 2 menunjukkan profil hasil pengecatan isolat yang belum murni dan isolat murni dengan uji Gram.

Pada pemurnian tahap pertama yang dilakukan selama tujuh bulan, sebanyak 4 isolat saja yang dapat dimurnikan yaitu HTcUM₂, HTcUM_{6.2.1}, HTcUM_{6.2.2}, dan HTcUM₁₀, data selengkapnya terdapat di Tabel 2. Maka pada sisa isolat yang belum murni dilakukan seleksi berdasarkan nilai indeks proteolitiknya terlebih dahulu, selanjutnya tahap pemurnian hanya dilakukan pada isolat yang diduga potensial. Hasil seleksi ditunjukkan pada Tabel 3.

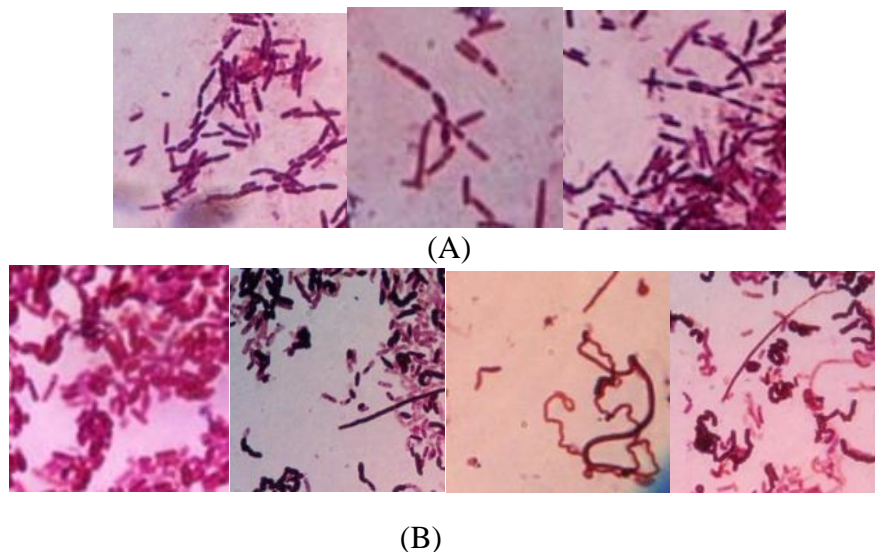
PEMBAHASAN

Kadar protein dan pH tauco berbeda dengan kadar protein dan pH pangan fermentasi lainnya seperti terasi Sidoarjo yang memiliki kadar protein 76,22 mg/mL dan pH 7,0 (Susanti, dkk., 2017). Perbedaan kadar protein dimungkinkan karena bahan baku pembuatan pangan fermentasi yang berbeda, tauco menggunakan kacang kedelai sedangkan terasi menggunakan ikan atau udang sehingga kadar proteinnya lebih tinggi. Lingkungan sampel yang berbeda tersebut diduga akan menghasilkan keragaman bakteri proteolitik dan jenis protease yang berbeda pula.

Berdasarkan nilai indeks proteolitik dari semua isolat pada Tabel 3 tampak adanya tiga kelompok bakteri proteolitik, yaitu: (1) kelompok tidak berpotensi, yaitu isolat HTcUM₃ dan isolat HTcUM₅. Isolat HTcUM₃ dimasukkan dalam kelompok tidak berpotensi karena nilai indeks proteolitik yang dihasilkan nol, nilai ini diperoleh karena diameter koloni bakteri sama besar dengan diameter zona bening. Isolat HTcUM₅ dimasukkan dalam kelompok tidak berpotensi karena tidak menghasilkan nilai indeks proteolitik, hal ini disebabkan karena isolat HTcUM₅ telah ditumbuhkan sebanyak tiga kali dan tetap tidak menghasilkan koloni untuk diukur indeks proteolitiknya.

Tabel 1. Bentuk Morfologi Isolat HTcUM₁-HTcUM₁₁

| Nama Isolat | Morfologi | Gambar Isolat |
|---------------------|--|---------------|
| HTcUM ₁ | Berbentuk bulat dan berwarna putih dan juga adanya koloni berbeda yang tidak berbentuk yang tengahnya seperti berlubang dan ada seperti hifa dibagian tepi | |
| HTcUM ₂ | Tidak beraturan dan berwarna putih | |
| HTcUM ₃ | Berbentuk bulat dan berwarna putih | |
| HTcUM ₄ | Berbentuk seperti kristal es dan ada koloni berbeda yang berbentuk bulat berwarna putih | |
| HTcUM ₅ | Berbentuk bulat dan berwarna agak coklat | |
| HTcUM ₆ | Berbentuk agak lonjong dan berwarna putih | |
| HTcUM ₇ | Berbentuk bulat dan berwarna putih, ditengahnya lebih tebal dari pada bagian pinggir | |
| HTcUM ₈ | Berbentuk bulat dan tebal dibagian tengah tetapi sangat kecil diameter ketebalannya | |
| HTcUM ₉ | Berbentuk seperti kristal es dan berwarna putih | |
| HTcUM ₁₀ | Berbentuk bergerigi dan berwarna putih | |
| HTcUM ₁₁ | Tidak beraturan dan berwarna putih | |











Gambar 2. Hasil Pengecatan Gram pada Isolat Murni (A) dan Belum Murni (B)

Tabel 2. Hasil Pemurnian Tahap Pertama

| Isolat | Tahap Pemurnian | Tingkat keseragaman dan kemurnian | Bentuk sel |
|------------------------------|-----------------|-----------------------------------|---------------------------|
| HTcUM ₁ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus |
| HTcUM₂ | 2 kali | Seragam dan murni | Basilus |
| HTcUM ₃ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus |
| HTcUM ₅ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus dan spirillum |
| HTcUM _{6.1} | 3 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus dan kokus |
| HTcUM _{6.1.1} | 4 kali | Belum seragam dan belum murni | Kokus |
| HTcUM _{6.1.2} | 4 kali | Belum seragam dan belum murni | Kokus |
| HTcUM _{6.2} | 3 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus dan kokus |
| HTcUM_{6.2.1} | 4 kali | Seragam dan murni | Basilus |
| HTcUM_{6.2.2} | 4 kali | Seragam dan murni | Basilus |
| HTcUM ₇ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus dan kokus |
| HTcUM _{7.1} | 3 kali | Belum seragam dan belum murni | Kokus dan basilus |
| HTcUM _{7.2} | 3 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus, kokus dan spiral |
| HTcUM ₈ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus |
| HTcUM ₉ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus dan spiral |
| HTcUM _{9.1} | 3 kali | Belum seragam dan belum murni | Kokus |
| HTcUM _{9.2} | 3 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus dan kokus |
| HTcUM₁₀ | 2 kali | Seragam dan murni | Basilus |
| HTcUM ₁₁ | 2 kali | Belum seragam dan belum murni | Basilus |

Tabel 3. Hasil Seleksi pada Isolat HTcUM₃₋₉ yang Belum Murni


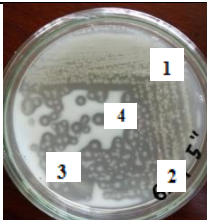


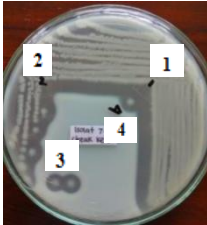

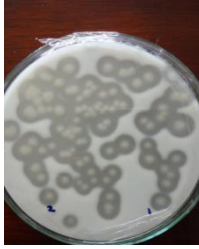
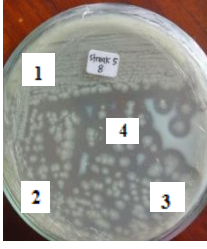
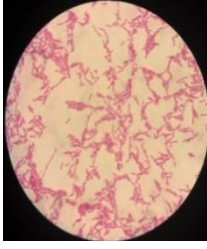

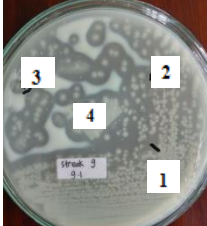
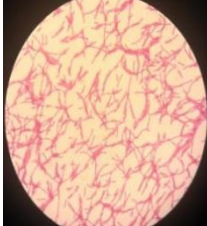
| Isolat | Nilai Indeks Proteolitik Hari Ke 2 | Gambar |
|------------------------|------------------------------------|--|
| HTcUM ₃ | 0 |  |
| HTcUM ₅ | - | - |
| HTcUM _{6.1.1} | 2,1 |  |
| HTcUM _{6.1.2} | 1,3 |  |
| HTcUM _{7.1} | 2,9 |  |
| HTcUM _{7.2} | 1,8 |  |
| HTcUM ₈ | 2,3 |  |
| HTcUM _{9.1} | 2,8 |  |
| HTcUM _{9.2} | 1,8 |  |

Isolat HTcUM₅ diduga telah mati sejak dari biakan induk, (2) kelompok berpotensi sedang, yaitu isolat HTcUM_{6.1.2}, HTcUM_{7.2}, dan HTcUM_{9.2}. Isolat HTcUM_{6.1.2}, HTcUM_{7.2}, dan HTcUM_{9.2} dimasukkan dalam kelompok berpotensi sedang karena isolat ini menghasilkan nilai indeks proteolitik ≤ 2 . (3) kelompok berpotensi tinggi, yaitu isolat HTcUM_{6.1.1}, HTcUM_{7.1}, HTcUM₈, dan HTcUM_{9.1}. Isolat HTcUM_{6.1.1}, HTcUM_{7.1}, HTcUM₈, dan HTcUM_{9.1} dimasukkan dalam kelompok berpotensi tinggi karena isolat ini menghasilkan nilai indeks proteolitik ≥ 2 . Isolat dengan potensi tinggi selanjutnya dipilih sebagai kandidat isolat potensial yaitu isolat HTcUM_{6.1.1}, HTcUM_{7.1}, HTcUM₈, dan HTcUM_{9.1}.

Permurnian dilakukan dengan menumbuhkan kandidat isolat potensial HTcUM_{6.1.1}, HTcUM_{7.1}, HTcUM₈, dan HTcUM_{9.1} pada media susu skim agar dengan metode gores empat kuadran yaitu kuadran 1,2,3 dan 4, hasil goresan diinkubasi selama 48 jam sampai koloni bakteri tumbuh. Koloni bakteri yang tumbuh diamati bentuknya apakah sudah seragam atau belum, jika koloni bakteri belum seragam maka dapat dipastikan isolat tersebut belum murni dan perlu dilakukan metode gores pada media susu skim agar kembali sampai diperoleh koloni bakteri yang seragam. Jika sudah diperoleh koloni bakteri yang seragam, selanjutnya dilihat apakah koloni tersebut tumbuh pada semua kuadran atau tidak. Koloni bakteri harus tumbuh pada semua kuadran untuk melihat bentuk sel pada tiap-tiap kuadran 1,2,3 dan 4 apakah sudah seragam atau belum. Jika koloni telah tumbuh pada semua kuadran, hasil goresan dilihat apakah pada kuadran empat

koloni bakteri sudah memisah satu-persatu atau belum, jika belum maka perlu dilakukan metode gores pada media susu skim agar kembali. Koloni bakteri harus memisah pada kuadran empat agar dapat diambil satu koloni untuk dipastikan kemurnian satu koloni tersebut dengan pewarnaan Gram. Hasil pemurnian isolat terpilih terdapat pada Tabel 4.

Tabel 4. Ringkasan Konfirmasi Kemurnian Isolat Potensial Terpilih

| Biakan Awal (Metode Sebar) | Jumlah Tahap Pemurnian | Hasil Pemurnian (Metode Gores) | Konfirmasi Kemurnian dengan Pewarnaan Gram (Kuadran 4) | Karakteristik Sel Bakteri Isolat Murni |
|---|------------------------|---|--|--|
|  HTcUM _{6.1.1} | 7 kali |  |  | Gram negatif Basil berantai |
|  HTcUM _{7.1} | 8 kali |  |  | Gram negatif Basil berantai |
|  HTcUM ₈ | 7 kali |  |  | Gram negatif Basil tunggal |
|  HTcUM _{9.1} | 11 kali |  |  | Gram negatif Basil berantai |

Konfirmasi nilai indeks proteolitik isolat murni dilakukan dengan tujuan untuk menentukan isolat potensial berdasarkan nilai indeks proteolitik tertinggi dari semua isolat yang telah dimurnikan yang akan diproduksi di media cair. Hasil pengukuran indeks proteolitik isolat murni tahap satu dan dua dapat dilihat pada Tabel 5, diperoleh delapan isolat bakteri proteolitik yang potensial yaitu empat

isolat hasil pemurnian tahap satu yaitu HTcUM₂, HTcUM_{6.2.1}, HTcUM_{6.2.2}, dan HTcUM₁₀ dengan nilai indeks proteolitik masing-masing sebesar 2,67; 2,75; 2,40; dan 3,00 serta empat isolat potensial dari pemurnian tahap dua yaitu HTcUM_{6.1.1}, HTcUM_{7.1}, HTcUM₈, dan HTcUM_{9.1} dengan nilai proteolitik masing-masing sebesar 2,70; 2,40; 3,30; dan 2,30. Terdapat dua isolat yang memiliki nilai indeks proteolitik di atas 3,00 yaitu HTcUM₈ sebesar 3,30 dan HTcUM₁₀ sebesar 3,00, diduga kedua isolat ini memiliki kemampuan menghasilkan protease dengan aktivitas dan jumlah tinggi.

Tabel 5. Indeks Proteolitik Isolat Murni Bateri Proteolitik dari Tauco

| Isolat Murni | Nilai Indeks Proteolitik |
|------------------------|--------------------------|
| HTcUM ₂ | 2,67 |
| HTcUM _{6.2.1} | 2,75 |
| HTcUM _{6.2.2} | 2,40 |
| HTcUM ₁₀ | 3,00 |
| HTcUM _{6.1.1} | 2,70 |
| HTcUM _{7.1} | 2,40 |
| HTcUM ₈ | 3,30 |
| HTcUM _{9.1} | 2,30 |

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suspensi tauco dari Surabaya yang diuji memiliki pH 5,0 dan kadar protein sebesar 31 mg/mL, diperoleh 21 isolat bakteri proteolitik dengan karakter morfologi koloni yang berbeda. Sebanyak 8 kandidat isolat bakteri proteolitik yang potensial telah berhasil dimurnikan. Dua isolat merupakan bakteri proteolitik potensial dengan nilai indeks proteolitik diatas 3,0 yaitu HTcUM₈ (3,30) dan HTcUM₁₀ (3,0).

DAFTAR RUJUKAN

- Bollag, D.M., Rozycki, M.D., & Edelstein, S. I. 1996. *Protein Methods 2nd Ed.* New York: John Willey and Sons.
- Chantawannakul, P., Oncharoen, A., Klanbut, K., Chukeatirote, E., & Lumyong, S. 2002. Characterization of Proteases of *Bacillus subtilis* Strain 38 Isolated from Traditionally Fermented Soybean in Northern Thailand. *ScienceAsia*, 28: 241–245.
- Cho, S.J., Oh, S.H., Pridmore, R.D., Juillerat, M.A., & Lee, C. H. 2003. Purification and Characterization of Proteases from *Bacillus amyloliquefaciens* Isolated from Traditional Soybean Fermentation Starter. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26): 7664–7670.
- Koswara, S. 1992. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu.* Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.

Pelczar, M.J.Jr. & Chan, E.C.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press.

Suprpti, L. 2003. *Pembuatan Tempe*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Susanti, E., Suharti, Chusniyah, N & Paramitha, S.T.A. 2017. *The Isolation and Screening of Proteolytic Bacteria of Terasi Sidoarjo as Protease Candidat for Extraction of Collagen Protein from Milky Fish Scale*, disajikan dalam The 1st Annual International Conference on Mathematics, Science and Education (ICOMSE) at Graha Cakrawala, East Java Indonesia, 29-30 Agustus 2017.

Sutandi, C. 2003. *Analisis Potensi Enzim Protease Lokal*. Disertasi tidak diterbitkan. Bogor: Fakultas Pertanian IPB (Institut Pertanian Bogor).