

**Abstract.** *Wadi is a sort of traditional foods that made of fish from Dayak tribe in Central Kalimantan. Wadi is made by the addition of salt and lumu. People make wadi as a supply of side dishes during difficult seasons of fish and stock for farming, hunting, or collecting forest products. In wadi, there are several bacteria species that capable in degrading amyllum and protein. The bacteria capability in amyllum and protein degradation can be determined by calculating the hydrolysis index. The aims of this study are to: (1) identify the amylyolytic bacteria and proteolytic bacteria species from wadi, (2) determine the amyllum and protein hydrolysis index on each amylyolytic bacteria and proteolytic bacteria species isolated from wadi, and (3) determine the amylyolytic bacteria and proteolytic bacteria species that have the highest hydrolysis index. This research is descriptive explorative research. The research results showed that: (1) there were four isolates of amylyolytic bacteria isolated from wadi, i.e: Enterobacter agglomerans, Pseudomonas fluorescens, Acinetobacter baumannii, and Micrococcus varians, and there were five species of isolated proteolytic bacteria from wadi, i.e: Enterobacter agglomerans, Pseudomonas fluorescens, Nitrococcus mobilis, Acinetobacter baumannii, and Micrococcus varians, (2) the amyllum hydrolysis index of Enterobacter agglomerans is 3.77; on Pseudomonas fluorescens is 3.00; on Acinetobacter baumannii is 4.16; and on Micrococcus varians is 7.23. The protein hydrolysis index of Enterobacter agglomerans is 3.22; on Pseudomonas fluorescens is 2.25; on Nitrococcus mobilis is 1.67; on Acinetobacter baumannii is 3.42; and on Micrococcus varians is 3.45, (3) Micrococcus varians has the highest amyllum, i.e: 7.23 and protein hydrolysis index is 3.45.*

**Keywords:** *hydrolysis index, amylyolytic bacteria, proteolytic bacteria, wadi.*

**Hesti Nur Choirunnisa**  
Universitas Negeri Malang  
Indonesia  
**Ria Yustika Sari**  
Universitas Negeri Malang  
Indonesia  
**Utami Sri Hastuti**  
Universitas Negeri Malang  
Indonesia  
**Agung Witjoro**  
Universitas Negeri Malang  
Indonesia

## Identifikasi dan Uji Kemampuan Hidrolisis pada Bakteri Amilolitik dan Proteolitik yang Diisolasi dari Wadi, Makanan Khas Kalimantan Tengah

**Hesti Nur Choirunnisa**  
**Ria Yustika Sari**  
**Utami Sri Hastuti**  
**Agung Witjoro**

**Abstrak.** *Wadi adalah sejenis makanan tradisional yang terbuat dari ikan dari suku Dayak di Kalimantan Tengah. Wadi dibuat dengan penambahan garam dan lumu. Orang menjadikan wadi sebagai persediaan lauk selama musim-musim sulit ikan dan persediaan untuk bertani, berburu, atau mengumpulkan hasil hutan. Di wadi, ada beberapa spesies bakteri yang mampu mendegradasi amilum dan protein. Kemampuan bakteri dalam amilum dan degradasi protein dapat ditentukan dengan menghitung indeks hidrolisis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk: (1) mengidentifikasi bakteri amilolitik dan spesies bakteri proteolitik dari wadi, (2) menentukan indeks hidrolisis amilum dan protein pada setiap bakteri amilolitik dan spesies bakteri proteolitik yang diisolasi dari wadi, dan (3) menentukan bakteri amilolitik dan spesies bakteri proteolitik yang memiliki indeks hidrolisis tertinggi. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksploratif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: (1) ada empat isolat bakteri amilolitik yang diisolasi dari wadi, yaitu: Enterobacter agglomerans, Pseudomonas fluorescens, Acinetobacter baumannii, dan Micrococcus varians, dan ada lima spesies isolat bakteri proteolitik dari wadi, yaitu: Enterobacter agglomerans, Pseudomonas fluorescens, Nitrococcus mobilis, Acinetobacter baumannii, dan Micrococcus varians, (2) indeks hidrolisis amilum Enterobacter agglomerans adalah 3,77; pada Pseudomonas fluorescens adalah 3,00; pada Acinetobacter baumannii adalah 4,16; dan varian Micrococcus adalah 7,23. Indeks hidrolisis protein Enterobacter agglomerans adalah 3,22; pada Pseudomonas fluorescens adalah 2,25; pada Nitrococcus mobilis adalah 1,67; pada Acinetobacter baumannii adalah 3,42; dan pada varian Micrococcus adalah 3,45, (3) varian Micrococcus memiliki amilum tertinggi, yaitu: 7,23 dan indeks hidrolisis protein adalah 3,45.*  
**Kata kunci:** *indeks hidrolisis, bakteri amilolitik, bakteri proteolitik, wadi.*

### Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman budaya dan makanan tradisional. Setiap daerah yang ada di Indonesia memiliki ciri khas masing-masing dalam mengolah sumber daya alam. Kalimantan Tengah adalah salah satu daerah yang memanfaatkan sumber daya alam berupa ikan menjadi produk pangan tradisional yang disebut wadi. Wadi merupakan salah satu produk makanan tradisional yang sangat disukai di Kalimantan Tengah dan Kalimantan Selatan (Restu, 2014). Wadi adalah produk fermentasi ikan atau daging yang diproses secara tradisional, adapun jenis ikan yang umum digunakan masyarakat yaitu ikan air tawar seperti: ikan patin, ikan nila, ikan gabus, ikan jelawat, ikan baung, ikan tapah, ikan kelabau, dan ikan papuyu (Dewi *et al.*, 2015). Wadi berwarna agak hitam, bertekstur kenyal dengan aroma khas ikan atau daging fermentasi serta mempunyai rasa yang asin dan masam. Wadi diolah dengan cara penggaraman kering dalam suatu wadah tertutup rapat

dengan konsentrasi garam yang tinggi (> 25%) yang diperam pada suhu kamar selama 7 × 24 jam salah satu ikan sampai beberapa bulan (Khairina & Khotimah, 2006). Masyarakat Suku Dayak membuat wadi sebagai persediaan lauk pauk saat musim sulit mendapat ikan dan sebagai bekal berladang, berburu, serta bekal saat mengumpulkan hasil hutan.

Fermentasi yang terjadi dalam proses pembuatan wadi merupakan fermentasi spontan. Fermentasi spontan merupakan fermentasi yang terjadi secara langsung tanpa penambahan *starter* karena lingkungan alami mendukung pertumbuhan mikroorganisme fermentor. Fermentasi pada ikan umumnya dilakukan dengan menambahkan garam untuk menyeleksi mikroorganisme yang dikehendaki (Desniar dkk., 2009). Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi dapat terdiri dari bakteri, khamir atau kapang (Caplice & Fitzgerald, 1999).

Peran berbagai spesies bakteri dalam proses fermentasi wadi, di antaranya ada yang mampu mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Senyawa-senyawa yang lebih sederhana akan lebih mudah diserap nutrisinya di dalam sistem pencernaan, sehingga penyerapan nutrisi lebih optimal.

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengidentifikasi spesies-spesies bakteri amilolitik dan proteolitik yang berasal dari wadi, (2) menghitung indeks hidrolisis amilum dan indeks hidrolisis protein pada tiap spesies bakteri amilolitik dan spesies bakteri proteolitik yang diisolasi dari wadi, dan (3) menentukan spesies bakteri amilolitik dan spesies bakteri proteolitik yang mempunyai indeks hidrolisis tertinggi.

## Metode Penelitian

### *Isolasi Bakteri yang Terdapat dalam Wadi*

Masing masing sampel wadi diambil 10 gram sehingga diperoleh 30 gram sampel, kemudian dilarutkan dalam 90 mL larutan air pepton 0,1% sehingga diperoleh larutan sampel pada tingkat pengenceran  $10^{-1}$ . Setelah itu, dilakukan pengenceran secara bertingkat sehingga diperoleh pengenceran pada tingkat  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$ . Suspensi dipercikkan diatas medium PCA sebanyak 0,1 ml, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C, selama 1 x 24 jam. Masing-masing koloni bakteri yang tumbuh kemudian diisolasi pada medium miring NA dan diinkubasikan pada suhu 37°C, selama 1 x 24 jam.

### *Penentuan Bakteri Amilolitik*

Masing-masing isolat bakteri yang telah diisolasi, diinokulasikan pada medium Amilum Agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 × 24 jam. Medium AA yang sudah ditumbuhi oleh bakteri kemudian, ditetesi dengan larutan iodium. Bakteri yang mampu menghidrolisis amilum akan membentuk zona bening di sekeliling koloni bakteri.

### *Penentuan Bakteri Proteolitik*

Masing-masing isolat bakteri yang telah diisolasi, diinokulasikan pada medium *Skim Milk Agar* (SMA), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Bakteri yang mampu menghidrolisis protein (proteolitik) akan membentuk zona bening di sekeliling koloni bakteri.

### *Identifikasi Bakteri Amilolitik dan Bakteri Proteolitik*

Identifikasi bakteri amilolitik dan bakteri proteolitik dilakukan menggunakan *Microbact TM GNB 12 A/B/E, 24E Identification Kits*, untuk menentukan nama spesies bakteri amilolitik dan bakteri proteolitik yang ditemukan pada wadi.

*Pengujian Indeks Hidrolisis Amilum dan Protein*

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri amilolitik pada medium AA dan bakteri proteolitik pada medium SMA dengan menggunakan metode cawan gores kuadran, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 × 24 jam. Bakteri amilolitik diamati dengan menambahkan larutan iodium pada medium. Indeks hidrolisis amilum dan protein dapat diketahui berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk pada medium tersebut. Indeks hidrolisis amilum dan protein, masing-masing ditentukan berdasarkan hasil bagi antara diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri. Cara menghitung indeks hidrolisis amilum yaitu (Sumardi dkk, 2010):

$$\text{Indeks hidrolisis amilum} = \frac{\text{diameter zona bening bakteri}}{\text{diameter koloni bakteri}}$$

Sedangkan indeks hidrolisis protein dihitung dengan rumus berikut (Modifikasi dari Melliawati *et al.*, 2015).

$$\text{Indeks hidrolisis protein} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni}}$$

**Hasil dan Pembahasan**

Isolasi bakteri yang ditemukan pada wadi sebanyak sepuluh isolat koloni bakteri, kemudian diberi kode A, B, C, D, E, F, G, H, I, dan J. kesepuluh isolat tersebut kemudian diuji kemampuannya dalam menghidrolisis amilum dan protein (Tabel 1). Hasil uji kemampuan menghidrolisis amilum menunjukkan bahwa, isolat A, D, G, dan H bersifat amilolitik (Gambar 1), sedangkan hasil uji kemampuan menghidrolisis protein menunjukkan bahwasolatA, D, F, G, dan H bersifat proteolitik (Gambar 2).

**Tabel 1. Hasil seleksi bakteri amilolitik dan bakteri proteolitik pada wadi**

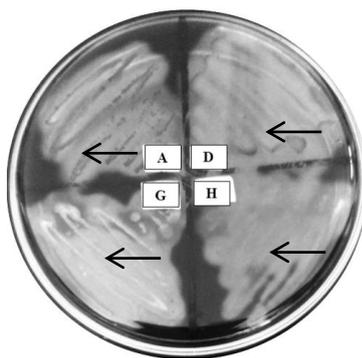
No	Kode Isolat	Sifat Amilolitik	Sifat Proteolitik
1	A	+	+
2	B	-	-
3	C	-	-
4	D	+	+
5	E	-	-
6	F	-	+
7	G	+	+
8	H	+	+
9	I	-	-
10	J	-	-

Keterangan:

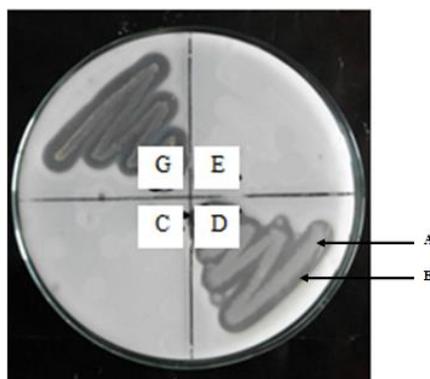
+ = bakteri amilolitik atau proteolitik

- = bukan bakteri amilolitik atau proteolitik

Bakteri yang tergolong amilolitik akan menghidrolisis amilum dalam medium AA yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri. Wahyudi dkk (2014), menjelaskan bahwa warna biru kehitaman ini terjadi bila molekul iodium masuk ke dalam molekul amilum yang berbentuk spiral ( $\alpha$ -heliks). Proses iodinisasi terjadi apabila amilum telah dirombak oleh enzim amilase menjadi maltosa dan glukosa, zona bening yang terbentuk pada sekitar koloni terjadi karena tidak terbentuk spiral pada molekul iodium dan amilum. Adanya zona bening setelah penetesan larutan iodium ke dalam medium menunjukkan adanya hidrolisis amilum



**Gambar 1.** Isolat A, D, G, dan H tergolong bakteri amilolitik yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri (panah merah) (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2017)



**Gambar 2.** Isolat bakteri yang mampu menghidrolisis protein atau bersifat proteolitik (a) koloni bakteri proteolitik, (b) zona bening di sekitar koloni bakteri proteolitik (sumber: dokumentasi pribadi, 2017)

Sifat proteolitik bakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri sebagai hasil dari pemutusan ikatan peptida protein menjadi peptida yang lebih kecil (Muharni dkk., 2013; Nurkasanah & Widodo, 2015). Kasein dalam susu skim merupakan protein susu yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium kalseinat sehingga berwarna putih. Susu skim tersebut juga membuat warna medium menjadi putih. Enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri menyebabkan kasein terhidrolisis menjadi asam amino yang larut sehingga warna putih menghilang dan terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri (Pakpahan, 2009). Hasil identifikasi bakteri amilolitik dan bakteri proteolitik yang ditemukan pada wadi menggunakan *Microbact™ GNB 12 A/B/E, 24E Identification Kits*, tersaji pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Spesies bakteri amilolitik dan bakteri proteolitik yang ditemukan pada wadi

No	Kode Isolat	Nama Spesies
1	A	<i>Enterobacter agglomerans</i>
2	D	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
3	F	<i>Nitrococcus mobilis</i>
4	G	<i>Acinetobacter baumannii</i>
5	H	<i>Micrococcus varians</i>

*Enterobacter agglomerans* setelah uji hidrolisis amilum diketahui tergolong bakteri amilolitik. Hal ini juga dibuktikan oleh Sari (2014) dan Natsir dkk (2014), bahwa *Enterobacter agglomerans* termasuk bakteri penghasil enzim amilase yang dapat menghidrolisis amilum. *Enterobacter agglomerans* merupakan golongan bakteri gram negatif berbentuk batang yang memiliki panjang 1,2-3 $\mu$ m dan lebar 0,6-1,0 $\mu$ m (Bergey *et al.*, 1974).

*Enterobacter agglomerans* telah dilaporkan bersifat proteolitik karena mampu menghidrolisis protein (Rodarte *et al.*, 2011). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *E. agglomerans* bersifat proteolitik setelah ditumbuhkan pada medium *Skim Milk Agar* dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2x 24 jam. Sifat proteolitik *E. agglomerans* menunjukkan bahwa bakteri tersebut berperan dalam menyederhanakan protein wadi menjadi asam amino sehingga daya cerna protein dalam wadi meningkat.

Berdasarkan hasil penelitian *Pseudomonas fluorescens* tergolong bakteri amilolitik dan juga bakteri proteolitik. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Alariya *et al.* (2013), *P. fluorescens* bersifat amilolitik. Krzywy & Izewska (2004), juga menjelaskan bahwa bakteri *P. fluorescens* dapat menurunkan berbagai macam gula, asam amino, alkohol, dan asam humat atau pestisida. *P. fluorescens* membantu menghidrolisis amilum pada wadi menjadi lebih sederhana sehingga nutrisi dalam ikan patin yang dijadikan wadi menjadi meningkat. *P. fluorescens* memiliki ciri berbentuk basil, bersifat gram negatif (Wolejko *et al.*, 2015), koloni bakteri berwarna putih pada medium NA, elevasi koloni timbul (Soesanto *et al.*, 2011). *Pseudomonas fluorescens* dapat ditemukan pada susu mentah atau produk makanan lainnya (Burger *et al.*, 2000) dan juga diketahui memiliki peran sebagai biodegradasi di tanah dan rhizosfer (Scales *et al.*, 2014).

*Pseudomonas fluorescens* memiliki peran penting dalam biodegradasi senyawa organik yang terdapat dalam suatu lingkungan (Hamamoto *et al.*, 1994). *P. fluorescens* mendegradasi senyawa organik dengan bantuan enzim protease untuk mendegradasi protein. Hasil studi menunjukkan bahwa *P. fluorescens* bersifat proteolitik, dengan aktivitas proteolitik pada tahap akhir fase log pertumbuhannya (Pinto *et al.*, 2010).

*P. fluorescens* yang terdapat dalam wadi menunjukkan sifat proteolitik dengan membentuk zona bening di medium *Skim Milk Agar* (SMA) pada suhu 37°C dengan masa inkubasi 2 x 24 jam. Berdasarkan sifatnya, dapat diketahui bahwa *P. fluorescens* dalam wadi membantu biodegradasi senyawa organik, salah satu diantaranya yaitu protein yang terdapat dalam ikan patin menjadi senyawa peptida atau beberapa asam amino, sehingga wadi memiliki nutrisi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan segar dan lebih mudah dicerna.

*Nitrococcus mobilis* merupakan salah satu spesies bakteri pengoksidasi nitrit (Spieck & Bock, 2005). Informasi tentang bakteri *N. mobilis* serta peranannya dalam wadi belum ada hingga saat ini, namun dalam penelitian ini telah diperoleh informasi bahwa bakteri tersebut bersifat proteolitik. Berdasarkan informasi tersebut ada kemungkinan spesies bakteri *N. mobilis* berperan dalam meningkatkan daya cerna wadi, khususnya komponen protein yang diperlukan sebagai nutrisi pada manusia.

*Acinetobacter baumannii* memiliki sifat gram negatif (Elzbieta *et al.*, 2008), berbentuk basil (Howard *et al.*, 2012) atau kokobasil (Loehfelm *et al.*, 2008). Penelitian mengenai *Acinetobacter baumannii* sebagai bakteri amilolitik masih belum banyak dilakukan, tetapi beberapa spesies yang tergolong genus *Acinetobacter* memiliki aktivitas menghidrolisis amilum, salah satu diantaranya yaitu *Acinetobacter calcoaceticus* (Pascon *et al.*, 2011). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Onishi & Hidaka (1978), menyatakan bahwa *Acinetobacter* sp., mampu menghasilkan amilase dextrinogenik, sehingga mendukung hasil penelitian bahwa *Acinetobacter baumannii* yang dilakukan tergolong bakteri amilolitik. Hasil-hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa *Acinetobacter baumannii* dapat dimanfaatkan untuk menguraikan amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana yang memudahkan penyerapan nutrisi.

*Acinetobacter baumannii* telah dilaporkan memiliki aktivitas proteolitik (King *et al.*, 2013; Tilley *et al.*, 2014), namun belum diketahui peranannya dalam makanan, khususnya wadi. Pada penelitian ini diketahui bahwa bakteri *A. baumannii* bersifat proteolitik pada medium *Skim Milk*

Agar (SMA) yang diinkubasi pada suhu 37°C dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Sifat proteolitik tersebut menunjukkan bahwa *A. baumannii* juga berperan dalam hidrolisis protein pada wadi.

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa *Micrococcus varians* bersifat amilolitik. Penelitian yang dilakukan oleh Kobayashi *et al.*, (1986), mendukung hasil penelitian yang dilakukan penulis bahwa bakteri *Micrococcus varians* termasuk bakteri amilolitik, tetapi penelitian mengenai bakteri *Micrococcus varians* ini masih belum banyak dilakukan dan dipublikasikan, namun penelitian mengenai *Micrococcus* sp. dan *Micrococcus roseus* telah dilaporkan memiliki aktivitas amilolitik. Penelitian yang dilakukan oleh Khire (2008), menunjukkan bahwa *Micrococcus* sp menghasilkan amilase ekstraseluler pada medium dedak gandum, pepton, ekstrak daging sapi, dan natrium klorida. Bakteri *Micrococcus roseus* (*Staphylococcus roseus*) yang diisolasi pada nira dan laru menunjukkan aktivitas amilolitik (Naiola, 2008). *Micrococcus varians* memiliki ciri-ciri berbentuk kokus, berdiameter 0,5-2,0 µm, gram positif. *Micrococcus varians* memiliki karakteristik dapat memberikan warna dan rasa pada produk fermentasi (Miranda *et al.*, 1999).

*Micrococcus varians* merupakan bakteri yang biasa ditemukan dalam starter untuk fermentasi daging. *M. varian* berperan untuk membentuk warna dan cita rasa yang khas (Miranda *et al.*, 1999). Hal tersebut juga didukung oleh pendapat Khairina & Khotimah (2006) dalam penelitiannya mengenai wadi dari ikan betok (*Anabas testudineus* Bloch) menyatakan bahwa rasa yang khas pada wadi sebagai salah satu produk fermentasi disebabkan oleh adanya degradasi protein dan lemak pada substrat. Hasil studi tersebut menunjukkan bahwa *M. varians* memiliki sifat proteolitik, artinya mempunyai kemampuan menghidrolisis protein dalam wadi. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa *M. varians* yang terbukti bersifat proteolitik.

Hasil perhitungan indeks hidrolisis amilum menunjukkan bahwa dari keempat isolat tersebut memiliki indeks hidrolisis amilum yang berbeda yaitu: bakteri *Micrococcus varians* memiliki indeks hidrolisis amilum tertinggi yaitu, 7.23, sedangkan *Pseudomonas fluorescens* menunjukkan indeks hidrolisis amilum terendah yaitu 3.00. Hasil indeks hidrolisis amilum pada bakteri *Acinetobacter baumannii* yaitu sebesar 4.16 dan bakteri *Enterobacter agglomerans* adalah 3.77 (Tabel 3). Hasil penghitungan menunjukkan bahwa nilai indeks hidrolisis protein dari lima spesies bakteri tersebut berkisar antara 1.67 – 3.45. Nilai indeks hidrolisis protein tertinggi dihasilkan oleh *Micrococcus varians* yaitu 3.45; sedangkan nilai indeks hidrolisis protein terendah dimiliki oleh *Nitrococcus mobilis* yaitu 1.67. Hasil penghitungan indeks hidrolisis protein oleh masing-masing spesies bakteri tersaji pada Tabel 4.

**Tabel 3. Hasil pengukuran indeks hidrolisis bakteri amilolitik**

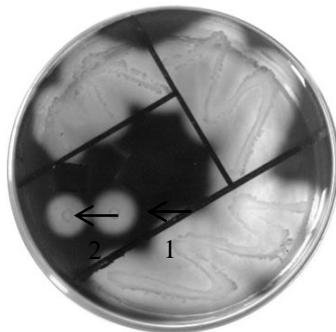
Kode Isolat	Ulangan	Diameter Koloni (cm)	Diameter Zona Bening (cm)	Indeks Hidroli-sis
A ( <i>Enterobacter agglomerans</i> )	1	0.34	1.49	4.45
	2	0.82	2.88	3.51
	3	0.85	2.85	3.35
	Rerata			3.77
D ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> )	1	0.54	2.08	3.84
	2	0.78	2.33	3.01
	3	1.10	2.37	2.15
	Rerata			3.00
G ( <i>Acinetobacter baumannii</i> )	1	0.25	1.15	4.69
	2	0.28	1.07	3.87
	3	0.30	1.17	3.90
	Rerata			4.16
H ( <i>Micrococcus varians</i> )	1	0.18	1.11	6.34
	2	0.13	0.91	7.00
	3	0.18	1.50	8.33
	Rerata			7.23

Tabel 4. Indeks hidrolisis protein bakteri proteolitik

Kode Isolat	Ulangan	Diameter Koloni (cm)	Diameter Zona Bening (cm)	Indeks Hidrolisis
A ( <i>Enterobacter agglomerans</i> )	1	0.59	1.25	2.14
	2	0.29	0.88	3.09
	3	0.27	1.20	4.44
	Rerata			3.22
D ( <i>Pseudomonas fluorescens</i> )	1	0.80	1.53	1.91
	2	0.88	1.48	1.69
	3	0.36	1.13	3.17
	Rerata			2.25
F ( <i>Nitrococcus mobilis</i> )	1	0.12	0.22	1.83
	2	0.15	0.20	1.33
	3	0.15	0.28	1.83
	Rerata			1.67
G ( <i>Acinetobacter baumannii</i> )	1	0.30	1.04	3.47
	2	0.22	0.78	3.55
	3	0.21	0.68	3.24
	Rerata			3.42
H ( <i>Micrococcus varians</i> )	1	0.13	0.26	2.00
	2	0.12	0.64	5.29
	3	0.09	0.28	3.06
	Rerata			3.45

Penelitian yang dilakukan oleh Alariya *et al*, (2013), menunjukkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* memiliki aktivitas indeks hidrolisis amilum tertinggi dibandingkan dengan *Bacillus subtilis* dan *E. coli*. Produksi amilase yang tinggi ditemukan pada genus *Aeromonas* dan genus *Pseudomonas* (Cyrino *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Sari (2014), bakteri *Enterobacter agglomerans* memiliki kemampuan lebih tinggi dalam menghidrolisis amilum dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Sedangkan, pada bakteri *Acinetobacter baumannii* dan bakteri *Micrococcus varians* masih belum banyak yang melakukan penelitian mengenai hidrolisis amilum. Amilum yang dihidrolisis oleh bakteri *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Micrococcus varians* menjadi senyawa yang lebih sederhana ini dapat membantu sistem pencernaan makanan dalam usus.

Kelima spesies bakteri proteolitik yang terisolasi dari wadi, yaitu *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Nitrococcus mobilis*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Micrococcus varians*, secara bersama-sama menghasilkan enzim untuk menghidrolisis protein dalam wadi menjadi asam amino dan membentuk cita rasa serta aroma yang khas. Asam amino yang terbentuk mempunyai struktur lebih sederhana, sehingga lebih mudah dicerna dan diserap oleh usus halus sehingga daya cerna zat gizi dalam wadi meningkat, khususnya protein.

Gambar 3. *Acinetobacter baumannii*.

Keterangan: Panah nomor 1 menunjukkan zona bening disekitar koloni bakteri dan panah nomor 2 menunjukkan koloni bakteri (Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2017).

Berbagai spesies bakteri amilolitik yang terisolasi dari wadi mempunyai prospek dimanfaatkan dalam bidang pengolahan pangan yang lain dalam upaya penganeekaragaman pangan dan industri, sehingga dapat meningkatkan daya guna dari bakteri amilolitik. Amilase sudah diaplikasikan dalam sejumlah proses industri seperti industri makanan, fermentasi, farmasi/kesehatan (Souza & Magalhaes, 2010) dan lingkungan (Lévêque, *et al.*, 2000). Amilase dapat berfungsi sebagai penyedia gula hidrolisis, yang banyak digunakan untuk pembuatan produksi sirup glukosa atau sirup fruktosa yang mempunyai tingkat kemanisan tinggi (Lévêque, *et al.*, 2000), produksi sirup glukosa (Yunianta dkk, 2010). Wirawan dkk (2008), dalam penelitiannya menggunakan enzim amilase sebagai proses pemutihan kertas bekas dan Sebayang (2005), menggunakan amilase dalam menghidrolisis molekul pati dalam proses pembuatan makanan berbahan dasar pati menjadi maltosa ataupun glukosa. Amilase juga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan roti dan makanan bayi.

Berdasarkan kandungan gizi dalam wadi, masyarakat dapat memenuhi kebutuhan nutrisi. Wadi diharapkan dapat memenuhi upaya ketahanan bagi masyarakat, berbasis pada kearifan lokal Suku Dayak berdasarkan nutrisinya. Wadi juga diharapkan dapat disosialisasikan ke seluruh masyarakat Indonesia sebagai salah satu upaya pengawetan ikan serta pemenuhan nutrisi untuk masyarakat. Adanya berbagai penelitian dan sosialisasi tentang wadi diharapkan dapat membuka wawasan dan menjaga kelestarian wadi sebagai salah satu warisan budaya di Kalimantan Tengah.

## **Kesimpulan**

Beberapa kesimpulan yang dapat diambil setelah dilakukan penelitian ini, meliputi: Hasil penelitian menunjukkan terdapat empat spesies bakteri amilolitik yaitu, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Micrococcus varians*. Bakteri proteolitik yang terisolasi dari wadi terdapat lima spesies bakteri, yaitu *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Nitrococcus mobilis*, *Acinetobacter baumannii*, dan *Micrococcus varians*. Hasil penghitungan menunjukkan bahwa nilai indeks hidrolisis amilum *Enterobacter agglomerans* sebesar 3.77; *Pseudomonas fluorescens* sebesar 3.00; *Acinetobacter baumannii* sebesar 4.16; dan *Micrococcus varians* sebesar 7.23, dan indeks hidrolisis protein *Enterobacter agglomerans* sebesar 3.22; *Pseudomonas fluorescens* sebesar 2.25; *Nitrococcus mobilis* sebesar 1.67; *Acinetobacter baumannii* sebesar 3.42; dan *Micrococcus varians* sebesar 3.45. *Micrococcus varians* mempunyai indeks hidrolisis amilum tertinggi yaitu 7.23 dan indeks hidrolisis protein tertinggi yaitu 3.45.

## **Ucapan Terima Kasih**

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Indah Sri Dewi, S.Pd., M.Pd yang sudah mengijinkan melanjutkan penelitiannya.

## **Referensi**

- Alariya, S.S., Sethi, S., Gupta, S., & Gupta, B.L. (2013). Amylase Activity of a Starch Degrading Bacteria Isolated from Soil. *Archives of Applied Science Research*, 5 (1), 15-24.
- Bergey, D.H., Buchanan, R.E., & Gibbons, N.E. (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (8<sup>th</sup> Ed.). Baltimore: Williams and Wilkins Co.

- Burger, M., Woods, R.G, McCarthy, C & Beacham, I.R. (2000). Temperature Regulation of Proteases in *Pseudomonas fluorescens* LS107d2 by an ECF Sigma Factor and a Transmembrane Activator. *Microbiology* 146, 3149–3155.
- Caplice, E. & Fitzgerald, G. F. (1999). Food Fermentations: Role of Microorganisms in Food Production and Preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149.
- Cyrino, J.E.P., Bureau, D.P., & Kapoor, B.G. (2008). *Feeding and Digestive Functions of Fishes*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC.
- Desniar, Poernomo, D. & Wijatur, W. (2009). Pengaruh Konsentrasi Garam Pada Pedas Ikan Kembung (*Rastrelliger sp.*) dengan Fermentasi Spontan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 7 (1), 73-87.
- Dewi, I.S., Hastuti, U.S., Lestari, U., & Suwono, H. (2015). *Wadi: A Traditional Food of Dayak Ethnic at Central Borneo As An Effort of Food Warranty Based on The Local Wisdom*. Proceeding of 6th ICGRC.
- Elzbieta, K., Jagusztyn, K., & Wyszynska, A. (2008). The Decline of Antibiotic Era-New Approaches for Antibacterial Drug Discovery. *Polish Journal of Microbiology*, 57 (2), 91-98.
- Hamamoto, T., Kaneda, M., Horikoshi, K. & Kudo, T. (1994). Characterization of A Protease from A Psychrotroph, *Pseudomonas fluorescens* 114. *Applied and Environmental Microbiology*, 60 (10), 3878-3880.
- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R.D. (2012). *Acinetobacter baumannii* An Emerging Opportunistic Pathogen. *Virulence*, 3 (3), 243-250.
- Khairina, R & Khotimah, I.K. (2006). Studi Komposisi Asam Amino dan Mikroflora pada Wadi Ikan Betok. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 7 (2), 120-126.
- Khire, J. (2008). Production of Moderately Halophilic Amylase by Newly Isolated *Micrococcus sp.* 4 from A Salt-Pan. *Letters in Applied Microbiology*, 19 (4), 210-212.
- Kobayashi, T., Kamekura, M., Kanlayakrit, W., & Onishi, H. (1986). Production, Purification, and Characterization of an Amylase from the Moderate Halophilic *Micrococcus varians* sub Species Halophilus. *Microbios*, 46, 165-177.
- Krzywy, E & Iżewska A. (2004). *Gospodarka Ściekami i Osadami Ściekowymi*. Wyd. Szczecin: Akademii Rolniczej w Szczecinie.
- Lévêque, E., Janecêk, S., Haye, B., & Belarbi, A. (2000). Thermophilic Archaeal Amylolytic Enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, 26 (1), 3-14.
- Loehfelm, T.W., Luke, N.R., & Campagnari, A.A. (2008). Identification and Characterization of an *Acinetobacter baumannii* Biofilm-Associated Protein. *J. Bacteriol*, 190 (3), 1036-1044.
- Miranda, L.A.S., Anna, E.S.S, & Porto, A.C.S. (1999). The Growth of *Micrococcus varians* by Utilizing Sugar Cane Blackstrap Molasses as Substrate. *Revista de Microbiologia*, 30, 125-129.

- Muharni, Juswardi & Prihandayani, I. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Penghasil Protease dari Sumber Air Panas Tanjung Sakti Lahat Sumatera Selatan. *Jurnal FMIPA UNILA*, 1 (1),139-143.
- Naiola, E. (2008). Mikrobia Amilolitik pada Nira dan Laru dari Pulau Timor, Nusa Tenggara Timur. *Biodiversitas*, 9 (3), 165-168.
- Natsir, N.A.N., Natsir, H., & Dali, S. (2014, Mei). *Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri TermofilPenghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Panggo, Sulawesi Selatan*. Seminar Nasional Biokimia UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurkasanah, S. & Widodo. (2015). The Effect of Different Media Content on Protease Activity *Bacillus subtilis*. *Jurnal Biotropika*, 3 (2), 104-106.
- Onishi, H & Hidaka, O. (1978). Purification and Properties of Amylase Produced by A Moderately Halophilic *Acinetobacter sp.* *Can J Microbiol*, 24 (10), 17–23.
- Pakpahan, R. (2009). *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara*. Unpublished Master thesis, Pascasarjana Universitas Sumatera Utara.
- Pascon, R.C., Bergamo, R.F., Spinelli, R.X., de Souza, E.D., Assis, D.M., Juliano, L., & Vallim, M.A. (2011). Amyolytic Microorganism from São Paulo Zoo Composting: Isolation, Identification, and Amylase Production. *Enzyme Research*, SAGE-Hindawi Access to Research, 1-8.
- Pinto, U. M., Costa, E. D., Mantovani, H. C., & Vanetti, M. C. D. (2010). The Proteolytic Activity of *Pseudomonas fluorescens* 07A Isolated from Milk is Not Regulated by Quorum Sensing Signals. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 91-96.
- Reddy N.S., Nimmagadda, A., & Rao K.R.S.S. (2003). An Overview of The Microbial  $\alpha$ -Amylase Family. *African Journal of Biotechnology*, 2, 645-648.
- Restu. (2014). Pengaruh Penambahan Gula Aren (*Arenga pinnata* Wurmb Merrill) Terhadap Cita Rasa Wadi Ikan Patin (*Pangasius sp*). *Jurnal Ilmu Hewani Tropika*, 3 (1), 12-16.
- Rodarte, M. P., Dias, D.R., Vilela, D.M., & Schwan, R. F. (2011). Proteolytic Activities of Bacteria, Yeast and Filamentous Fungi Isolated from Coffe Fruit (*Coffea arabica* L.). *Maringá*, 33 (3), 457-464.
- Sari, M.P. (2014). *Isolation of Thermophilic Amyolytic Bacteria from Hot Pacet Mojokerto and Testing Amylase Enzyme Activity*. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Scales, B.S., Dickson, R.P., LiPuma, J.J., & Huffnagle, G.B. (2014). Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 27 (4), 927-948.
- Sebayang, F. (2005). Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim  $\alpha$ -Amilase dari *Aspergillus niger* dengan Menggunakan Media Campuran Onggok dan Dedak. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, 17 (5), 81-86.

- Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Rahayuniati, R.F. (2011). *Morphological and Physiological Features of Pseudomonas fluorescens P60*. Conference: The 4th Internasional Seminar of Indonesian Society for Microbiology.
- Souza, P.M. & Magalhães, P.O. (2010). Application of Microbial  $\alpha$ -Amylase in Industry-A Review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 850-861.
- Sumardi., Ekowati, C.N., & Haryani, D. (2010). Isolasi Bacillus Penghasil Selulase dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *Jurnal Sains MIPA*, 16 (1), 62-68.
- Sumardjo, D. (2009). *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta, Indonesia: Kedokteran EGC.
- Wahyudi, P., Rachmania, R.A., Ramdham, M., Sari, N., Nuriam, M.S., Hardi, D., & Purwanti, T. (2014). Isolasi Bakteri Amilolitik dan Optimasi Kondisi Fermentasi untuk Produksi Enzim  $\alpha$ -Amilase. *FARMASAINS*, 2 (3), 1-8.
- Wirawan, S.K., Rismijana, J., & Hidayat, T. (2008). Aplikasi  $\alpha$ Amilase dan Selulase pada Proses Deinking Kertas Campuran. *Berita Selulosa*, 43 (I), 11-18.
- Wołejko, E., Wydro, U., Łoboda., Tadeusz., & Piekut, J. (2015). Dynamics of Changes in Microorganisms in Rhizosphere Zone of Lawn Grasses in The Second Year After The Application of Sewage Sludge. *Journal of Ecological Engineering*, 16 (4), 126-132.
- Yunianta., Sulisty, T., Apriliastuti., Estiasih, T., & Wulan, S.N. (2010). Hidrolisis Secara Sinergis Pati Garut (*Marantha arundinaceae* L.) oleh Enzim  $\alpha$ Amilase, Glukoamilase, dan Pullulanase untuk Produksi Sirup Glukosa. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 11 (2), 78-86.

<b>Hesti Nur Choirunnisa</b>	Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Indonesia. E-mail: <a href="mailto:hestinurchoirunnisa@gmail.com">hestinurchoirunnisa@gmail.com</a>
<b>Ria Yustika Sari</b>	Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Indonesia. E-mail: <a href="mailto:hestinurchoirunnisa@gmail.com">hestinurchoirunnisa@gmail.com</a>
<b>Utami Sri Hastuti</b>	Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Indonesia E-mail: <a href="mailto:hestinurchoirunnisa@gmail.com">hestinurchoirunnisa@gmail.com</a>
<b>Agung Witjoro</b>	Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang,, Indonesia E-mail: <a href="mailto:hestinurchoirunnisa@gmail.com">hestinurchoirunnisa@gmail.com</a>