



PENGUJIAN SIFAT AMILOLITIK DAN PROTEOLITIK DARI ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) HASIL FERMENTASI AIR CUCIAN BERAS MERAH (*Oryza nivara*) KULTIVAR WAKAWONDU

[Testing Properties of Amylolytic and Proteolytic of Lactic Acid Bacteria (LAB) Isolates From Fermented Brown Rice Washing Water Cultivars of Wakawondu]

Nur Sakinah Adnan¹*, Sri Wahyuni¹), Andi Khaeruni R²)

¹Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Halu Oleo, Kendari

²Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo, Kendari

*Email: nursakinahadnan123@gmail.com (Telp: +6282210099815)

ABSTRACT

Brown rice (*Oryza nivara*) has high carbohydrate content. The high carbohydrate content is potential source of Lactic Acid Bacteria (BAL). This research aimed to get LAB isolate and to determine the characteristic properties of amylolytic and proteolytic of LAB from fermentation of red rice washing water. This research used experimental design consisted of characteristic properties test of amylolytic and proteolytic through clear zone measurement. Ten isolates of BAL have been obtained by isolation from fermentation of red rice washing water. Characteristics properties of amylolytic and proteolytic of BAL from fermentation of red rice washing water was obtained eight positive BAL isolates against starch hydrolysis test and seven positive BAL isolates on casein hydrolysis test. So it can be concluded that LAB from fermentation of red rice washing water can produce enzyme amylase and protease with clear zone diameter of 3.15 mm and 3.30 mm, respectively.

Keywords: Red rice, carbohydrates, LAB, amylolytic, proteolytic.

ABSTRAK

Beras merah (*Oryza nivara*) memiliki kandungan karbohidrat yang cukup tinggi. Kandungan karbohidrat yang cukup tinggi ini adalah potensial sebagai sumber bakteri asam laktat (BAL). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat BAL dan menentukan karakteristik sifat amilolitik dan proteolitik BAL dari fermentasi air cucian beras merah. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimen yang terdiri dari uji karakteristik sifat amilolitik dan proteolitik melalui pengukuran zona beningnya. 10 isolat BAL telah diperoleh hasil isolasi dari fermentasi air cucian beras merah. Karakteristik sifat amilolitik dan proteolitik BAL asal fermentasi air cucian beras merah diperoleh 8 isolat BAL positif terhadap uji hidrolisis pati dan 7 isolat BAL positif terhadap uji hidrolisis kasein. Sehingga dapat disimpulkan bahwa BAL hasil fermentasi air cucian beras merah dapat menghasilkan enzim amilase dan protease dengan diameter zona bening berturut-turut sebesar 3,15 mm dan 3,30 mm.

Kata kunci: Beras merah, karbohidrat, BAL, amilolitik, proteolitik.



PENDAHULUAN

Di Indonesia luas lahan pertanian beras merah sebesar 13.203.643 ha dengan jumlah produksi setiap tahun sebesar 65.756.904 ton (Badan Pusat Statistik Nasional, 2015). Sedangkan untuk Provinsi Sulawesi Tenggara mencapai 118.916 ha dengan produksi sebesar 491.567 ton. Salah satu kultivar beras merah di daerah Buton Utara Provinsi Sulawesi Tenggara yang banyak diproduksi yaitu kultivar *Wakawonda* dengan jumlah produksi mencapai 14.155 ton (Badan Pusat Statistik Sulawesi Tenggara, 2015).

Kandungan gizi beras merah terdiri atas protein 7,5 g, lemak 0,9 g, karbohidrat 77,6 g, kalsium 16 mg, fosfor 163 mg, zat besi 0,3 g, vitamin B1 0,21 mg dan antosianin (Indriyani *et al.*, 2013). Kandungan karbohidrat yang cukup tinggi ini adalah potensial sebagai sumber bakteri asam laktat (BAL) (Eni, 2015). Akan tetapi setelah mengalami proses pencucian, air cucian beras merah ini biasanya akan langsung dibuang karena dianggap sebagai limbah. Padahal air cucian beras merah masih terdapat karbohidrat yang terkikis selama proses pencucian berlangsung (Rachmat, 2007). Karbohidrat yang terbuang itu akan dirombak oleh mikroorganisme menjadi energi untuk aktivitasnya, serta sebagai media pertumbuhannya BAL melalui fermentasi (Eni, 2015).

BAL adalah Bakteri yang memiliki kontribusi yang besar dalam dunia pangan. Penggunaan BAL ini dikarenakan BAL disebut sebagai *food grade microorganisms* yang merupakan mikroba yang tidak beresiko terhadap kesehatan karena tidak menghasilkan racun berbahaya pada bahan pangan melainkan mempunyai fungsi sebaliknya yang baik bagi kesehatan (Ibrahim *et al.*, 2015). BAL yang memanfaatkan pati sebagai substratnya dikenal sebagai BAL amilolitik, sedangkan BAL yang memanfaatkan kasein sebagai substratnya dikenal sebagai BAL proteolitik. Amilase dan protease banyak dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi industri pangan dan non pangan karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya mudah diproduksi dalam skala besar, waktu produksi relatif pendek serta dapat diproduksi berkesinambungan dengan biaya yang relatif rendah (Naiola, 2002).

Penelitian tentang isolasi BAL amilolitik dan proteolitik telah banyak dilakukan terutama pada produk-produk daging mentah ataupun kalengan, produk susu (yoghurt, keju, dadih), produk fermentasi (tape, tempe, beer) dan yang diisolasi dari buah-buahan (Ibrahim *et al.*, 2015) serta sayur-sayuran (Purwohadisantoso *et al.*, 2009). Namun belum begitu banyak yang diisolasi dari limbah rumah tangga khususnya limbah hasil pencucian beras merah. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengisolasi BAL dari air cucian beras merah (*Oryza nivara*) serta mengidentifikasi kemampuan amilolitik dan proteolitiknya untuk keperluan pengembangan aplikasi khususnya pada bidang pangan.



BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: MRSA (*deMann Rogosa Sharpe Agar*) (*Himedia*), MRSB (*deMann Rogosa Sharpe Broth*) (*Himedia*), agar powder (*Merck*), starch (*Merck*), casein (*Merck*), yeast ekstrak (*Merck*), dextrose (*Merck*) dan tripton (*Merck*).

Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Peremajaan Isolat

Isolat bakteri tumbuh dengan cepat, sehingga harus diremajakan dalam satu medium yang mengandung nutrisi untuk kebutuhan pertumbuhannya. Caranya dengan memindahkan ulang isolat kedalam medium agar miring steril secara aseptis dengan jarum ose kemudian diinkubasi pada suhu sesuai habitat asal selama 2x24 jam.

2. Pembuatan Media Uji Sifat Amilolitik dan Proteolitik

Media uji hidrolisis pati adalah media yang digunakan untuk mengetahui mikroorganisme yang memiliki aktivitas amilolitik atau dapat menghidrolisis pati. Komposisi media amilolitik ini adalah MRS 5,22 g, pati 1 g, agar 2 g dalam 100 mL akuades. Media dipanaskan dengan menggunakan alat pemanas (*hot plate*) dan dihomogenkan dengan magnet pengaduk (*magnetic stirrer*). Media tersebut kemudian dituangkan kedalam botol *schoot*, dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas, dilanjutkan dengan sterilisasi menggunakan *autoclave* 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit (Lay, 1994).

Media uji hidrolisis kasein ini digunakan sebagai media seleksi bakteri proteolitik dapat menghidrolisis protein. Media ini terdiri atas media dasar (casein 2 g dan 25 mL akuades) dipasteurisasi dan emulsi protein (tripton 0,5 g, yeast ekstrak 0,25 g, dextrose 0,1 g, agar 2 g dan 75 mL akuades) disterilisasi. casein yang telah dipasteurisasi dan bahan-bahan yang telah disterilisasi langsung dicampurkan dalam keadaan steril. Media yang telah tercampur selanjutnya dituangkan kedalam cawan petri 5 mL, dibiarkan dingin lalu disimpan selama semalam didalam lemari es (Rusdwitasari *et al.*, 2014).

3. Uji Hidrolisis Pati

Uji hidrolisis pati dilakukan dengan mentotolkan satu ose BAL pada medium *Starch Agar*. Isolat bakteri diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kemudian diteteskkan beberapa tetes *Gram's iodine* pada biakan bakteri, dan diamati zona bening yang terbentuk (Zahidah *et al.*, 2013).



4. Uji Hidrolisis Kasein

Uji hidrolisis kasein dilakukan dengan mentotolkan satu ose BAL pada medium kasein. Setelah diinkubasi 48 jam pada suhu 37°C, disekitar isolat bakteri yang memiliki aktivitas protease akan terlihat zona bening (Zahidah *et al.*, 2013).

Metode

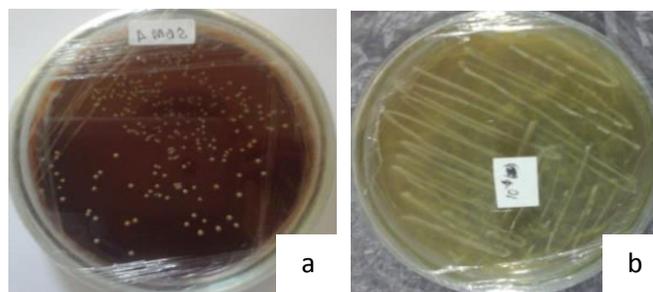
Penelitian ini menggunakan desain penelitian yang terdiri dari uji sifat amilolitik dan proteolitik dari isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar *Wakawondu* dan dianalisis secara deskriptif dengan mengkaji semua hasil karakterisasi sifat BAL, sehingga diperoleh gambaran atau keterangan karakteristik sifat BAL tersebut.

Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan pada penelitian ini yaitu uji karakteristik sifat Bakteri Asam Laktat (BAL) dari hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar *Wakawondu* yang meliputi uji amilolitik dan proteolitik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar *Wakawondu* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil isolasi BAL dari hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) (a: hasil isolasi BAL sebelum pemurnian, b: isolat BAL setelah pemurnian).

Pada penelitian ini diperoleh 10 isolat bakteri dari fermentasi air cucian beras merah. Isolat bakteri dipilih berdasarkan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri pada medium MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 sebanyak 0,3 %. Adapun kode masing-masing isolat yaitu SBM.2A, SBM.2B, SBM.2C, SBM.3A, SMB.3B, SMB.3C, SBM.3D, SBM.4A, SBM.4B, dan SMB.4C. Salah satu kriteria BAL adalah menghasilkan asam dan



indikasi tumbuhnya asam pada medium MRS agar yang ditambah CaCO_3 sebanyak 0,3% adalah adanya zona jernih disekitar isolat. Nurmalinda *et al.*, (2014) menyatakan bahwa zona jernih di sekitar koloni BAL terbentuk sebagai akibat penetralan oleh CaCO_3 terhadap asam yang dihasilkan oleh BAL. Penambahan CaCO_3 sebanyak 0,3% pada medium MRS agar berperan dalam seleksi tahap awal pada isolasi dan pemurnian BAL. Sunaryanto dan Marwoto (2012) menyatakan sifat basa yang dimiliki oleh kalsium karbonat (CaCO_3) mampu menetralkan dan melokalisasi produksi asam yang dihasilkan oleh BAL. Koloni BAL berbentuk bulat dan elips yang berwarna putih, kecil, dan tepian yang jelas dengan zona jernih yang terbentuk di sekeliling koloni.

Isolat BAL yang diperoleh dari penelitian ini berasal dari fermentasi air cucian beras merah kultivar *Wakawonda* yang diperoleh dari daerah Buton Utara. Air cucian beras merah hasil fermentasi ini kemudian ditumbuhkan pada media MRS agar yang ditambahkan CaCO_3 sebanyak 0,3%, sehingga didapat sebanyak 10 isolat BAL yang mampu tumbuh pada media tersebut. Hasil serupa diperoleh Susilawati (2016) melaporkan bahwa dari proses fermentasi air cucian beras putih diperoleh 8 isolat BAL, Aguswinarto (2016) melaporkan bahwa dari proses fermentasi *Wikau Maombo* diperoleh 11 isolat BAL, Purwohadisantoso *et al.*, (2009) melaporkan bahwa isolasi BAL dari sayur kubis diperoleh 8 isolat BAL sedangkan Kusumaningrum (2015) melaporkan bahwa dari proses pengolahan pati sagu diperoleh 36 isolat BAL.

Peremajaan biakan isolat BAL hasil fermentasi air cucian beras merah dilakukan dengan memindahkan atau memperbarui biakan bakteri dari biakan lama ke medium yang baru. Machmud (2001) menyatakan bahwa teknik peremajaan biakan merupakan cara paling tradisional yang digunakan peneliti untuk memelihara koleksi isolat mikroba di laboratorium. Peremajaan isolat ini juga bertindak untuk menyelamatkan isolat BAL hasil fermentasi air cucian beras merah dari kontaminasi bakteri lain dan memberikan penyegaran pada nutrient yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Peremajaan kultur bakteri dengan menggunakan medium segar yang sama seperti medium awal bertujuan untuk mempercepat fase adaptasi dan mempersiapkan sel pada fase eksponensial. Bakteri yang berada dalam fase eksponensial atau tahap propagasi ini mensintesis enzim dan mengatur aktivitasnya sehingga mampu tumbuh lebih efisien dalam kondisi baru. Media yang digunakan adalah Media MRS (*de Mann Rogosa Shape Agar*) merupakan medium yang umum digunakan untuk mengisolasi organism BAL dalam kultur murni.



Karakteristik Sifat Amilolitik dan Proteolitik Bakteri Asam Laktat (BAL)

Uji Hidrolisis Pati

Uji hidrolisis pati merupakan salah satu karakteristik sifat biokimia BAL. Uji hidrolisis pati ini digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu isolat BAL dalam menghasilkan enzim amilase. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media MRS agar yang ditambahkan dengan pati sebanyak 1% sebagai sumber karbohidrat. Hal ini dilakukan dengan tujuan memperoleh isolat yang bersifat amilolitik. Pada metode ini, digunakan larutan Iodine sebagai indikator adanya pemecahan pati menjadi glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis substrat oleh enzim α -amilase dari BAL (Kusumaningrum *et al.*, 2015).

Strain dengan kemampuan amilolitik akan menghidrolisis pati pada media di sekeliling tempat tumbuhnya dan dalam zona degradasi tidak terbentuk warna biru gelap, yang merupakan dasar deteksi dan seleksi *strain* amilolitik. Zona bening akan tampak setelah beberapa saat ditambahkan larutan iodine (Putri *et al.*, 2012). BAL yang dapat tumbuh dengan memanfaatkan pati yang ada pada medium akan memberikan zona jernih di sekitar tempat tumbuhnya. Sukarminah (2010) menyatakan bahwa reaksi positif hidrolisis amilum pada bakteri ditandai dengan tampaknya area jernih di sekitar pertumbuhan bakteri yang diinokulasi. Hal ini disebabkan pati yang ditumbuhi bakteri sudah terhidrolisis oleh enzim amilase menjadi glukosa. Adanya daerah jernih tersebut juga disebabkan eksoenzim dan organisme yang menghidrolisis amilum dalam medium agar.

Hasil uji menunjukkan bahwa 8 isolat bakteri asam laktat yang dihasilkan dari fermentasi air cucian beras merah yaitu isolat SBM.2A, SBM.2B, SBM.2C, SBM.3B, SBM.3C, SBM.3D, SBM.4A, dan SBM.4B. Bereaksi positif terhadap uji hidrolisis pati (Tabel 1), yang artinya 8 isolat tersebut dapat menghasilkan enzim amilase hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni BAL setelah beberapa saat ditambahkan larutan iodine. Hasil serupa juga diperoleh oleh kusumaningrum *et al.*, (2015) yang mengisolasi BAL dari pati sagu melaporkan bahwa terdapat 10 isolat yang menghasilkan zona bening pada medium MRS Agar yang ditambahkan pati sebanyak 1%, setelah ditetesi larutan iodine. BAL yang dapat tumbuh dengan memanfaatkan pati yang ada pada medium akan memberikan zona bening disekitar tempat tumbuhnya. Putri *et al.*, (2012) melaporkan bahwa isolasi BAL dari fermentasi growol diperoleh 13 isolat yang menghasilkan zona bening pada medium MRS Agar. Sedangkan Elvira (2016) melaporkan bahwa hasil uji hidrolisis pati yang diisolasi dari fermentasi *Wikau Maombo* diperoleh 8 isolat BAL, hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri asam laktat. Zona bening terbentuk karena adanya metabolit sekunder atau senyawa aktif antimikroba lainnya yang dihasilkan oleh isolat BAL ketika berada dalam fase mendekati kematian.



Degradasi pati oleh BAL terjadi karena sumber karbon dibutuhkan bagi pertumbuhannya sehingga bakteri menghasilkan enzim amilase ekstraselular. Enzim ini memecah ikatan polimer pati menjadi lebih pendek, oligosakarida atau molekul gula sederhana, sehingga uji iodin yang dilakukan menyebabkan terjadinya perubahan warna yang berbeda. Identifikasi diperkuat dengan hasil penggunaan iodin untuk mewarnai amilosa menunjukkan warna biru gelap, yang terjadi karena pembentukan kompleks. Kompleks tersebut terjadi akibat amilosa membentuk kumparan heliks disekeliling molekul iodin. Apabila polimer amilosa terputus menjadi lebih pendek maka terjadi perubahan ikatan kompleks dengan iodine sehingga warna menjadi lebih muda, merah, atau cokelat (Murphy, 2000). Hasil karakterisasi uji hidrolisis pati dari 10 isolat BAL yang dihasilkan dari fermentasi air cucian beras merah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil karakterisasi uji hidrolisis pati dari 10 isolat BAL yang dihasilkan dari proses fermentasi air cucian beras merah

No	Kode isolat	Aktivitas Amilolitik	Rata-Rata Indeks Amilolitik
1	SBM.2A	+	0,68
2	SBM.2B	+	1
3	SBM.2C	+	0,50
4	SBM.3A	-	-
5	SBM.3B	+	1,30
6	SBM.3C	+	1,37
7	SBM.3D	+	2,60
8	SBM.4A	+	3,15
9	SBM.4B	+	2,40
10	SBM.4C	-	-

Keterangan : SBM = Isolat bakteri asam laktat dari fermentasi air cucian beras merah

+ = Bereaksi positif terhadap uji hidrolisis pati

- = Bereaksi negatif terhadap uji hidrolisis pati

Uji Hidrolisis Kasein

Uji hidrolisis kasein merupakan salah satu karakteristik sifat biokimia BAL. Uji hidrolisis kasein ini digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu isolat BAL dalam menghasilkan enzim protease. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media padat yang ditambahkan dengan *casein* sebagai sumber protease. Hal ini dilakukan dengan tujuan memperoleh isolat yang bersifat proteolitik. Pada metode ini, digunakan *casein* untuk hidrolisis substrat protein yang terkandung dalam media padat oleh enzim protease yang dihasilkan oleh isolat BAL. Kasein merupakan protein susu yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kalsinat. Molekul ini sangat besar dan tidak larut dalam air serta membentuk koloid. Suspensi ini berwarna putih serta mampu diamati secara langsung saat disuspensikan dalam kultur media padat (Yuniati *et al.*, 2014).



Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri merupakan tanda hilangnya partikel kasein di media susu skim. Adanya enzim proteolitik ekstraseluler bakteri, kasein akan terhidrolisis menjadi peptidapeptida dan asam amino yang larut. Enzim ekstraseluler *Bacillus sp* sangat efisien dalam memecah berbagai senyawa karbohidrat, lipid dan protein rantai panjang menjadi unit-unit rantai pendek atau senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Yusufa *et al.*, 2014)

Menurut Vermelho *et al.* (1996) teknik seleksi mikroorganisme proteolitik dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai media padat yang mengandung substrat protein seperti kasein, gelatin, bovin serum albumin dan hemoglobin. Karena kemampuan suatu strain bakteri dalam menghasilkan protease sangat bervariasi tergantung dari komposisi media dan faktor lingkungan lainnya (Naiola dan Widhiyastuti, 2007).

Hasil karakterisasi uji hidrolisis kasein dari 10 isolat BAL yang dihasilkan dari fermentasi air cucian beras merah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil karakterisasi uji hidrolisis kasein dari 10 isolat BAL yang dihasilkan dari proses fermentasi air cucian beras merah.

No.	Kode isolat	Aktivitas protease	Rata-Rata Indeks proteolitik
1.	SBM.2A	-	-
2.	SBM.2B	-	-
3.	SBM.2C	+	2,7
4.	SBM.3A	+	3,3
5.	SBM.3B	+	2
6.	SBM.3C	+	1,92
7.	SBM.3D	+	2,15
8.	SBM.4A	+	1,8
9.	SBM.4B	+	1,3
10.	SBM.4C	-	-

Keterangan : SBM = Isolat bakteri asam laktat dari fermentasi air cucian beras merah

+ = Bereaksi positif terhadap uji hidrolisis kasein

- = Bereaksi negatif terhadap uji hidrolisis kasein

Hasil uji menunjukkan bahwa 7 isolat BAL yang dihasilkan dari fermentasi air cucian beras merah yaitu isolat SBM.2C, SBM.3A, SBM.3B, SBM.3C, SBM.3D, SBM.4A, dan SBM.4B, bereaksi positif terhadap uji yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar daerah pertumbuhan bakteri, dapat dilihat pada (Tabel 2). Hal ini memberikan informasi bahwa ketujuh isolat tersebut dapat menghasilkan enzim protease yang akan menguraikan protein menjadi peptida-peptida kecil dan asam amino penyusun protein tersebut dengan bantuan enzim protease atau peptidase, sedangkan 3 isolat BAL yaitu SBM.2A, SBM.2B dan SBM.4C bereaksi negatif terhadap uji protease, yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar koloni (Tabel 2), hal ini



menunjukkan bahwa 3 isolat tersebut tidak dapat menghasilkan enzim protease. Hasil serupa diperoleh Elvira (2016) melaporkan bahwa hasil uji protease yang diisolasi dari fermentasi *Wikau Maombo* diperoleh 7 isolat BAL, hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri asam laktat. Sedangkan Edlin, *et al.*, (2014) melaporkan bahwa hasil isolasi bakteri alkali proteolitik sumber air panas semurup kerinci jambi diperoleh 7 isolat bakteri yang menghasilkan enzim protease, dan Yuniati, *et al.*, (2014) juga melaporkan bahwa hasil isolasi bakteri proteolitik termofilik dari sumber air panas Singgagahan Tuban diperoleh 28 isolat bakteri yang menghasilkan enzim protease, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri pada media *skim milk*. Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni dikarenakan enzim protease yang dihasilkan dari bakteri proteolitik tersebut telah mampu mendegradasi substrat yang mengandung kasein yang terdapat pada media *skim milk*. Kasein terhidrolisis menjadi peptide dan asam amino yang larut (Noviyanti, 2013).

Terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada medium padat yang mengandung kasein karena adanya biosintesis enzim protease dalam sel, kemudian mensekresikannya ke lingkungan, sekresi tersebut menghidrolisis protein susu pada media lalu menjadi asam-asam amino yang menyebabkan perubahan warna dari putih kecoklatan menjadi tidak berwarna (Edlin *et al.*, 2014). Menurut Rilda dan Agustien (2004), adanya perbedaan Aktivitas enzim tersebut ditentukan oleh konsentrasi, konformasi, urutan asam amino dan jenis asam amino zona bening pada setiap isolat, disebabkan oleh aktivitas enzim dari masing-masing isolat yang disekresikan ke medium berbeda.

KESIMPULAN

Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar *Wakawonda* diperoleh 10 isolat BAL, dengan koloni BAL berbentuk bulat dan elips yang berwarna putih, kecil, dan tepian yang jelas dengan zona jernih yang terbentuk di sekeliling koloni. Karakteristik sifat amilolitik dan proteolitik BAL hasil fermentasi air cucian beras merah diperoleh 8 isolat BAL positif terhadap uji hidrolisis pati, dan 7 isolat BAL positif terhadap uji hidrolisis kasein. Dengan diameter zona bening uji hidrolisis pati tertinggi sebesar 3,15 mm dan diameter zona bening uji hidrolisis kasein tertinggi sebesar 3,30 mm.

DAFTAR PUSTAKA

Aguswinarto. 2016. Aktifitas Anti Mikroba Bakteri Asam Laktat Asal *Wikau Maombo* terhadap Bakteri Patogen *E. Coli* dan Aplikasinya pada Pembuatan Minuman Prebiotik Gula Aren. Skripsi. Kendari: Fakultas Teknologi



dan Industri Pertanian. Universitas Halu Oleo.

- Badan Pusat Statistik Nasional. 2015. Potensi Beras Merah Semua Provinsi di Indonesia. Jakarta.
- Badan Pusat Statistik (BPS) Sultra. 2015. Sulawesi Tenggara dalam Angka. Badan Pusat Statistik Sulawesi Tenggara.
- Edlin, Y.N., Agustien, A., dan Tjong, D.H., 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Alkali-Proteolitik Sumber Air Panas Semurup Kerinci Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 3(4):303-309
- Elvira, I., 2016. Karakterisasi Sifat Biokimia Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi *Wikau Maombo*. Skripsi. Fakultas Teknologi Dan Industri Pertanian, Jurusan Teknologi Pangan, Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Eni, R., 2015. Pembuatan Bioetanol dari Limbah Air Cucian Beras Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatis Dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. 21(1):14-21.
- Ibrahim, A., Aditya, T., Fila, D., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera Indica L.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2):159-163.
- Indriyani, F., Nur Hidaja dan Suryanto, A., 2013. Karakteristik Fisik, Kimia dan Sifat Organoleptik Tepung Beras Merah Berdasarkan Variasi Lama Pengeringan. *Jurnal Pangan Dan Gizi*. 4(8):27-34
- Kusumaningrum. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik dari Industri Pengolahan Pati Sagu. *Jurnal Jom Faperta*. 2(1):5-15
- Lay, B. W., 1994. Analisis Mikroba dilabolatorium. Rajawali Press. Jakarta.
- Machmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor.
- Murphy, P. 2000. Handbook Of Hydrocolloids. Woodhead Publishing Ltd and Crc. Press Llc, New York.
- Naiola, E., dan N. Widiawati. 2002. Isolasi, Seleksi, dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Jurnal Berita Biologi*. 6(3):9-16.
- Naiola, E. Putri, R. dan Widhyastuti, N. 2007. Isolasi Seleksi dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Jurnal Berita Biologi*. 6(3):467- 473.
- Nurmalinda, A., Periadnadi dan Nurmiati. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Parsial Bakteri Indigenous Pemfermentasi dari Buah Durian (*Durian Ziberthinus Murr*). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 23(3):21-26.
- Noviyanti, D., 2013. Kuantitas dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat serta Konsentrasi Asam Laktat dari Fermentasi Ikan Gabus (*Channa Striata*), Ikan Nila (*Oreochromis Niloticous*), dan Ikan Sepat (*Trichogaster Trichopterus*) pada Pembuatan Bekasam. *Jurnal Saintmatika*. 2(10):34-41.



- Purwohadisantoso, K., Elok, Z., Ella, S., 2009. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Sayur Kubis yang Memiliki Kemampuan Penghambatan Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 10(1):19-27.
- Putri, W.D.R., Marseno D.W., dan Cahyanto, M N., 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Amilolitik selama Fermentasi Growol, Makanan Tradisional Indonesia. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 1(13):52-60.
- Rachmat, A., Agustina, F., 2007. Pembuatan Nata De Coco dengan Fortifikasi Limbah Cucian Beras Menggunakan *Acetobacter Xylinum*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Rilda, Y., dan Anthoni Agustien. 2004. Eksplorasi Bakteri-Bakteri Isolat Lokal Penghasil Enzim Serin-Alkali Protease. *Jurnal Kimia Andalas*. 10 (1):37-43.
- Rusdwitarsi Y, N., dan Wikandari, P., 2014. Aktivitas Bakteri Proteolitik yang diisolasi dari Sumber Air Panas Singgahan, Tuban. *Unesa Journal Of Chemistry*. 3(3):183-188
- Sukarminah, E., D.M. Sumanti dan I. Hanidah. 2010. Mikrobiologi Pangan Jurusan Teknologi Industri Pangan. Fakultas Teknologi Industri Pertanian. Universitas Padjajaran. Jatinagor.
- Sunaryanto, R., dan Marwoto. 2012. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*. 14:(2):228-233.
- Susilawati, S., 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Fermentasi Air Cucian Beras. Skripsi. Jurusan Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Vermelho, A.B., M.N.L. Meirelles, A. Lopes, S.D.G. Petinate, A.A. Chaia, M.H. Branquinha. 1996. Detection of Extracellular Protease from Microorganism on Agar Plates, <http://www.Bioline.Org.Br>. Diakses 10 Maret 2017.
- Yuniati, R., Nugroho,T., Puspita, F., 2014. Uji Aktivitas Enzim Protease dari Isolat *Bacillus* Sp. Galur Lokal Riau. *Jurnal Jom Fmipa*. 1(2):116-122.
- Yusufa, M.H., Masdiana C.P., Octavianie,D.A., 2014. Identifikasi dan Studi Aktivitas Protease *Bacillus* Sp Asal Limbah Cair Rumah Potong Ayam Tradisional sebagai Kandidat Penghasil Biodeterjen. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang.
- Zahidah D., Shovitri, M., 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1):12-15.