

**UJI VIABILITAS BAKTERI DAN AKTIVITAS ENZIM
BAKTERI PROTEOLITIK PADA MEDIA CARRIER
BEKATUL**

(Sebagai Acuan Bahan Ajar Pokok Bahasan Virus, Monera, Protista di SMA)



Skripsi

Oleh :

**WINARWI
K 4302052**

**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2006

**UJI VIABILITAS BAKTERI DAN AKTIVITAS ENZIM
BAKTERI PROTEOLITIK PADA MEDIA CARRIER
BEKATUL**

(Sebagai Acuan Bahan Ajar Pokok Bahasan Virus, Monera, Protista di SMA)

Disusun oleh

**WINARWI
K 4302052**

Skripsi

Ditulis dan diajukan untuk memenuhi syarat mendapatkan gelar
Sarjana Pendidikan Program Pendidikan Biologi
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2006

PERSETUJUAN

Skripsi ini telah disetujui untuk dipertahankan di hadapan Tim Penguji Skripsi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta.



Persetujuan Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. rer. nat. Sajidan, M.Si
M.Si

NIP.131 947 768

Puguh Karyanto, S.Si,

NIP. 132 299 051

PENGESAHAN

Skripsi ini telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Skripsi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta dan diterima untuk memenuhi persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Pendidikan.

Hari : Senin
Tanggal : 31 Juli 2006

Tim Penguji Skripsi :
Nama Terang

Tanda Tangan

Ketua	: Dra. Hj. Alvi Rosyidi, M.Pd
Sekretaris	: Drs. Dwi Oetomo, M.Si
Anggota I	: Dr. rer. nat. Sajidan, M.Si
Anggota II	: Puguh Karyanto, S.Si, M.Si

Disahkan oleh
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Sebelas Maret Surakarta
Dekan,

Drs. H. Trisno Martono, M.M
NIP 130 529 720

ABSTRAK

Winarwi. **UJI VIABILITAS BAKTERI DAN AKTIVITAS ENZIM BAKTERI PROTEOLITIK PADA MEDIA CARRIER BEKATUL**. Skripsi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta, Juli 2006

Tujuan dari penelitian ini adalah (1) Mengetahui viabilitas tertinggi bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari. (2) Mengetahui aktivitas enzim tertinggi bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif sedangkan strategi yang digunakan bersifat eksploratif (penemuan) dengan data yang diperoleh dari hasil percobaan di laboratorium. Sampel dalam penelitian adalah bakteri proteolitik dengan parameter viabilitas bakteri dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dengan perlakuan waktu yang berbeda yaitu 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari. Teknik sampling yang digunakan adalah teknik total sampling. Teknik pengumpulan data yaitu data yang digunakan diperoleh dari pengamatan viabilitas bakteri dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dengan perlakuan waktu yang berbeda yaitu 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari. Teknik analisa data yang diperoleh digunakan pendekatan deskriptif kualitatif yaitu dengan cara memberi penjelasan dan keterangan mengenai hasil yang diperoleh dari laboratorium.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa: (1) Viabilitas tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) dengan waktu penyimpanan 20 hari. (2) Aktivitas enzim tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) dengan waktu penyimpanan 20 hari

Motto

"Tidak ada yang dapat disembah kecuali
Allah yang satu"

"Allah Yang Maha Agung, Maha Rokhim, Maha
Adil, Maha Wasesa dan Maha Langgeng"
(Wewarah Tujuh)

"Kesehatan Fisik dapat diraih dengan
Sedikit Makan

Kesehatan Jiwa dapat diraih dengan
Mengurangi Dosa-Dosa

Kesehatan Kalbu dapat diraih dengan
Mempersedikit Kesibukan

Kesehatan Lisan dapat diraih dengan
Sedikit Bicara"

(Manajemen Qolbu)

"Kerja Keras dengan Otak Cerdas dan Hati
Ikhlas"

(Gymnastiar)

"Tidak ada Masalah yang tidak ada
Penyelesaiannya"

(Poncowati)

"Duduk berpangku tangan tidak akan dapat
mengentaskan kapal yang tenggelam didasar
laut"

(Penulis)

PERSEMBAHAN

*Bapak dan Ibu Tercinta yang telah memberikan doa dan bimbingan dengan
penuh cinta dan kasih sayang.*

*Kakak-kakak Terbaikku "Mbak Anik, Mas Har, Mbak Prih, Mas Iktiar, Mbak
Sunah yang telah memberikan motivasi dan dukungan*

Alm. Simbah Putri

*Keluarga Apartment 4 Sekawan 5 Sempurna, Pak Temon, Bu Titin, Alvin,
Alvon atas naungannya selama ini*

*Sahabat Karibku di Apartment 4 Sekawan 5 Sempurna, Mas Makruf,
Mas Broto, dan Mas Abdul atas kebersamaan dan bantuannya*

*Rekan kerja di Lab Mikrobiologi: Mbak Tri, Mbak Ambar, Mbak Artik, Mbak
Danis, Mas Fajar, Mas Aris, Rita, Umi, Dwi, Evix, Riwi, Luluk, Nila, Rizky,
Catur yang telah membantu dalam penelitian skripsi.*

Teman seperjuangan: Didik, Mukhlis, Andri, Budi L, Mardomo, Doni, Trias, Eka, Makruf, Sandi, Marsidi, Panca, Fitri, Pangkat, Budi P, Admaja, Anang, Agus.

Teman-teman Pendidikan Biologi 2002 dan Adik tingkat

Orang-orang yang selalu mendoakan diriku

Almamater

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah yang telah menurunkan limpahan rahmat dan karunia-Nya serta memberikan kemudahan dalam menyelesaikan penulisan skripsi. Skripsi ini ditulis dan diajukan untuk memenuhi syarat guna mendapatkan gelar Sarjana Pendidikan Program Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penyelesaian penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Ketua Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ketua Program Pendidikan Biologi yang telah memberikan izin untuk penulisan skripsi.
4. Pembimbing Akademis atas bimbingan selama masa-masa perkuliahan.
5. Bapak Dr. rer. nat. Sajidan, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Skripsi I yang telah memberikan bantuan, bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi.
6. Bapak Puguh Karyanto, S.Si, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Skripsi II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam perbaikan skripsi.
7. Rekan Kerja di Laboratorium Mikrobiologi Pendidikan Biologi yang telah membantu dalam penelitian skripsi.

8. Teman-teman mahasiswa Pendidikan Biologi 2002 dan adik-adik tingkat yang telah memberi inspirasi dan sumbangan pemikiran.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Walaupun disadari dalam skripsi ini masih ada kekurangan namun diharapkan skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca serta bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Surakarta, Juli 2006

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN ABSTRAK	v

	10
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Identifikasi Masalah	2
C. Pembatasan Masalah	3
D. Perumusan Masalah	3
E. Tujuan Penelitian	4
F. Manfaat Penelitian	4
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	5
B. Kerangka Berpikir	28
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	30
B. Bentuk dan Strategi Penelitian	30
C. Sumber Data	31
D. Teknik Sampling	31
E. Teknik Pengumpulan Data	31
F. Teknik Analisis Data	31
G. Prosedur Penelitian	32
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Viabilitas Bakteri Proteolitik	36
B. Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik	43
C. Pemahaman Konsep Virus, Monera, Protista pada Siswa SMA Kelas X	49
BAB V. SIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN	

	11
A. Simpulan.....	54
B. Implikasi.....	54
C. Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis Protease	17
Tabel 2. Kandungan bekatul	27
Tabel 3. Viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul (sel/ml)	37
Tabel 4. Aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul (cm)	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Fase pertumbuhan pada bakteri	6
Gambar 2. Pengaruh suhu pada perkembangan bakteri	9
Gambar 3. Pengaruh konsentrasi enzim pada laju aktivitas enzim	20
Gambar 4. Pengaruh konsentrasi substrat pada laju aktivitas enzim	20
Gambar 5. Pengaruh pH pada laju aktivitas enzim	21
Gambar 6. Pengaruh suhu pada laju aktivitas enzim	21
Gambar 7. Bagan kerangka pemikiran	29
Gambar 8. Viabilitas bakteri proteolitik setelah disimpan selama 20 hari a. <i>Pseudomonas</i> 10 ⁵ , b. <i>Klebsiella</i> 10 ⁵ , c. <i>E.Coli</i> 10 ⁵	36
Gambar 9. Grafik viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari	38
Gambar 10. Diagram batang rata-rata SPK (Satuan Pembentuk Koloni)	

bakteri proteolitik dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari	38
Gambar 11. Zona jernih koloni tunggal bakteri proteolitik: a. <i>E.Coli</i> , b. <i>Pseudomonas</i> , c. <i>Klebsiella</i>	43
Gambar 12. Grafik aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari	45
Gambar 13. Diagram batang rata-rata aktivitas enzim bakteri proteolitik dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari	45
Gambar 14. Alur Pemahaman Konsep Monera Siswa SMA Kelas X	50
Gambar 15. Ilustrasi Hasil Penelitian tentang viabilitas dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul	51
Gambar 16. Charta yang Menggambarkan Viabilitas dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik	52
Gambar 17. Alat dan Bahan	61
Gambar 18. Prosedur Kerja Penelitian	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil perhitungan viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul	59
Lampiran 2. Hasil perhitungan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul	60
Lampiran 3. Alat bahan yang digunakan dalam penelitian	61
Lampiran 4. Prosedur Kerja	62
Lampiran 5. Rencana Pembelajaran I	63
Lampiran 6. Rencana Pembelajaran II	66
Lampiran 7. Lembar Kerja Siswa Untuk Praktikum	69
Lampiran 8. Soal-Soal Ulangan Harian	71
Lampiran 9. Penentuan Koefisien Korelasi Dalam Regresi.....	72
Lampiran 10. Perijinan	74

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Bakteri proteolitik adalah sekelompok bakteri yang mempunyai kemampuan untuk memecah protein, dengan memutus ikatan peptida pada protein tersebut. Selain melalui kemampuan tersebut, bakteri proteolitik juga mempunyai kemampuan membusukkan bahan yang mengandung protein tinggi (bersifat putrefaktif). proses pembusukan tersebut menghasilkan senyawa hidrogen dan sulfida yang berbau busuk, serta asam amino sebagai putrefaktif protein (Kuswanto dan Sudarmadji, 1989).

Bakteri proteolitik terdiri atas banyak jenis misalnya *E.Coli*, *Klebsiella* dan *Pseudomonas*. Kelompok bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim protease. Secara umum enzim protease dibedakan menjadi dua kelompok yaitu proteinase (mengkatalis hidrolisis molekul protein menjadi peptida) dan peptidase (menghidrolisis fragmen peptida menjadi asam amino) (Suhartono, 1991).

Enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri proteolitik di atas mempunyai banyak manfaat. Salah satu manfaat enzim protease adalah terkait dengan peningkatan nutrisi pakan unggas (Suhartono, 1991). Aplikasi pakan ternak dengan bakteri proteolitik yang bersifat probiotik tersebut pada unggas dapat meningkatkan efisiensi penyerapan nutrisi pakan pada sistem pencernaannya. Hal tersebut menyebabkan pertumbuhan unggas dengan aplikasi probiotik menjadi lebih optimal.

Aplikasi probiotik untuk meningkatkan produksi peternakan unggas membutuhkan beberapa langkah awal. Menentukan dan menyeleksi media carrier yang baik dalam mendukung kultur bakteri proteolitik merupakan langkah yang penting. Melalui upaya tersebut dapat diperoleh kultur bakteri proteolitik yang efektif. Beberapa media pertumbuhan yang pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya adalah limbah lateks (www.ipard.com, 15 februari 2006), gambut dan blotong (Supriyadi dan Sudadi, 2001), serbuk gergaji, campuran tanah dan

kompos, kulit kacang tanah, campuran tapioka dan bekatul (Valentina R.P, 2005) serta limbah padat udang (Mavitra E, 2005). Dari berbagai penelitian tentang media carrier diatas, bekatul merupakan media yang potensial.

Bekatul mempunyai kandungan komponen-komponen nutrisi yang dibutuhkan bakteri proteolitik. Bekatul mengandung protein tinggi, karbohidrat, lemak, vitamin, asam lemak esensial, serat pangan, oryzanol, dan asam ferulat (www.gizi.net, 15 Februari 2006). Bekatul mempunyai sumber karbon dan nitrogen lebih kompleks dibandingkan media lain. Keunggulan lain yaitu harganya lebih murah, mudah diperoleh dan tersedia secara melimpah, bahkan merupakan limbah yang dapat mencemari lingkungan. Beberapa penelitian bekatul sebagai media carrier telah dilakukan oleh Estu R, Retno S dan Umar A (2004). Penelitian tersebut mendapatkan bahwa penambahan bekatul dapat meningkatkan pertumbuhan sel *Saccromyces erythraea* ATCC 11635. Penelitian lain yang dilakukan Ahmad Wahyudi (2004) mendapatkan bahwa bekatul dapat digunakan untuk mengetahui daya hidup bakteri pada probiotik yoghurt sapi.

Berdasarkan potensi bekatul sebagai media carrier, penelitian serupa dapat dilakukan atas bakteri *E.Coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*. Beberapa hal yang perlu dilakukan pada penelitian tersebut meliputi uji viabilitas dan aktivitas enzim proteolitiknya. Berdasarkan latar belakang masalah tersebut perlu dilakukan penelitian tentang **“UJI VIABILITAS BAKTERI DAN AKTIVITAS ENZIM BAKTERI PROTEOLITIK PADA MEDIA CARRIER BEKATUL”**

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat diidentifikasi masalah yang ada sebagai berikut :

1. Bakteri proteolitik adalah sekelompok bakteri yang mempunyai kemampuan untuk memecah protein, dengan memutus ikatan peptida pada protein tersebut
2. Bakteri proteolitik menghasilkan enzim protease.
3. Jenis bakteri proteolitik penghasil protease adalah *E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*.

4. Menentukan dan menyeleksi media carrier yang baik dalam mendukung kultur bakteri proteolitik merupakan langkah yang penting .
5. Beberapa media pertumbuhan yang pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya adalah limbah lateks, gambut dan blotong, serbuk gergaji, campuran tanah dan kompos, kulit kacang tanah, limbah padat udang serta bekatul.
6. Media yang potensial untuk pertumbuhan bakteri proteolitik adalah bekatul
7. Bekatul mempunyai kandungan komponen-komponen nutrisi yang dibutuhkan bakteri proteolitik. Bekatul mengandung protein tinggi, karbohidrat, lemak, vitamin, asam lemak esensial, serat pangan, oryzanol, dan asam ferulat (www.gizi.net, 15 Februari 2006)

C. Pembatasan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jawaban dari permasalahan-permasalahan pada identifikasi masalah dengan pembatasan masalah pada :

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah Bakteri proteolitik yang ditanam pada media carrier bekatul

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini meliputi :

- a. Viabilitas bakteri proteolitik (*E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*) pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.
- b. Aktivitas enzim bakteri proteolitik (*E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*) pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

D. Perumusan Masalah

Berdasarkan pada pembatasan masalah maka masalah yang dirumuskan dalam penelitian ini, sebagai berikut :

1. Bagaimana viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari ?
2. Bagaimana aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari ?

E. Tujuan Penelitian

Tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Mengetahui viabilitas tertinggi bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.
2. Mengetahui aktivitas enzim tertinggi bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

F. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Sebagai sumber informasi tentang pemanfaatan media bekatul sebagai media carrier bakteri proteolitik.
2. Memberikan informasi untuk penelitian selanjutnya tentang manfaat bekatul sebagai media carrier bakteri proteolitik.
3. Memberikan nilai ekonomis terhadap bekatul.
4. Menambah wawasan keilmuan untuk menunjang mata pelajaran biologi pada pokok bahasan bioteknologi dan pokok bahasan virus, monera, protista di SMA.
5. Menambah wawasan keilmuan tentang mikrobiologi.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Bakteri Proteolitik

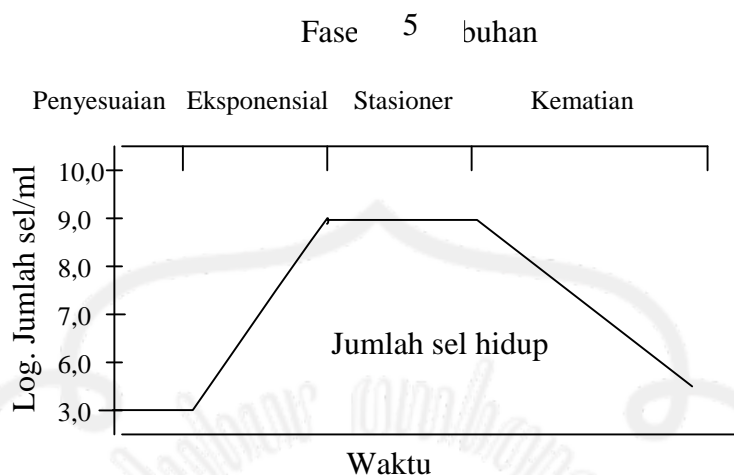
a Pertumbuhan Bakteri

Istilah *pertumbuhan* umum digunakan untuk bakteri dan mikroorganisme yang biasanya mengacu pada perubahan atau penambahan total massa sel, bukan perubahan individu organisme. Inokulum hampir selalu mengandung ribuan organisme. Pertumbuhan menyatakan penambahan jumlah dan atau massa melebihi yang ada di dalam inokulum asalnya (Pelczar dan Chan, 1986: 148).

Jika faktor-faktor luar menguntungkan, maka setelah terjadi pembelahan, sel-sel baru membesar sampai masing-masing menjadi sebesar sel induk. Hal ini dimungkinkan karena gampangnya peresapan zat makanan yang tersedia di dalam medium (Dwidjoseputro, 2003: 59). Bakteri berkembang biak dengan cara pembelahan diri yang disebut *pembelahan biner* yaitu perkembangan biak dari 1 sel induk menjadi 2 sel anak (Lay, 1992: 97).

b Kurva Pertumbuhan Bakteri Secara Umum

Jika bakteri dipindahkan ke dalam biakan kaldu yang segar maka pertumbuhan bakteri memperlihatkan ciri seperti terlihat pada gambar 1. Kurun waktu dan bentuk setiap fase pertumbuhan tergantung pada jenis bakteri dan media biakan yang digunakan.



Gambar 1. *Fase pertumbuhan pada bakteri*

c Fase Pertumbuhan Bakteri

1) Fase Penyesuaian Diri

Kurun waktu ini merupakan penyesuaian bakteri ke suatu lingkungan baru. Pada fase ini tidak ada kenaikan jumlah sel, melainkan peningkatan ukuran atau besar sel. Peningkatan juga terlihat pada protein sel, DNA, dan Metabolisme.

Peningkatan metabolisme ini penting bagi penyesuaian sel bakteri yang harus menyesuaikan diri dengan pH atau kekuatan mengoksidasi-reduksikan media biakan. Dalam fase ini sel bakteri secara faali masih muda. Ini berarti bahwa sel bakteri lebih permiabel terhadap berbagai bahan yang berada disekitar lingkungannya dan mempunyai kandungan air yang tinggi. Bahan yang mudah masuk bukan saja zat hara, melainkan juga bahan toksik atau panas.

Lamanya fase penyesuaian tergantung berbagai faktor yaitu keadaan faali sel sewaktu dipindahkan, keadaan lingkungan sebelumnya, jumlah awal bakteri yang hidup di dalam inokulum. Jika lingkungan sekitarnya sesuai dengan sel bakteri, maka akan terjadi fase berikutnya.

2) Fase Logaritmik

Selama fase ini jumlah sel meningkat dari 1 menjadi 2, 2 menjadi 4, 4 menjadi 8 dan seterusnya. Jika jumlah sel dibandingkan dengan waktu, dalam *skala log* akan terlihat garis lurus (gambar 2). Dari peningkatan secara logaritmik ini dapat dihitung waktu yang diperlukan bagi pembelahan sel yaitu waktu *generasi (g)*. Dengan demikian waktu generasi adalah waktu yang diperlukan untuk meningkatkan jumlah sel menjadi dua kali lipat.

3) Fase Stasioner

Dalam fase ini kecepatan tumbuh sama dengan kecepatan mati sehingga jumlah sel akan konstan. *Bail* berarti jumlah maksimum populasi pada fase ini dengan konsentrasi *M*. Jumlah bakteri dalam inokulum tidak menentukan konsentrasi *M*.

Bila suatu inokulum bakteri dimasukkan ke dalam media sehingga seluruh zat hara habis ataupun sewaktu bahan toksik terbentuk, maka populasi bakteri selalu sama dengan konsentrasi *M*.

4) Fase Kematian

Pada fase ini terjadi akumulasi bahan toksik, zat hara yang diperlukan oleh mikroorganisme juga berkurang, sehingga bakteri akan memasuki fase kematian. Selama kurun waktu ini jumlah sel yang mati menunjukkan kurva garis lurus bila diskalakan dengan logaritma. Fase ini merupakan kebalikan dari fase logaritmik pertumbuhan. Jumlah sel menurun terus sampai didapatkan jumlah sel yang konstan untuk beberapa waktu.

Pada fase ini sel hidup dapat bertahan untuk sementara, waktu generasi bakteri dalam fase ini menjadi sangat lama. Sel akan mati disebabkan oleh *enzim otolitik*. Kandungan sel dari bahan lainnya untuk sementara masih dapat digunakan sebagai cadangan makanan. Sel bakteri kemudian mati disebabkan oleh mengeringnya media (Lay, 1992: 97-100).

d Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

1) Waktu

Jika bakteri ditempatkan pada medium yang baru tidak akan ada perbanyakan untuk selama 30 menit. Selama fase lag ini sel melakukan metabolisme dengan cepat, tetapi aktivitas ini hanya menyebabkan sedikit kenaikan ukuran sel, bukan untuk peningkatan jumlah sel. Selanjutnya, sel memperbanyak diri dengan cepat untuk beberapa jam atau bahkan beberapa hari, tergantung pada organisme dan kondisi lingkungannya. Periode terjadinya perbanyakan yang cepat ini disebut fase log, karena nilai logaritma jumlah organisme berbanding langsung dengan waktu (Sesudah x menit 10 sel menghasilkan 100 sel, maka sepuluh menit berikutnya 100 sel menghasilkan 1000 sel).

2) Nutrisi

Tidak semua bakteri membutuhkan nutrisi (zat makanan) yang sama. Ada bakteri yang dapat hidup dari zat-zat organik saja, tetapi ada pula bakteri yang tidak dapat hidup jika tidak ada zat organik. Kebanyakan bakteri membutuhkan zat-zat organik seperti garam-garam yang mengandung Na, K, Ca, Mg, Fe, Cl, S, P, sedangkan beberapa spesies tertentu masih membutuhkan tambahan mineral seperti Mn dan Mo.

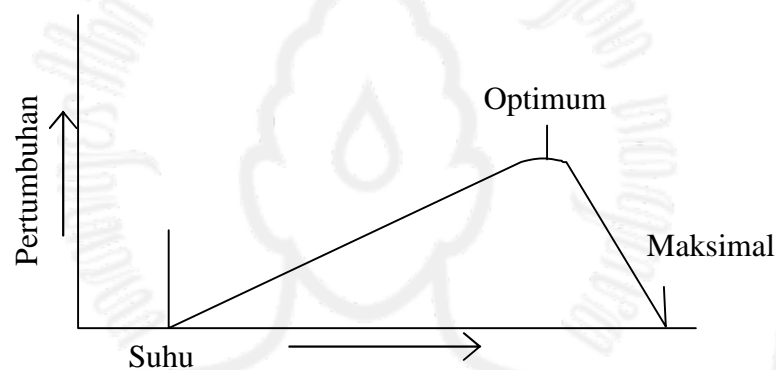
Kecuali zat-zat tersebut, bakteri memerlukan juga sumber-sumber makanan yang mengandung C, H, O dan N yang berguna untuk menyusun protoplasma. Unsur-unsur ini dapat diambil dalam bentuk elemen oleh beberapa spesies, akan tetapi beberapa spesies yang lain hanya dapat mengambil unsur-unsur tersebut dalam senyawa organik seperti karbohidrat, protein, lemak dan sebagainya.

Banyak bakteri yang masih memerlukan zat-zat tambahan seperti vitamin-vitamin dari B-kompleks, beberapa asam amino, asam lemak, hermatin, sel-sel darah merah, purin, pirimidin, nukleotida dan kadang-kadang asam cuka (Dwidjoseputro, 2003: 69-70).

Semua bentuk kehidupan, dari mikroorganisme sampai manusia mempunyai persamaan dalam hal persyaratan nutrisi tertentu dalam bentuk zat-zat kimiawi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan fungsinya yang normal. (Pelczar dan Chan, 1986: 132-134)

3) Suhu

Setiap organisme memiliki batas suhu terendah dan suhu tertinggi, mikroba membutuhkan suhu optimum untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Pada umumnya bakteri tumbuh pada suhu di atas 35 °C, untuk setiap species ada batasan suhu maksimum dan minimum untuk pertumbuhan. Suhu optimum lebih mendekati suhu maksimum sedangkan pada suhu minimum pertumbuhan lebih lambat. Jika suhu lebih tinggi daripada suhu maksimum maka pertumbuhan bakteri akan menurun dengan cepat.



Gambar 2. Pengaruh suhu pada perkembangan bakteri

Hal ini sebenarnya menggambarkan bahwa suhu terutama mempengaruhi enzim, makin tinggi suhu maka aktivitas enzim juga makin cepat. Apabila suhu terlalu tinggi maka enzim akan didenaturasikan sehingga sel kemudian akan mati (Lay, 1992: 72).

4) pH

Pada umumnya bakteri tumbuh pada pHnya adalah 5.0–8.0. Ragi tumbuh dengan baik pada pH rendah (asam). Bakteri yang menghasilkan asam asetat dapat tumbuh pada keadaan asam 1N. *Thiobacillus* dapat tumbuh pada pH 1 atau kurang.

Mikroorganisme yang hidup dalam sumber air panas memerlukan pH 2.0 sedangkan *Vibrio cholerae* memerlukan pH 8.0. keperluan akan pH tertentu ini

digunakan untuk mengisolasi bakteri. Untuk mengatur pH dapat ditambahkan HCl, KOH atau NaOH.

pH di dalam sel sebenarnya jauh lebih tinggi, dan kemampuannya untuk dapat tumbuh pada lingkungan dengan pH rendah adalah kemampuan sel bakteri untuk menahan ion H^+ keluar sel.

Banyak bakteri menghasilkan asam, asam ini akan menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk dapat mempertahankan pH semula ditambahkan larutan penyangga (garam dari fosfat). Garam ini dapat mengikat H^+ dari asam atau OH^- dari basa. Garam fosfat yang sering digunakan adalah Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4 .

Jika pH media sekitar 7,0 maka hasil metabolisme menghasilkan asam sehingga pH turun. Untuk mencegah penurunan ini ditambahkan larutan penyangga (buffer). Buffer merupakan campuran asam lemah dengan basa pasangannya. Buffer fosfat terdiri dari $H_2PO_4^-$ dan HPO_4^{2-} . Pepton juga memiliki daya buffer oleh karena komponen asam aminonya yaitu $-COOH / -COO^-$, $NH_3 / -NH_2$, $-NH_2^+ / -NH$. Kemampuannya mengatur pH adalah sebagai berikut : H^+ (asam kuat) + $HPO_4^{2-} \rightarrow H_2PO_4^-$ asam lemah dan OH^- (basa kuat) + $H_2PO_4^- \rightarrow HPO_4^{2-}$ asam lemah + H_2O

Larutan penyangga mempertahankan pH sekitar netral oleh karena: (a) Asam kuat diubah menjadi asam lemah, (b) OH^- akan menarik H^+ untuk membentuk air (Lay, 1992: 74).

5) Oksigen

Tersedianya oksigen dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Jamur bersifat aerobik (memerlukan oksigen) sedangkan khamir dapat bersifat aerobik atau anaerobik tergantung pada kondisinya. Bakteri diklasifikasikan menjadi empat kelompok menurut keperluan oksigennya. (a) *Aerob obligat* hanya dapat tumbuh jika terdapat persediaan oksigen yang banyak; (b) *Aerob fakultatif*, tumbuh dengan baik jika oksigen cukup, tetapi juga dapat tumbuh secara anaerob; (c) *Anaerob obligat* hanya dapat tumbuh jika tidak ada oksigen; (d) *Anaerob fakultatif*, tumbuh sangat baik jika tidak ada oksigen, tetapi mereka juga dapat tumbuh secara aerob (Gaman dan Sherington, 1981: 249).

6) Tekanan Osmotik

Tekanan osmotik tergantung dari bahan yang terlarut. Bakteri pada umumnya dapat tumbuh dalam kisaran tekanan osmotik yang cukup besar oleh karena adanya enzim permease sehingga konsentrasi garam dalam sel dapat diatur. Akan tetapi bila konsentrasi ini cukup tinggi maka air akan keluar dari sel sehingga pertumbuhan akan berhenti.

Beberapa bakteri memerlukan konsentrasi garam yang tinggi untuk pertumbuhannya, bakteri ini disebut sebagai halofilik. Bakteri halofilik yang diisolasi dari "Dead Sea" memerlukan konsentrasi garam yang sangat tinggi untuk pertumbuhannya. Hal ini disebabkan karena enzim dari ribosomnya memerlukan konsentrasi garam tersebut untuk berfungsinya enzim dan ribosom. Beberapa bakteri halofilik tidak mempunyai peptidoglikan dalam dinding selnya. Pada bakteri lainnya peptidoglikan ini justru diperlukan untuk menahan cairan keluar atau masuk (Lay, 1992: 77).

e Karakteristik Bakteri Proteolitik

Bakteri proteolitik adalah bakteri pemecah protein. Bakteri proteolitik menghasilkan enzim protease. Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease dibutuhkan secara fisiologi untuk kehidupan organisme pada tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme.

Untuk menentukan kemampuan mikroorganisme dalam mensekresikan protease yang dapat mendegradasikan protein, maka pada medium disertakan susu skim yang mengandung kasein. Kasein merupakan protein utama susu, suatu mikromolekul yang tersusun atas sub unit asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Kasein berfungsi sebagai substrat bagi enzim protease (Elfi Susanti, 2003: 56-57).

Enzim proteolitik atau protease mempunyai dua pengertian, yaitu proteinase yang mengkatalis hidrolisis molekul protein menjadi fragmen-fragmen besar, dan peptidase yang menghidrolisis fragmen polipeptida menjadi asam amino. Enzim proteolitik yang berasal dari mikroorganisme adalah protease yang mengandung proteinase dan peptidase.

Mula-mula protease dibagi menjadi dua kelompok besar yaitu eksopeptidase dan endopeptidase. Eksopeptidase dapat dibagi lagi menjadi karboksi (ekso) peptidase dan amino (ekso) peptidase, yang berturut-turut memotong peptida dari arah gugus karboksil terminal dan gugus amino terminal. Endopeptidase memecah protein dan ikatan peptida dari dalam.

Ditinjau dari segi kemudahan dan jangka waktu pelipatan-gandaan serta jenis enzim yang diinginkan maka penggunaan jasad renik dipandang lebih menguntungkan daripada jenis bahan lainnya. Hal itu disebabkan karena jasad renik lebih mudah dan lebih cepat dikembangbiakkan sehingga jumlah enzim yang dihasilkan lebih banyak dan cepat (Suharsono, 1989: 131).

f Klasifikasi dan Ciri Umum Beberapa Bakteri Proteolitik

1. *Pseudomonas*

Pseudomonas termasuk dalam famili *pseudomonadaceae* dengan ciri-ciri sel serupa batang lurus, kadang-kadang serupa bola. Bergerak dengan flagel yang terdapat pada ujung. Jumlah flagel satu atau lebih. Beberapa spesies tidak bergerak. Gram positif, habitat tanah atau air tawar dan air laut. Banyak spesies hidup sebagai parasit pada tanaman, tidak begitu banyak pada hewan. Ukuran 0,5-1,0 x 3,0-4,0 um. Umumnya mempunyai flagel polar, tetapi kadang-kadang 2-3 flagel. Bila tumbuh pada perbenihan tanpa sukrosa terdapat lapisan lendir polisakarida ekstraseluler Struktur dinding gel sama dengan famili Enterobacteriaceae. Strain yang diisolasi dari bahan klinik sering mempunyai pili untuk perlekatan pada permukaan gel dan memegang peranan penting dalam resistensi terhadap fagositosis. *P.aeruginosa* tumbuh baik pada suhu 3-42°C, pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakan spesies

ini dari spesies *Pseudomonas* lain. Bakteri ini oksidase positif dan tidak meragi karbohidrat, tetapi banyak strain mengoksidasi glukosa. Pengenalan biasanya berdasarkan morfologi koloni, sifat oksidase positif, adanya daya pigmen yang khas dan pertumbuhannya pada suhu 42°C. untuk membedakan *Pseudomonas aeruginosa* dengan yang lain berdasarkan aktivitas biokimiawi, dibutuhkan pengujian dengan berbagai substrat (<http://library.usu.ac.id>, 15 Februari 2006).

Genus *Pseudomonas* ada 149 spesies dan 11 spesies tambahan berpigmen, berpigmen hijau muda atau hijau tua. Pigmen meresap ke dalam medium. Biasanya penghuni tanah atau air. *Pseudomonas aeruginosa* kadang-kadang kedapatan di dalam luka pada hewan atau manusia. Bakteri ini menyebabkan timbulnya nanah yang kebiru-biruan. Beberapa spesies yang lain menyebabkan penyakit pada tanaman. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan suatu pigmen biru piosianin yang merupakan racun bagi beberapa spesies bakteri dan penyakit bagi beberapa hewan. Selanjutnya semua pengobatan penyakit infeksi dengan menggunakan antibiotik itu didasarkan atas antagonisme. Antagonisme biasa juga disebut antibiosis. Spesies yang terhambat pertumbuhannya disebut amensal sedang spesies yang menghambat pertumbuhan disebut antagonis. Dengan kata lain, amensal dapat tumbuh jika terpisah dari antagonis akan tetapi terganggu jika hidup bersama dengan antagonis (Dwidjoseputro, 2003). *Pseudomonas* menghasilkan protease jenis karboksipeptidase logam dan protease serin (Suhartono, 1991: 128).

2. *Escherichia coli*

Escherichia termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* dengan ciri-ciri basil, bergerak dengan flagel yang peritrik atau tidak bergerak, gram negative, menguraikan glukosa dengan menghasilkan gas. Genus *Escherichia* dengan 4 spesies, ada yang berwarna, ada yang tidak, saprobe, *Escherichia coli* terkenal sebagai penghuni kolon (usus tebal). *E.coli* dapat tumbuh dalam medium yang asam atau alkalin (dari pH 4,5-9,5) pada suhu kamar atau diatas suhu tubuh, baik secara aerobik maupun anaerobik. Sel-sel *E.coli* yang ditumbuhkan pada keadaan ekstrim ini tidak mengandung enzim yang sama, baik macamnya maupun jumlahnya. *E.coli* tumbuh baik antara 8-46°C. jadi beda antara minimum dan

maksimum temperatur disini ada lebih besar maka *E.coli* termasuk golongan bakteri yang kita sebut euritermik. Pada umumnya dapat dipastikan bahwa temperatur optimum itu mendekati temperatur maksimum daripada temperatur minimum. *E.coli* mempunyai optimum temperatur 37 °C. bakteri yang di piara di bawah temperatur minimum atau sedikit di atas temperatur maksimum, tidak segera mati melainkan berada dalam keadaan tidur (dormancy). Faktor-faktor luar seperti keadaan medium, temperatur, pH, radiasi dan lain-lain mempunyai pengaruh besar terhadap variasi bakteri secara individual maupun bakteri sebagai kelompok koloni. *E.coli* menjadi panjang-panjang sekali jika di piara dalam medium yang mengandung natrium ricinoleat, kristal ungu/pinisilin. Grafik pertumbuhan koloni *E.coli* dapat diketahui bahwa bakteri ini tiap 20 menit mengadakan divisio jika faktor-faktor luar seperti medium, kebasahan, pH, temperatur itu tetap baik (Dwidjoseputro, 2003). *E. coli* menghasilkan protease jenis aminopeptidase, dipeptidase, peptidil dipeptidase, karboksipeptidase logam, protease serin (Suhartono, 1991: 128).

3. *Klebsiella*

Klebsiella termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* dengan ciri-ciri basil, bergerak dengan flagel yang peritrik atau tidak bergerak, gram negative, menguraikan glukosa dengan menghasilkan gas. Sedangkan genus *Klebsiella* dengan 3 spesies, saprobe atau pathogen pada hewan dan manusia. *Klebsiella pneumoniae* kedapatan pada alat-alat pernafasan (Dwidjoseputro, 2003).

Klebsiella berbentuk batang berkapsul nonmortal, 0,3-1,5 µm x 0,6-6,0 µm, tertata tunggal, berpasangan atau dalam rantai pendek. Pertumbuhan pada medium ekstrak daging menghasilkan koloni-koloni yang sedikit banyak berbentuk kubah, berkilauan dengan derajat kelengketan yang beragam. Tidak mempunyai persyaratan tumbuh yang khusus dan kebanyakan galur dapat menggunakan sitrat dan glukose sebagai sumber karbon satu-satunya dan amonia sebagai sumber nitrogen. Glukose difermentasi dengan menghasilkan asam gas (lebih banyak CO₂ daripada H₂), namun terdapat juga galur-galur yang anaerogenik. Suhu optimum untuk pertumbuhan ialah 35 sampai 37°C.

Kandungan G+C DNA berkisar dari 52 sampai 56 mol % (Pelczar dan Chan, 1988: 950).

2. Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik

a. Enzim Protease

1. Struktur Umum Enzim Protease

Kebanyakan protease merupakan molekul yang relative kecil dan kompak, dengan bentuk yang hampir-hampir bulat. Golongan ini umumnya merupakan enzim sederhana tanpa mekanisme regulasi alosterik. Jadi rata-rata tidak mengandung lebih dari satu subunit. Namun demikian, pada beberapa enzim terdapat lebih dari satu rantai polipeptida yang sebenarnya diproduksi dari satu rantai zimogen selama proses aktivitasnya.

Enzim proteolitik bersifat destruktif, sehingga dapat dengan cepat merusak sel-sel yang membuat enzim ini. Oleh karena itu didalam sel terdapat mekanisme proteksi terhadap efek yang tak diinginkan tersebut.

Hampir semua protease tanaman dan mikroba baik dalam bentuk intra maupun ekstraselular diproduksi dalam bentuk aktif, kecuali protease ekstraselular streptokokal yang disekresikan sebagai prekursor, yang kemudian diaktifkan serupa dengan enzim pencernaan mamalia, yaitu oleh proses proteolisis. Proses aktivasi protease sulfhidril tanaman oleh sianat atau senyawa pereduksi lainnya bukan merupakan aktivasi yang sesungguhnya, karena enzim ini disekresikan sudah dalam bentuk aktifnya.

Hampir semua protease merupakan protein sederhana yang disusun hanya oleh asam amino, tanpa adanya gugus prostetik atau senyawa non protein. Sebagian besar tidak memerlukan ion aktivator.

Protease termasuk golongan enzim yang relatif kuat karena tahan kondisi lingkungan, pH dan suhu yang ekstrim. Dengan demikian, enzim ini agak mudah ditangani. Salah satu golongan yang agak menyimpang dari sifat ini adalah pepsin yang stabil di dalam larutan asam encer, tetapi cepat terdenaturasi pada pH netral (Suhartono, 1991: 22-25).

2. Reaksi

Protease adalah enzim yang menghidrolisis ikatan peptida pada protein. Molekul yang berfungsi sebagai unit penyusun polimer protein adalah asam amino yang terangkai bersama-sama melalui ikatan peptida.

Jumlah asam amino penyusun protein bervariasi dari puluhan sampai ribuan. Biasanya protein yang tersusun oleh lebih dari 10 asam amino dikenal sebagai polipeptida. Istilah protein lebih ditujukan bagi polimer asam amino dengan jumlah diatas.

Kerapuhan struktur protein terhadap hidrolisis oleh protease berkaitan dengan strukturnya, keseluruhan struktur protein dan fungsi hayatinya ditentukan oleh struktur primer protein, yaitu deret asam amino pada protein. Jumlah ikatan peptida yang dapat diuraikan oleh suatu protease bergantung pada jenis asam amino penyusun protein dan jenis asam amino yang letaknya saling berdekatan. Disamping itu, struktur sekunder sulur α , konformasi β dan struktur acak), struktur tersier (perlipatan protein dan adanya jembatan disulfida), dan struktur kuartner (asosiasi antar sub unit molekul protein) menentukan efektivitas kerja protease terhadap protein tersebut. Protease memecah ikatan peptida dengan bantuan molekul air (Suhartono, 1991: 6-7).

3. Peranan Alamiah

Kelompok protease atau proteinase bersifat kompleks, baik dalam daya katalisisnya maupun sifat-sifat fisikokimianya. Golongan enzim ini diproduksi secara ekstraselular dan intraselular, serta memainkan peranan penting di dalam proses-proses metabolisme sel dan regulasinya.

Peranan utama protease ekstraselular di alam, seperti halnya dengan enzim-enzim ekstraselular lainnya adalah menghidrolisis substrat polimer (polipeptida) berukuran besar menjadi molekul kecil sehingga dapat diserap sel.

Di dalam sel, terdapat keseimbangan diantara sintesis dan degradasi protein, peristiwa ini dibantu oleh kerja protease intraselular (Suhartono, 1991: 7).

Perputaran protein (sintesis dan degradasi) penting bagi adaptasi sel terhadap lingkungan baru, terutama bila terjadi penurunan asam amino. Degradasi protein menyediakan asam amino yang diperlukan untuk sintesis protein baru.

Apabila degradasi protein tubuh terhambat, apalagi dalam keadaan pemasukan asam amino dari luar tubuh yang menurun, maka sintesis protein enzim tubuh terhambat.

4. Klasifikasi Umum

Seringkali protease dibedakan menjadi proteinase dan peptidase. Protease mengkatalisis hidrolisis molekul protein menjadi fragmen-fragmen besar, sedangkan peptidase mengkatalisis hidrolisis fragmen polipeptida menjadi asam amino.

Berbagai jenis klasifikasi telah dilaporkan pada ahli dan pemakai. Klasifikasi ini dilakukan berdasarkan sumber/asal protease, sifat bekerjanya atau sifat-sifat lain.

Berdasarkan asalnya terdapat 3 jenis protease yaitu protease tanaman, hewan dan mikroba sebagai berikut:

Tabel 1. Jenis Protease

Jenis protease	Contoh
Hewan	Khimotripsin A, B, C Tripsin Plasmin Elastase Trombin Pepsin Khiboksi peptidase A dan B
Tanaman	Papain Bromelin Fisin Khimopapain
Mikroba	Subtilisin (BPN dan Carls berg) Protease streptokokal Penisilopepsin

	Termolisin
--	------------

Dilihat dari letak pemecahan ikatan peptida, protease dibedakan menjadi eksoprotease dan endoprotease. Eksoprotease menguraikan protein dari ujung rantai sehingga dihasilkan satu asam amino dan sisa peptida. Pada tingkat lanjut, enzim ini akan menghasilkan sejumlah asam amino. Golongan endoprotease menguraikan ikatan peptida pada bagian dalam rantai protein, sehingga dihasilkan peptida dan polipeptida.

Ditinjau dari lingkungan daya kerjanya, protease dapat digolongkan menjadi protease asam yang bekerja pada pH asam, protease netral yang bekerja pada pH netral dan protease alkalis yang bekerja pada pH biasa.

Berdasarkan sifat-sifat kimia dari sisi aktifnya dikenal empat golongan protease yaitu protease serin, protease sulfhidril, protease metal dan protease asam (Suhartono, 1991: 11-18).

b. Aktivitas Enzim

Enzim dikatakan sebagai suatu kelompok protein yang berperan sangat penting dalam proses aktivitas biologis. Enzim ini berfungsi sebagai katalisator dalam sel dan sifatnya sangat khas. Dalam jumlah yang sangat kecil, enzim dapat mengatur reaksi tertentu sehingga dalam keadaan normal tidak terjadi penyimpangan-penyimpangan hasil akhir reaksinya. Enzim ini akan kehilangan aktivitasnya akibat panas, asam atau basa kuat, pelarut organik, atau apa saja yang bisa menyebabkan denaturasi protein (Aisjah girindra, 1986: 91).

Enzim dikatakan aktif apabila zat tersebut mempunyai kemampuan untuk melaksanakan kegiatan katalitiknya. Enzim merupakan protein yang dihasilkan oleh sel/jasad hidup untuk mengkatalisis reaksi baik yang berlangsung di dalam sel itu sendiri maupun diluar sel. Karena itu maka enzim dinamakan biokatalisator (Suharsono, 1990: 124).

Pada umumnya aktivitas enzim didefinisikan sebagai suatu jumlah yang dapat menyebabkan perubahan atau transformasi substrat sebanyak 1 mikromol per menit pada suhu dan lingkungan, tempat terjadinya reaksi itu optimal selama

pengukuran aktivitas berlangsung. Secara singkat aktivitas enzim itu dinyatakan bahwa satu unit aktivitas, 1U, sama dengan perubahan substrat 1U mol/ menit. Disamping itu ada satuan aktivitas enzim yang lain yaitu aktivitas spesifik yaitu besarnya U per mg nitrogen. Satuan inilah yang dipakai sebagai tolak ukur peningkatan kemurnian enzim. Makin murni suatu enzim makin tinggi aktivitas spesifik enzim yang bersangkutan (Suharsono, 1990: 124-125).

Kebanyakan bakteri dapat memecah protein menjadi peptida dan asam-asam amino, dan menggunakannya untuk sumber energi atau untuk sintesis protein kembali. Untuk menghitung jumlah bakteri proteolitik digunakan medium yang mengandung kasein, yaitu Skim Milk Agar (Srikandi Fardiaz, 1993: 60).

Susu skim mengandung kasein yang disertakan ke dalam medium pertumbuhan bakteri berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperlihatkan aktivitas hidrolitik protease. Protease mengkatalisis degradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptida CO-NH dengan masuknya air ke dalam molekul. Reaksi tersebut melepaskan asam amino.

Susu skim tersuspensi dalam medium. Setelah inokulasi dan inkubasi kultur *plate agar*, bakteri mensekresikan protease. Hal ini diperlihatkan dengan adanya daerah bening di sekeliling pertumbuhan bakteri (Elfi Susanti, 2003: 61).

Untuk membedakan antara areal bening yang disebabkan oleh koloni pembentuk asam dengan koloni proteolitik, diatas medium ditambahkan HCl 1 % atau asam asetat 10 %. Areal di sekeliling koloni proteolitik akan tetap bening, sedangkan areal di sekeliling koloni pembentuk asam akan keruh kembali karena terjadinya koagulasi kasein oleh asam (Srikandi Fardiaz, 1993: 60).

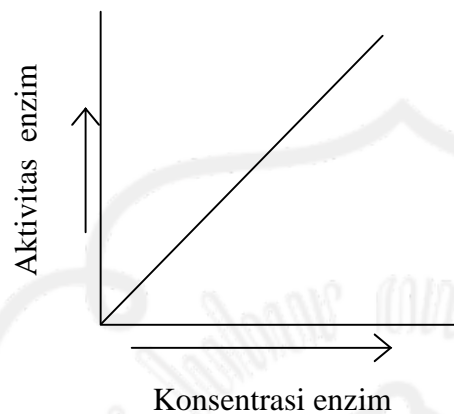
Pengujian secara kualitatif dilakukan dengan cara mengamati zona jernih yang ditunjukkan oleh koloni bakteri, kemudian membagi diameter zona jernih dengan diameter koloni. Hasil bagi diameter tersebut dinyatakan sebagai aktifitas protease secara relative (Slamet Santosa, 2003: 16).

Keadaan-keadaan yang mempengaruhi aktivitas enzim diantaranya :

1 Konsentrasi Enzim

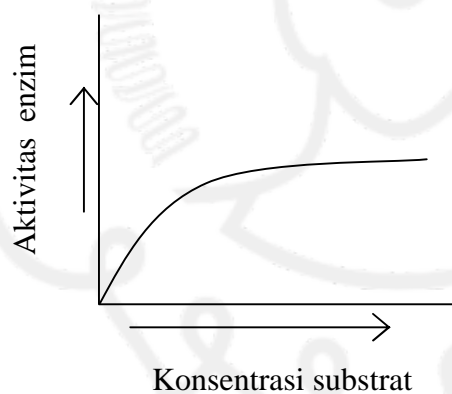
Pengaruh konsentrasi enzim pada laju aktivitas enzim. Dengan enzim-enzim yang derajat kemurniannya tinggi, di dalam batas-batas tertentu, terdapat

suatu hubungan linier antara jumlah enzim dan taraf aktivitas. (perhatikan bahwa aktivitas enzim merupakan ukuran lenyapnya reaktan atau munculnya produk dari reaksi yang dikatalisis).



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi enzim pada laju aktivitas enzim

2 Konsentrasi Substrat

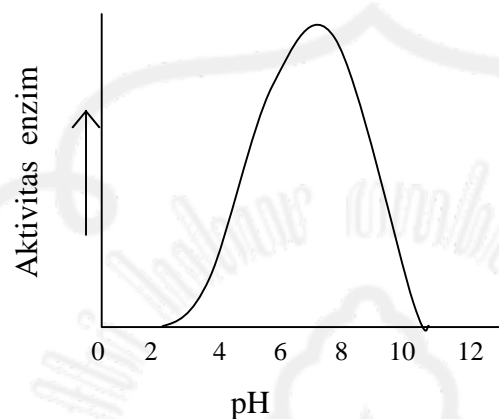


Gambar 4. Pengaruh konsentrasi substrat pada laju aktivitas enzim

Perhatikan gambar 4. Mula-mula laju naik dengan pesat dengan naiknya konsentrasi substrat. Kenaikan konsentrasi substrat selanjutnya tidak berpengaruh pada laju. Laju menjadi tidak tergantung pada konsentrasi substrat.

3 pH

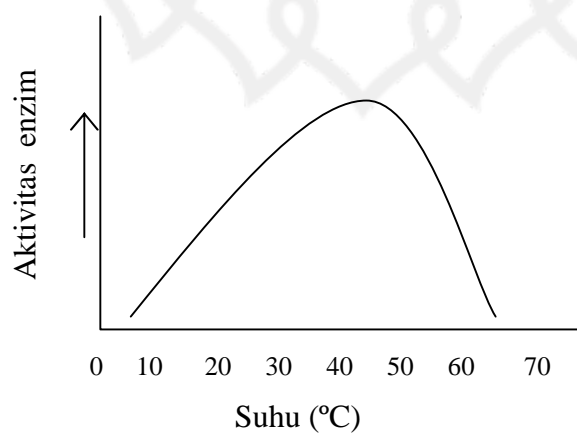
Aktivitas maksimum dicapai pada suatu pH tertentu dan penyimpangan-penyimpangan dari pH tersebut menyebabkan berkurangnya aktivitas (Perhatikan bahwa tidak semua enzim memperlihatkan aktivitas optimum pada pH yang sama)



Gambar 5. Pengaruh pH pada aktivitas enzim

4 Suhu

Mulai pada suatu suhu rendah, aktivitas enzim bertambah dengan naiknya suhu sampai aktivitas optimumnya dicapai. Kenaikan suhu lebih lanjut berakibat dengan berkurangnya aktivitas dan pada akhirnya perusakan enzim (Perhatikan bahwa tidak semua enzim memperlihatkan aktivitas pada suhu yang sama).



Gambar 6. Pengaruh suhu pada aktivitas enzim

3. Viabilitas Bakteri

Kamisa (1997: 596) menyatakan bahwa viabilitas adalah kemungkinan untuk dapat hidup. Menurut Pritanti (1995: 29) viabilitas berarti kelangsungan hidup, aktivitas hidup atau kemungkinan hidup yang ditunjukkan dengan pertumbuhannya (pada bakteri). Sedangkan menurut Partanto dan Dahlan (1991: 776) viabilitas adalah kemampuan hidup, daya hidup suatu makhluk hidup yang dapat ditunjukkan dengan jumlah yang tumbuh ataupun biomassa.

Pengetahuan dan pengertian tentang faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan tersebut sangat penting untuk dapat mengendalikan mikroorganisme. Beberapa faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme meliputi suplai zat gizi, waktu, suhu, air, pH dan tersedianya oksigen.

a. Suplai Zat Gizi

Seperti halnya makhluk lain, mikroorganisme juga membutuhkan suplai makanan yang menjadi sumber energi dan menyediakan unsur-unsur kimia dasar untuk pertumbuhan sel. Unsur-unsur dasar tersebut adalah karbon, nitrogen, hydrogen, oksigen, sulfur, fosfor, magnesium, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya.

b. Waktu

Bila suatu sel mikroorganisme diinokulasi pada media nutrient segar, pertumbuhan yang terlihat mula-mula adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Ketika ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar normal, sel tersebut membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian tumbuh dan membelah diri menghasilkan empat sel dan seterusnya.

Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi terbentuk.

Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda-beda tergantung dari spesies dan kondisi lingkungannya, tetapi untuk kebanyakan bakteri waktu ini berkisar antara 10-60 menit. Tipe pertumbuhan yang cepat ini disebut pertumbuhan logaritmis atau eksponensial.

c. Suhu

Suhu adalah salah satu faktor lingkungan paling penting yang mempengaruhi kehidupan dan pertumbuhan mikroorganisme. Suhu dapat mempengaruhi mikroorganisme dalam dua cara yang berlawanan yaitu: 1) Apabila suhu naik, kecepatan mikroorganisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, kecepatan metabolisme juga turun dan pertumbuhan diperlambat, 2) Apabila suhu naik atau turun, tingkat pertumbuhan mungkin terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan sel-sel dapat mati.

d. Nilai pH

Setiap organisme mempunyai kisaran nilai pH dimana pertumbuhan masih memungkinkan dan masing-masing biasanya mempunyai pH optimum. Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6,0-8,0 dan nilai pH diluar kisaran 2,0 dan 10,0 biasanya bersifat merusak.

e. Aktivitas Air

Semua mikroorganisme membutuhkan air untuk kehidupannya. Air berperan dalam reaksi metabolik dalam sel dan merupakan alat pengangkut zat-zat gizi atau bahan limbah kedalam dan keluar sel.

f. Ketersediaan Oksigen

Mikroorganisme berbeda nyata dalam kebutuhan oksigen guna metabolismenya. Beberapa kelompok dapat dibedakan menjadi: 1) Organisme Aerobik, dimana tersedianya oksigen dan penggunaannya dibutuhkan untuk pertumbuhan, 2) Organisme Anaerobik, tidak dapat tumbuh dengan adanya

oksigen dan oksigen ini dapat merupakan racun bagi organisme tersebut, 3) Organisme Anaerobik fakultatif, dimana oksigen akan dipergunakan apabila tersedia kalau tidak tersedia, organisme tetap dapat tumbuh dalam keadaan anaerobik, 4) Organisme Mikroerofilik yaitu mikroorganisme yang lebih dapat tumbuh pada kadar oksigen yang lebih rendah daripada kadar oksigen dalam atmosfer (Gaman dan Sherrington, 1992: 37-43).

4. Media Carrier

Hadioetomo (1990: 44) mengungkapkan bahwa medium adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau didalamnya. Untuk dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan sebaik-baiknya yang harus dipahami adalah kebutuhan dasarnya, kemudian memformulasikan suatu medium yang memberikan terbaik. Bahan pembawa inokulum atau carrier adalah bahan yang berperan untuk menumbuhkan dan menyimpan suatu mikrobial hasil isolasi dari habitat asli dan memudahkan inokulum tersebut untuk digunakan kembali (Supriyadi, 1995: 15). Beberapa media carrier yang pernah dilakukan dalam penelitian sebelumnya yaitu limbah lateks, gambut dan blotong, serbuk gergaji, campuran tanah dan kompos, kulit kacang tanah, campuran tapioka dan bekatul serta limbah padat udang.

a. Limbah Lateks

Limbah lateks pekat merupakan limbah hasil pengolahan lateks. Limbah lateks mengandung protein yang merupakan sumber nitrogen alternatif pengganti kasein (www.ipard.com, 15 februari 2006). Kelemahan dari limbah lateks yaitu kandungan getah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

b. Gambut dan Blotong

Limbah pabrik gula yang dikenal dengan nama blotong merupakan hasil samping dari pengolahan tebu menjadi gula. Gambut dan blotong mengandung cukup banyak bahan organik, unsur hara (N, P, K, Mg, S) dan beberapa unsur mikro. Kelemahan gambut dan blotong yaitu kurangnya sumber protein yang merupakan salah satu nutrisi penting bagi bakteri proteolitik

c. Serbuk Gergaji

Serbuk gergaji mengandung bahan organik terutama hemiselulosa, selulosa dan lignin serta mengandung berbagai zat ekstrak seperti tanin, resin dan terpentin. Serbuk kayu yang digunakan sebagai tempat tumbuh mengandung karbohidrat, serat, lignin. Kelemahan dari serbuk gergaji yaitu kandungan getah kayu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Cahyana, Muchrodji, 1991).

d. Campuran Tanah dan Kompos

Tanah tersusun dari empat komponen dasar yaitu bahan mineral, bahan organik, air dan udara. Sedangkan kompos memiliki komponen diantaranya nitrogen, phosphor, sulfur. Kelemahan campuran tanah dan kompos yaitu kurangnya sumber protein yang merupakan salah satu nutrisi penting bagi bakteri proteolitik (Mul Mulyani, Kartasapoetra dan Sastroatmadja, 1991).

e. Kulit Kacang Tanah

Kulit kacang tanah merupakan produk samping dari polong kacang tanah. Kandungan selulosa kulit polong mencapai 65%, karbohidrat 21%, lemak 1% dan protein sekitar 8%. Kulit polong ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baker, bahan pembenah tanah tau diproses sebagai bahan campuran pembuatan papan harboard (Adi Sarwanto, 2000). Kelemahan kulit kacang tanah sebagai media carrier bakteri proteolitik adalah rendahnya kandungan protein dan tingginya kandungan selulosa.

f. Tepung Tapioka

Tapioka adalah pati yang diperoleh dari umbi tanaman ubi kayu. Susunan zat makanan dalam 100 gram tepung tapioka mengandung kalori 36,3 kal, protein 1,1 gram, lemak 0,5 gram, karbohidrat 88,2 gram, zat kapur 84 gram, zat besi 1,0 mg (Pinus lingga, 1992). Kandungan protein yang rendah merupakan kelemahan tepung tapioka sebagai media carrier bakteri proteolitik.

g. Limbah Padat Udang

Limbah padat udang berasal dari pengolahan udang. Limbah padat udang berasal kulit udang yang tidak terpakai. Limbah padat udang mengandung protein 8% dan karbohidrat sebesar 15%. Kelemahan dari limbah padat udang yaitu rendahnya kandungan protein (Mavitra E, 2005).

h. Bekatul Padi

Bekatul sebagai hasil samping penggilingan padi diperoleh dari lapisan luar karyopsis beras. Dari proses penggilingan gabah, dihasilkan beras sebanyak 60-66 persen. Hasil bekatul mencapai 8-12 persen. Nilai gizi bekatul sangat baik, kaya akan vitamin B, vitamin E, asam lemak esensial, serat pangan, protein, oryzanol, dan asam ferulat

Bekatul merupakan sumber serat makanan (dietary fiber) yang baik. Serat makanan ini terbukti mampu memperpendek masa tinggal suatu makanan dalam sistem pencernaan. Dengan begitu, dia dapat mengurangi peluang terjadinya kanker kolon. Serat makanan dapat mencegah terjadinya hiperkolesterolemia dan aterosklerosis.

Menurut catatan Pusat Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Bogor, kegiatan penyosohan beras bisa mengikis 7,5 persen bobot beras awal. hasilnya adalah bekatul dengan total serat makanan kadar selulosa, hemi-selulosa, dan lignin yang paling tinggi (www.republika.co.id, 8 Januari 2006).

Komposisi fitokimia bekatul sangat bervariasi, tergantung kepada faktor agronomis, varietas padi, dan proses penggilingannya (derajat sosoh). Fraksi tak tersabunkan dari minyak bekatul terdapat sampai 5% dari berat minyak, dengan kandungan utamanya sterol. Sterol yang terdapat dalam jumlah banyak adalah beta-sitosterol yang jumlahnya 50% dari total sterol.

Komponen penting lainnya adalah senyawa tokol (tokotrienol dan tokoferol). Tokoferol adalah vitamin E yang bersifat antioksidan yang kuat sehingga penting dalam menjaga kesehatan manusia. Kandungan lainnya yang juga memberikan pengaruh kesehatan sangat menguntungkan adalah oryzanol dan asam ferulat (ferulic acid).

Penggunaan bekatul sebagai makanan terbatas karena sifatnya mudah rusak karena aktivitas hidrolitik dan oksidatif dari enzim lipase yang secara alamiah (endogenous) terdapat pada minyak bekatul atau oleh mikroba. Untuk memperoleh bekatul awet bersifat food grade dengan mutu yang tinggi, seluruh komponen penyebab kerusakan harus dikeluarkan atau dihambat, dan pada saat bersamaan kandungan komponen berharga (nutritional) harus tetap dijaga (www.gizi.net, 15 Februari 2006).

Tabel 2. Kandungan bekatul

No	Kandungan Bekatul	Dalam %
1	Bahan kering	87,16
2	Protein kasar	13,26
3	Serat kasar	15,72
4	Abu	15,58
5	Lemak	14,48
6	Karbohidrat	84,36
7	Kalori	4666,13 Kkal/kg
8	Logam Berat Tidak ternyata	-

Sumber: Yusuf Setiawan, 2005

Bekatul mempunyai sumber karbon dan nitrogen lebih kompleks dibandingkan media lain (Chandra dewi, 2004). Kandungan nutrisi tersebut memungkinkan media carrier bekatul dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bagi bakteri proteolitik dalam mendukung daya viabilitasnya.

Kandungan lain dari Bekatul adalah:

1. Kalsium, yang berfungsi mengurangi gangguan insomnia, mendukung sistem saraf dan kontraksi otot, mengatur detak jantung, dan mencegah gumpalan darah.
2. Magnesium, berfungsi mengaktifkan enzim, berperan dalam produksi energi formasi protein dan replikasi sel, meningkatkan kelarutan Kalsium dalam enzim sehingga dapat mencegah terbentuknya batu ginjal.
3. Mangan, berperan pada beberapa enzim yang terlibat pengontrolan gula darah, metabolisme energi serta hormon thyroid, berperan dalam enzim SOD

sehingga sel tidak mudah rusak. Mencegah gangguan epilepsi, mengurangi resiko serangan jantung secara mendadak, berperan dalam fungsi otak.

4. Zat besi, berperan mengatur molekul haemoglobin (sel darah merah), sebagai alat transportasi oksigen dari paru-paru, penting selama perkembangan janin, pada masa remaja, selama kehamilan, dan menyusui.
5. Kalium, bersama natrium berfungsi menjaga keseimbangan cairan tubuh dan fungsi jantung, pengantar pesan syaraf ke otot, menurunkan tekanan darah, dan mengirim oksigen ke otak (www.republika.co.id, 8 Januari 2006).

B. Kerangka Pemikiran

Bakteri proteolitik adalah sekelompok bakteri yang mempunyai kemampuan untuk memecah protein, dengan memutus ikatan peptida pada protein tersebut. Bakteri proteolitik terdiri atas banyak jenis misalnya *E.Coli*, *Klebsiella* dan *Pseudomonas*. Kelompok bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim protease. Salah satu manfaat enzim protease adalah terkait dengan peningkatan nutrisi pakan unggas (Suhartono, 1991).

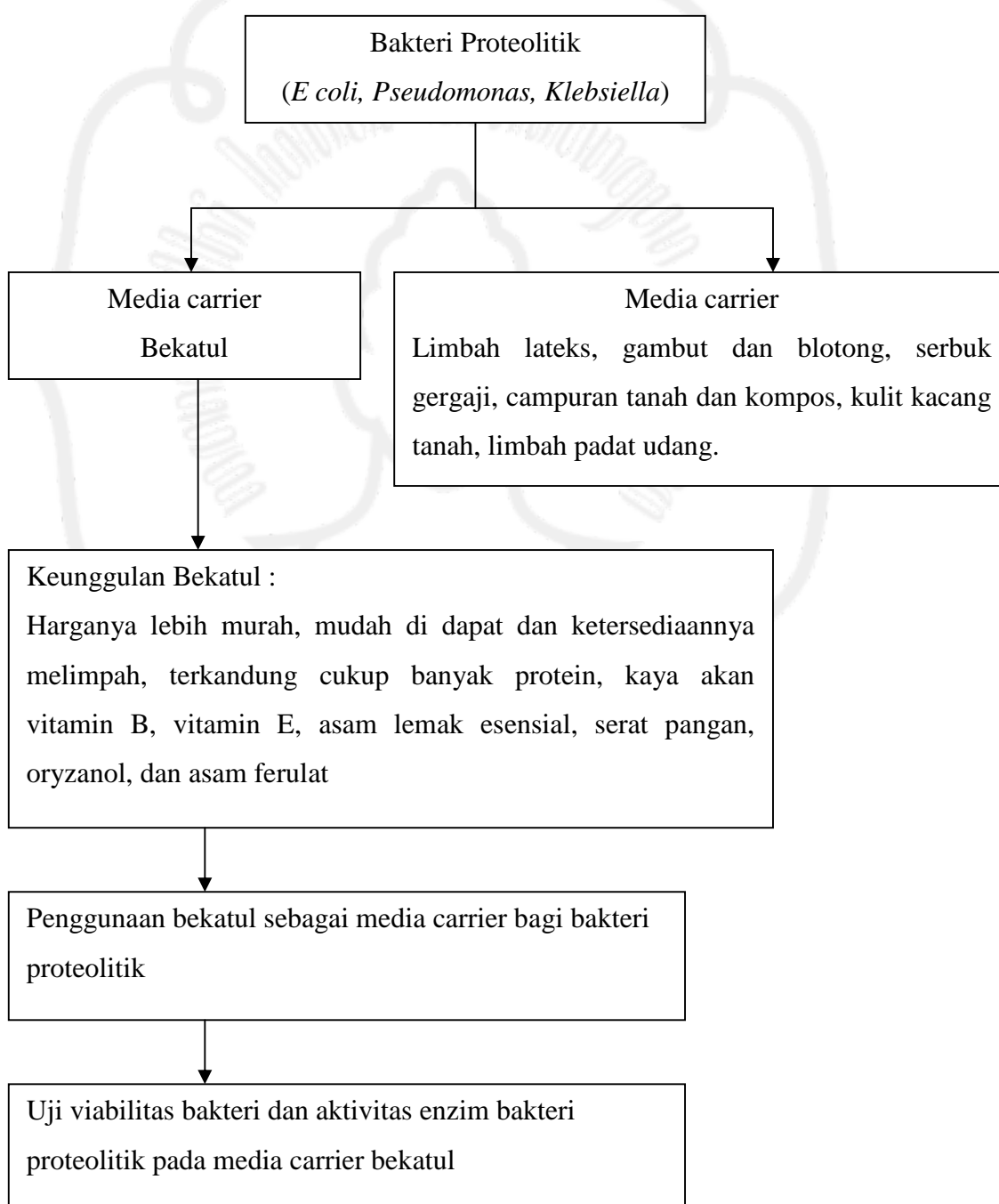
Aplikasi probiotik untuk meningkatkan produksi peternakan unggas membutuhkan beberapa langkah awal. Menentukan dan menyeleksi media carrier yang baik dalam mendukung kultur bakteri proteolitik merupakan langkah yang penting. Melalui upaya tersebut dapat diperoleh kultur bakteri proteolitik yang efektif. Beberapa media pertumbuhan yang pernah digunakan dalam penelitian sebelumnya adalah limbah lateks (www.ipard.com, 15 februari 2006), gambut dan blotong (Supriyadi dan Sudadi, 2001), serbuk gergaji, campuran tanah dan kompos, kulit kacang tanah, campuran tapioka dan bekatul (Valentina R.P, 2005) serta limbah padat udang (Mavitra E, 2005). Dari berbagai penelitian tentang media carrier diatas, bekatul merupakan media yang potensial.

Bekatul mempunyai kandungan komponen-komponen nutrisi yang dibutuhkan bakteri proteolitik. Bekatul mengandung protein tinggi, karbohidrat, lemak, vitamin, asam lemak esensial, serat pangan, oryzanol, dan asam ferulat (www.gizi.net, 15 Februari 2006). Bekatul mempunyai sumber karbon dan nitrogen lebih kompleks dibandingkan media lain. Keunggulan lain yaitu

harganya lebih murah, mudah diperoleh dan tersedia secara melimpah, bahkan merupakan limbah yang dapat mencemari lingkungan.

Berdasarkan potensi bekatul sebagai media carrier, penelitian serupa dapat dilakukan atas bakteri *E.Coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*. Beberapa hal yang perlu dilakukan pada penelitian tersebut meliputi uji viabilitas dan aktivitas enzim proteolitiknya.

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut, maka dapat disusun bagan kerangka pemikiran sebagai berikut :



Gambar 7. Bagan Kerangka Pemikiran

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biologi P.MIPA FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan secara bertahap meliputi:

a. Tahap Persiapan

Meliputi pengajuan judul, pembuatan proposal, seminar proposal dan permohonan ijin penelitian. Waktu yang dibutuhkan mulai bulan Desember 2005 sampai Maret 2006

b. Tahap Penelitian

Meliputi semua kegiatan yang berlangsung di laboratorium yaitu penelitian dan pengambilan data. Waktu yang dibutuhkan mulai bulan Maret sampai Mei 2006

c. Tahap Penyelesaian

Meliputi analisis data dan penyusunan laporan serta perbanyakan. Waktu yang dibutuhkan mulai bulan Juni sampai Juli 2006

B. Bentuk dan Strategi Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif sedangkan strategi yang digunakan bersifat eksploratif dengan data yang diperoleh dari hasil percobaan di laboratorium.

C. Sumber Data

Dalam penelitian, data dari Viabilitas Bakteri dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik yang ditumbuhkan dalam media carrier yaitu Bekatul Padi dengan melakukan percobaan di laboratorium dengan perlakuan waktu yang berbeda yaitu 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari. Viabilitas bakteri ditunjukkan oleh banyaknya jumlah koloni yang hidup dan aktivitas enzim ditunjukkan dengan adanya zona bening yang dihasilkan oleh koloni bakteri.

D. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian adalah teknik total sampling yaitu pengambilan sampel berasal dari semua populasi yang ada. Jadi sampel dalam penelitian adalah Bakteri Proteolitik dengan parameter Viabilitas Bakteri dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik pada media carrier bekatul dengan perlakuan waktu yang berbeda yaitu 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

E. Teknik Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari pengamatan Viabilitas Bakteri dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik pada media carrier Bekatul dengan perlakuan waktu yang berbeda yaitu 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

F. Teknik Analisis Data

Berdasarkan bentuk dan strategi penelitian maka untuk menganalisis data yang diperoleh digunakan pendekatan deskriptif kualitatif yaitu dengan cara memberi penjelasan dan keterangan mengenai hasil yang diperoleh dari laboratorium.

G. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 1) Autoclaf untuk mensterilisasi alat dan bahan, 2) Timbangan analitik untuk menimbang medium dan bahan, 3) Pipet mikro untuk mengambil hasil pengenceran, 4) Tabung reaksi sebagai tempat pengenceran, 5) Erlenmeyer untuk tempat medium sebelum di sterilisasi, 6) Cawan petri untuk tempat medium penumbuh bakteri, 7) Jarum Ose untuk menginokulasi bakteri, 8) Segitiga Perata untuk meratakan, 9) Magnet Stirer, 10) Bunsen, 11) Termometer, 12) Inkubator untuk menginkubasi bakteri, 13) Almari es untuk menyimpan bakteri/kultur.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 1) Bakteri Proteolitik (*E. Coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*) 2) LB Cair dan LB Padat sebagai medium penumbuh, 3) Skim Milk, 4) Aquades sebagai pelarut medium, 5) Alkohol, 6) Label untuk menandai cawan Petri, 7) Media carrier berupa Bekatul Padi.

2. Sterilisasi Peralatan

Semua peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu sebelum disterilisasi. Setelah kering, alat-alat seperti cawan Petri dibungkus dengan kertas buram, sedangkan tabung reaksi, erlenmeyer ditutup dengan kapas serta aluminium foil. Semua alat dimasukkan dalam plastik tahan panas. Sebelum semua alat yang disterilkan dimasukkan dalam autoklaf terlebih dahulu mengisi autoklaf dengan air atau aquades. Autoklaf dinyalakan, saluran air dan saluran

uapnya ditutup. Autoklaf dipasang pada suhu 121°C dan pada tekanan 1 atm, alat disterilisasi kurang lebih 15 menit.

3. Pembuatan Media Cair Luria Bertany (LB)

Trypton seberat 10 gr, Yeast ekstrak seberat 5 gr, NaCl seberat 5 gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu menambahkan aquades sebanyak 1000 ml dan di aduk sampai homogen menggunakan pengaduk elektrik, setelah itu di sterilisasi dalam autoklaf. Kemudian dibiarkan media dingin dan dimasukkan ke dalam almari es.

4. Pembuatan Media Padat Luria Bertany (LB)

Trypton seberat 10 gr, Yeast ekstrak seberat 5 gr, NaCl seberat 5 gr dan agar seberat 15 gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu menambahkan aquades sebanyak 1000 ml kemudian mengaduknya sampai homogen menggunakan pengaduk elektrik, setelah itu disterilisasi dalam autoklaf. Kemudian menuang media dalam cawan petri sebanyak 50 buah dan membiarkan media memadat, dibungkus dengan kertas dan disimpan dalam almari es.

5. Pembuatan Media LB Padat + Skim

Menyiapkan LB Padat+Skim yang akan dibuat media, kemudian menimbang Trypton seberat 5 gr, Yeast ekstrak seberat 2,5 gr, NaCl seberat 2,5 gr, agar seberat 7,5 gr dan Skim milk seberat 10 gr kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan aquades sebanyak 500 ml. Kemudian mengaduk LB Padat + Skim dengan menggunakan stearer setelah itu media LB Padat + Skim disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Media didinginkan sampai suhunya lebih kurang 50°C/hangat-hangat kuku, kemudian menuang media LB Padat + Skim tersebut ke dalam cawan petri,

tiap cawan petri kurang lebih 15 ml media kemudian membiarkan cawan petri kurang lebih 24 jam.

6. Isolasi Bakteri Proteolitik

Mengambil bakteri proteolitik yaitu *E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* dengan menggunakan jarum ose dan memasukkannya ke dalam erlenmeyer berisi LB Cair, masing-masing spesies dalam 1 erlenmeyer kemudian diinkubasi dalam oven dengan suhu 37 °C selama 16 jam.

7. Persiapan Media Carrier

Bekatul ditimbang seberat 1750 gram dan dimasukkan ke dalam 70 cawan Petri. Jadi setiap cawan Petri berisi 25 gram bekatul. Cawan petri yang berisi bekatul dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik tahan panas. Setelah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf untuk di sterilisasi dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm, selama 15 menit.

8. Inokulasi Dalam Media Carrier

Diambil media carrier bekatul kemudian diinokulasi dengan satu bakteri proteolitik yang terdapat dalam LB Cair hasil inkubasi hingga bercampur rata. Proses inokulasi bakteri ke dalam media carrier bekatul dilakukan dalam keadaan aseptik yaitu didekatkan dengan api bunsen. Kemudian diambil lagi media carrier bekatul dan diinokulasi dengan spesies bakteri proteolitik yang lain. Sehingga akan didapatkan 70 cawan Petri dengan perincian sebagai berikut: (7 bakteri x 1 media carrier x 2 konsentrasi). Hasil dari semua perlakuan diinkubasi dalam suhu ruangan dengan perlakuan waktu yang berbeda yaitu 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

9. Penghitungan Viabilitas

Setelah disimpan dalam suhu ruangan sesuai waktu perlakuan dilakukan pengamatan kemampuan hidup bakteri (viabilitas) dengan cara perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Perhitungan dilakukan dengan metode hitungan cawan dan dilakukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar pada cawan petri, sehingga setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Cawan petri yang dipilih untuk penghitungan koloni ialah cawan petri yang mengandung antara 30 sampai 300 koloni (Hadioetomo, 1990).

Diambil inokulum dari media carrier dengan jarum ose secara aseptik, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi LB cair, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 30-37°C selama 16 jam. Dilakukan pengenceran sampai 10^{-7} . Sebanyak 10 μ l dari hasil pengenceran ditumbuhkan dalam LB padat, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 30-37°C selama 13 jam, dilakukan pengamatan dan perhitungan viabilitas atau jumlah koloni bakteri yang hidup dengan cara seperti berikut:

Faktor Pengenceran = Pengenceran X Jumlah yang ditumbuhkan

Jumlah Koloni = Jumlah koloni X 1/ Faktor pengenceran percawan.

(Srikandi Fardiaz, 1993: 35-40)

10. Pengujian Aktivitas Enzim

Setelah disimpan dalam suhu ruangan sesuai waktu perlakuan dilakukan pengamatan koloni tunggal bakteri dari media padat menggunakan ose yang ujungnya runcing dan ditumbuhkan dalam media LB Padat+Skim. Kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 35-37°C selama 16 jam. Aktivitas protease dari bakteri proteolitik ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekitar koloni.

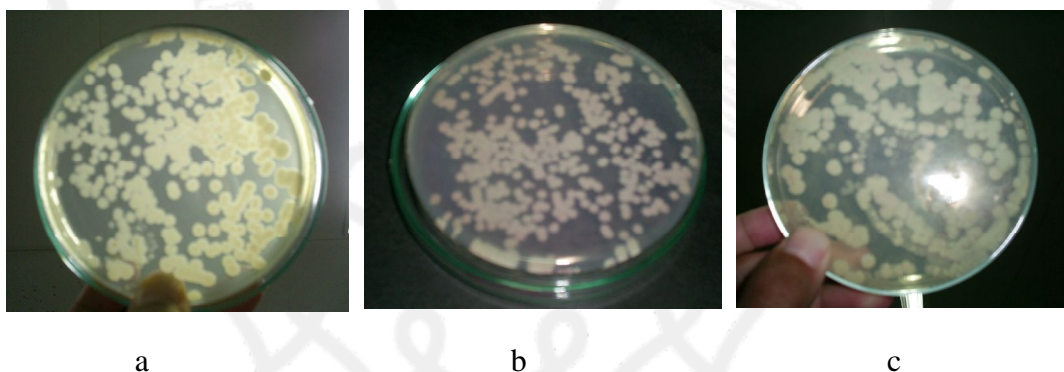
Pengujian secara kualitatif dilakukan dengan cara mengamati zona jernih yang ditunjukkan oleh koloni bakteri, kemudian membagi diameter zona jernih dengan diameter koloni. Hasil bagi diameter tersebut dinyatakan sebagai aktivitas protease secara relatif (Slamet Santosa, 2003).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Viabilitas Bakteri Proteolitik Pada Media Carrier Bekatul

Setelah dilakukan penyimpanan dalam suhu ruangan sesuai waktu perlakuan dan diisolasi dalam media LB padat akan tumbuh koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Pertumbuhan koloni bakteri *E.Coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* dalam uji viabilitas dapat dilihat pada gambar 8



Gambar 8. Viabilitas bakteri proteolitik setelah disimpan selama 20 hari
a. *Pseudomonas* 10^5 , b. *Klebsiella* 10^5 , c. *E. Coli* 10^5

Bakteri *E.Coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* memiliki morfologi luar yang hampir sama, terlihat berwarna putih, berbentuk bundar, dengan tepian berombak. Setelah dilakukan perhitungan koloni bakteri selama penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari, maka didapatkan jumlah koloni yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Viabilitas Bakteri Proteolitik Pada Media Carrier Bekatul (sel/ml).

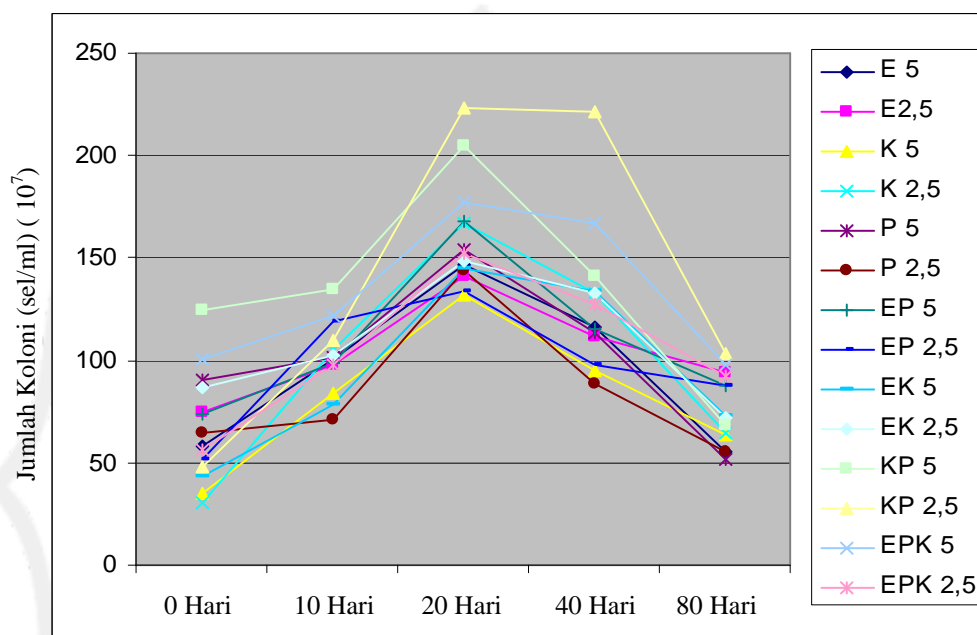
36

No	Bakteri	Waktu Penyimpanan				
		0 Hari	10 Hari	20 Hari	40 Hari	80 Hari
1	E 10 ⁵	57,6667x10 ⁷	100,333x10 ⁷	146,333x10 ⁷	116,333x10 ⁷	55 x10 ⁷
2	E 10 ^{2,5}	74,3333x10 ⁷	97,667 x10 ⁷	141,333x10 ⁷	111,333x10 ⁷	93,6667x10 ⁷
3	K 10 ⁵	34,6667x10 ⁷	84,333 x10 ⁷	132,333x10 ⁷	95 x10 ⁷	64 x10 ⁷
4	K 10 ^{2,5}	30,3333x10 ⁷	105 x10 ⁷	167,333x10 ⁷	132,667x10 ⁷	65 x10 ⁷
5	P 10 ⁵	90 x10 ⁷	101,333x10 ⁷	154 x10 ⁷	113,667x10 ⁷	51,6667x10 ⁷
6	P 10 ^{2,5}	64,3333x10 ⁷	70,6667x10 ⁷	144 x10 ⁷	89 x10 ⁷	55,6667x10 ⁷
7	EP 10 ⁵	74 x10 ⁷	99 x10 ⁷	167,667x10 ⁷	115,667x10 ⁷	87,6667x10 ⁷
8	EP 10 ^{2,5}	52 x10 ⁷	118,667x10 ⁷	133,333x10 ⁷	97,6667x10 ⁷	87,6667x10 ⁷
9	EK 10 ⁵	43,6667x10 ⁷	78,3333x10 ⁷	145 x10 ⁷	134 x10 ⁷	73 x10 ⁷
10	EK 10 ^{2,5}	87 x10 ⁷	102,667x10 ⁷	148,667x10 ⁷	133 x10 ⁷	71,6667x10 ⁷
11	KP 10 ⁵	124,667x10 ⁷	134,667x10 ⁷	205 x10 ⁷	141 x10 ⁷	68,3333x10 ⁷
12	KP 10 ^{2,5}	48,3333x10 ⁷	110 x10 ⁷	223 x10 ⁷	221,667x10 ⁷	103,667x10 ⁷
13	EPK 10 ⁵	101 x10 ⁷	121,667x10 ⁷	177,333x10 ⁷	166,667x10 ⁷	98 x10 ⁷
14	EPK 10 ^{2,5}	56,6667x10 ⁷	97,6667x10 ⁷	152,667x10 ⁷	127 x10 ⁷	92,6667x10 ⁷

Keterangan :

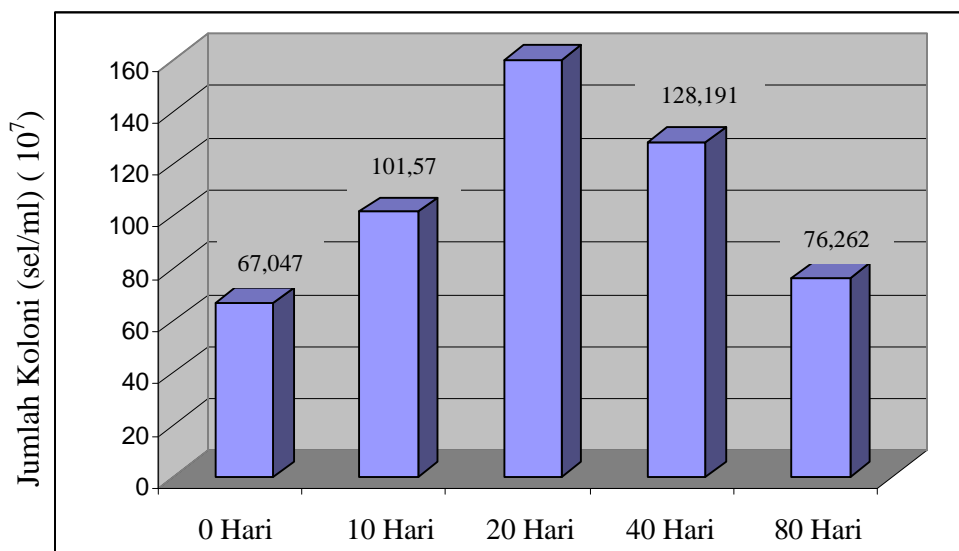
E : *E. coli*P : *Pseudomonas*K : *Klebsiella*EP : *E. coli* + *Pseudomonas*EK : *E. coli* + *Klebsiella*KP : *Klebsiella* + *Pseudomonas*EPK : *E. coli* + *Pseudomonas* + *Klebsiella*

Dari tabulasi tabel 3 dapat dibuat grafik viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul yang dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Viabilitas Bakteri Proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

Secara umum gambaran pertumbuhan koloni dari tabel 3 dapat dibuat rata-rata SPK (Satuan Pembentuk Koloni) bakteri proteolitik selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari dalam bentuk histogram sebagai berikut:



Gambar 10. Diagram batang rata-rata SPK (Satuan Pembentuk Koloni) bakteri proteolitik dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

Berdasarkan histogram dapat dilihat bahwa dari perlakuan waktu yang berbeda menghasilkan keragaman SPK (Satuan Pembentuk Koloni) yang berbeda pula. Perubahan SPK disebabkan karena adanya pertumbuhan bakteri dalam media carrier (Valentina R.P, 2005).

Berdasarkan histogram dapat diketahui ada 3 bentuk laju pertumbuhan yaitu laju pertumbuhan naik, laju pertumbuhan optimum dan laju pertumbuhan turun.

Laju pertumbuhan naik terjadi pada waktu penyimpanan 0 hari sampai 10 hari. Pada waktu 0 hari sampai 10 hari terjadi kenaikan dari 67,048 sel/ml menjadi 101,571 sel/ml atau mengalami kenaikan sebesar 51,5 %. Menurut Mavitra E (2005), pada saat pertumbuhan, aktivitas metabolisme sel tinggi, kecepatan pembelahan tinggi serta waktu generasi pendek. Kenaikan yang cukup tinggi disebabkan karena bakteri mensintesis zat-zat yang terkandung dalam media carrier bekatul yang dapat memicu bakteri dalam menyekresi metabolit selnya untuk pertumbuhan sel secara optimal. Kandungan protein yang cukup tinggi dalam media carrier bekatul dapat digunakan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri proteolitik. Rentang waktu penyimpanan 0 hari sampai 10 hari, bakteri proteolitik menunjukkan kenaikan pertumbuhan yang belum optimal. Hal ini disebabkan

karena pertumbuhan populasi bakteri dipengaruhi oleh lamanya waktu penyimpanan. Sesuai dengan Robert W. Poole (2000), pertumbuhan populasi merupakan fungsi waktu ($N_t = f(t)$) artinya pertumbuhan populasi bakteri dipengaruhi oleh lamanya waktu tinggal bakteri di dalam suatu media carrier. Singkatnya masa tinggal bakteri di dalam media carrier maka pertumbuhan populasi bakteri akan sedikit.

Sedangkan laju pertumbuhan optimum terjadi pada waktu penyimpanan 10 hari sampai 20 hari. Pada waktu 10 hari sampai 20 hari terjadi kenaikan dari 101,571 sel/ml menjadi 159,857 sel/ml atau mengalami kenaikan sebesar 57,4 %. Pertumbuhan bakteri proteolitik dalam waktu 20 hari penyimpanan merupakan pertumbuhan tertinggi bakteri proteolitik dalam kurun waktu penyimpanan selama 0 hari sampai 80 hari. Hal ini dapat terlihat pada histogram viabilitas bakteri proteolitik. Tingginya pertumbuhan bakteri proteolitik dalam waktu 20 hari penyimpanan menunjukkan bahwa pada waktu 20 hari penyimpanan merupakan waktu optimum bakteri proteolitik di dalam media carrier bekatul. Pertumbuhan optimum bakteri disebabkan karena substrat di dalam media carrier bekatul masih mampu memberikan nutrisi atau masih mendukung bagi kehidupan populasi bakteri yang terus meningkat. Sejalan dengan Naughton dan Larry (1990) bahwa puncak jumlah populasi secara positif berhubungan dengan jumlah makanan/nutrisi. Pertumbuhan optimum juga disebabkan oleh adanya aktivitas metabolisme yang tinggi dalam mensintesis zat-zat yang terkandung dalam media carrier bekatul serta kecepatan pembelahan maksimum. Tingginya pertumbuhan bakteri proteolitik menunjukkan tingginya daya viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul.

Laju pertumbuhan turun terjadi pada waktu penyimpanan selama 40 hari sampai 80 hari. Penurunan pertumbuhan dapat dilihat dari penurunan jumlah SPK. SPK 40 hari sebesar 120,199 sel/ml atau mengalami penurunan 19,8 % sedangkan SPK 80 hari sebesar 76,262 sel/ml atau mengalami penurunan 40,5 %. Penurunan SPK disebabkan karena kurangnya faktor pertumbuhan seperti menurunnya suplai nutrisi yang terkandung dalam media carrier bekatul. Menurut Naughton dan Larry (1990) pertumbuhan dan kelangsungan hidup organisme

berkurang karena adanya suplai makanan/nutrisi yang membatasi. Di bawah kondisi makanan yang terbatas maka jumlah organisme akan menurun agak cepat. Selain itu penurunan pertumbuhan disebabkan karena sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel-sel baru (Pelezar dan Chan, 1986). Sejalan dengan Naughton dan Larry (1990) bahwa laju pertumbuhan menurun terjadi karena mortalitas meningkat, reproduksi menurun atau kedua-duanya terjadi. Menurut Mavitra E (2005), keadaan ini menunjukkan adanya kompetisi sesama bakteri dalam memperebutkan nutrisi dan ruang. Juga disebabkan oleh adanya bahan-bahan yang dibuang sel ke dalam medium. Menurut Darmawan Ari N (2000), pada beberapa keadaan dapat diikuti dengan terjadinya lisis dari sel sehingga turbiditas dan jumlah sel yang dihitung secara langsung akan berkurang sejalan dengan pengurangan sel hidup. Terjadi akumulasi lanjut produk metabolit yang menghambat serta nutrisi penting dalam medium habis. Lama waktu penyimpanan juga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan ketahanan hidup (viabilitas) bakteri. Menurut Widyastuti (1995) menyatakan bahwa hampir semua isolat/kultur bakteri mengalami penurunan viabilitas dengan adanya perlakuan waktu penyimpanan selama 3 bulan.

Adanya tiga bentuk laju pertumbuhan menunjukkan bahwa ada faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri dalam suatu media. Menurut Gaman and Sherrington (1992) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri secara umum meliputi waktu, nutrisi, air, suhu, oksigen, pH. Secara umum pada kondisi optimal, bakteri akan memperbanyak diri dengan pembelahan biner sekali setiap 20 menit. Sedangkan semua bakteri memerlukan nutrisi untuk pertumbuhan. Jika nutrisi kurang maka pertumbuhan akan menurun. Air diperlukan bakteri karena air berperan dalam reaksi metabolik dalam sel. Bakteri umumnya tumbuh dan berkembang biak dalam media dengan a_w (water activity) tinggi (0,91). Media yang terlalu pekat menyebabkan sel kekurangan air dan mati. Suhu adalah salah satu faktor lingkungan terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Apabila suhu naik, kecepatan metabolisme naik, pertumbuhan dipercepat dan sebaliknya. Pengaruh ada tidaknya oksigen tergantung jenis bakteri. Jika bakteri aerob obligat maka berkurangnya oksigen

akan berpengaruh terhadap pertumbuhan. Sedangkan untuk pH, bakteri tumbuh baik pada pH 6,6 dan 7,5 (netral). Jika kurang dari kisaran tersebut pertumbuhan kurang optimal.

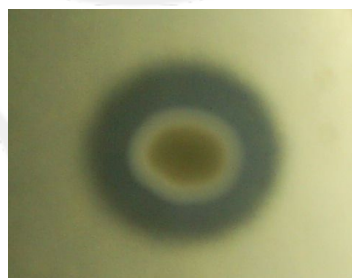
Berdasarkan grafik viabilitas juga didapatkan bahwa bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) dengan waktu simpan 20 hari adalah kombinasi bakteri yang mempunyai daya viabilitas paling tinggi dalam media carrier bekatul yaitu sebesar 223×10^7 sel/ml. Sedangkan bakteri K $10^{2.5}$ (*Klebsiella*) dengan waktu simpan 0 hari merupakan bakteri yang memiliki daya viabilitas paling rendah dalam media carrier bekatul yaitu sebesar $30,3333 \times 10^7$ sel/ml. Besarnya viabilitas bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) dimungkinkan karena bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) memiliki kemampuan hidup/daya hidup (viabilitas) yang tinggi untuk beradaptasi dan bersaing dalam memperoleh makanan yang terkandung dalam media carrier bekatul untuk pertumbuhannya. Serta kombinasi diantara keduanya tidak saling merugikan tapi saling menguntungkan atau mungkin bersifat netral.

Menurut Lud Waluyo (2004), jika pada suatu media terdapat beberapa macam mikroba termasuk bakteri, maka akan terjadi interaksi atau saling mempengaruhi antara mikroba satu dengan mikroba lainnya. Naughton dan Larry (1990) interaksi diantara populasi bakteri dapat bersifat positif artinya mendorong pertumbuhan pada satu atau dua populasi, dapat pula bersifat negatif yang dapat merugikan salah satu populasi, dan dapat bersifat netral yang berarti kehadiran suatu bakteri dalam suatu media tidak berpengaruh terhadap bakteri lain. Jika dilihat dari macam-macam asosiasi antara mikroorganisme sesuai yang ditulis Lud Waluyo (2004), pada campuran *Pseudomonas*, *E. Coli* dan *Klebsiella*, ada beberapa kemungkinan yang terjadi antara lain: antara *Pseudomonas*, *E. Coli* dan *Klebsiella* merupakan asosiasi yang bersifat kompetisi, saling berebut nutrisi yang berada pada media carrier bekatul. Sedangkan antara *Pseudomonas* dan *Klebsiella* terdapat asosiasi netralisme. *Pseudomonas* merupakan bakteri penghasil suatu pigmen biru piosianin (Indan Entjang, 2003). Piosianin merupakan racun bagi beberapa spesies bakteri (Lud Waluyo, 2004).

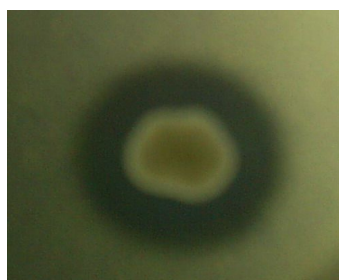
Sejalan dengan pendapat Indan Entjang (2003) dan Lud Waluyo (2004), dalam hal ini piosianin mungkin bersifat racun yang dapat menghambat bakteri *E. Coli* sehingga antara *Pseudomonas* dan *E. Coli* terjadi antagonisme, sedang *Klebsiella* tidak terhambat pertumbuhannya. Antara *Pseudomonas* dan *Klebsiella* bersifat netralisme. Jadi kombinasi bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella*+*Pseudomonas*) memiliki viabilitas yang tinggi karena campuran bakteri ini terdapat asosiasi netralisme yang saling tidak mengganggu. Dalam hal ini, selain kedua bakteri tersebut tidak saling mengganggu juga kedua bakteri tersebut sama-sama mengkonsumsi atau mengabsorpsi nutrisi yang terdapat dalam media carrier bekatul, sehingga pertumbuhan koloni bakteri menjadi paling besar. Naughton dan Larry (1990) menyatakan bahwa kompetisi merupakan salah satu faktor penting dalam menentukan jumlah dan kemelimpahan suatu organisme. Jadi kombinasi atau campuran bakteri dalam suatu media akan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan ketahanan hidup (viabilitas) bakteri.

B. Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik Pada Media Carrier Bekatul

Setelah inokulasi dan inkubasi, bakteri akan mensekresikan protease. Sekresi protease diperlihatkan dengan adanya zona bening di sekeliling pertumbuhan bakteri (Elfi Susanti, 2003). Zona jernih koloni tunggal bakteri proteolitik dapat dilihat pada gambar 11



a



b c

Gambar 11. Zona jernih koloni tunggal bakteri proteolitik setelah disimpan selama 20 hari: a. *E.Coli*, b. *Pseudomonas*, c. *Klebsiella*

Setelah dilakukan pengukuran diameter zona jernih koloni bakteri selama penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari, maka didapatkan data pengamatan aktivitas enzim bakteri proteolitik selama penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari dapat dilihat pada tabel 4.

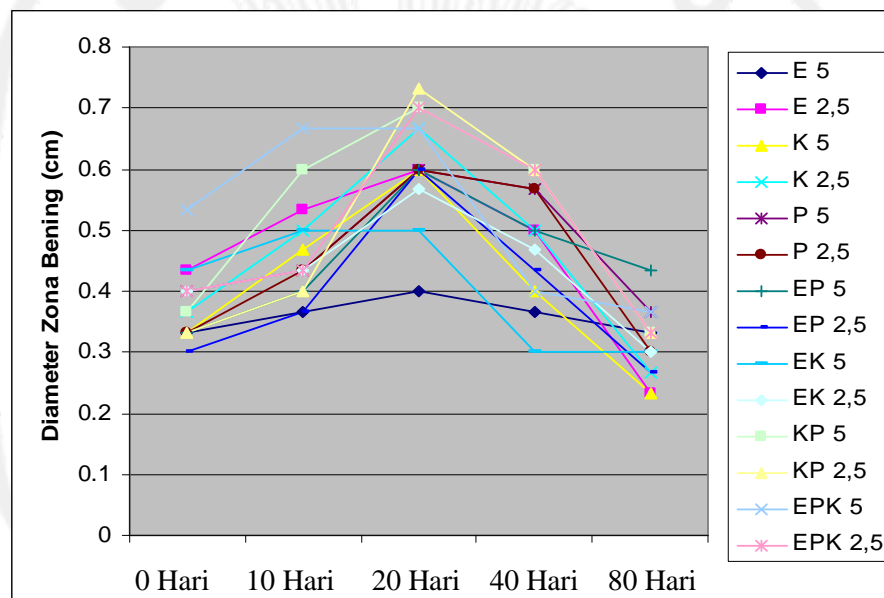
Tabel 4. Aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul (cm)

No	Bakteri	Waktu Penyimpanan				
		0 Hari	10 Hari	20 Hari	40 Hari	80 Hari
1	E 10 ⁵	0,33333	0,36667	0,4	0,36667	0,33333
2	E 10 ^{2,5}	0,43333	0,53333	0,6	0,5	0,23333
3	K 10 ⁵	0,33333	0,46667	0,6	0,4	0,23333
4	K 10 ^{2,5}	0,36667	0,5	0,66667	0,5	0,26667
5	P 10 ⁵	0,4	0,43333	0,6	0,56667	0,36667
6	P 10 ^{2,5}	0,33333	0,43333	0,6	0,56667	0,3
7	EP 10 ⁵	0,33333	0,4	0,6	0,5	0,43333
8	EP 10 ^{2,5}	0,3	0,36667	0,6	0,43333	0,26667
9	EK 10 ⁵	0,43333	0,5	0,5	0,3	0,3
10	EK 10 ^{2,5}	0,4	0,43333	0,56667	0,46667	0,3
11	KP 10 ⁵	0,36667	0,6	0,7	0,6	0,33333
12	KP 10 ^{2,5}	0,33333	0,4	0,73333	0,6	0,33333
13	EPK 10 ⁵	0,53333	0,66667	0,66667	0,4	0,36667
14	EPK 10 ^{2,5}	0,4	0,43333	0,7	0,6	0,33333

Keterangan :

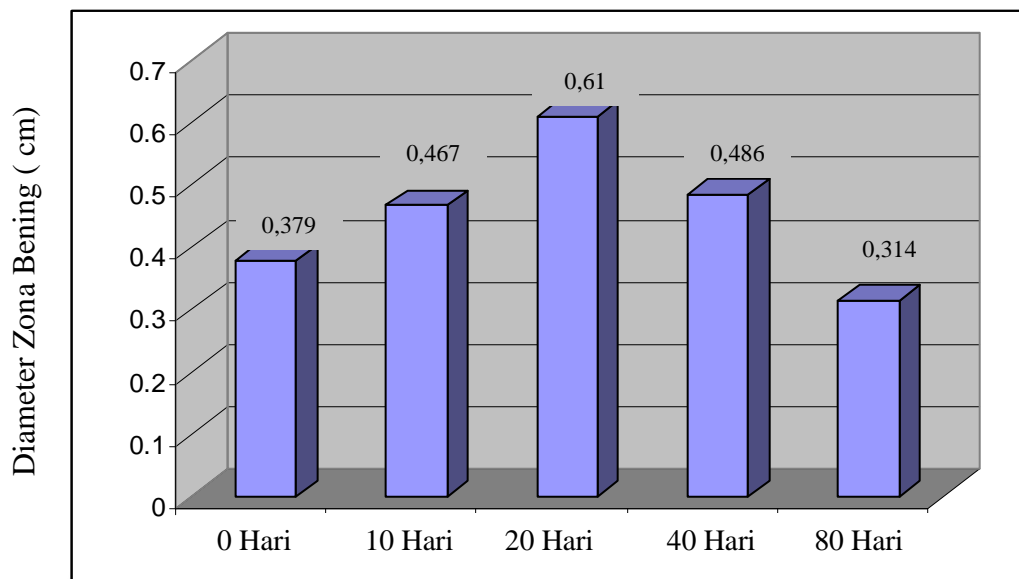
E : *E. coli*
 K : *Klebsiella*
 P : *Pseudomonas*
 EP : *E. coli* + *Pseudomonas*
 EK : *E. coli* + *Klebsiella*
 KP : *Klebsiella* + *Pseudomonas*
 EPK : *E. coli* + *Pseudomonas* + *Klebsiella*

Dari tabulasi tabel 4 dapat dibuat grafik aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari yang dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Grafik aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

Secara umum gambaran aktivitas enzim bakteri proteolitik selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari dapat dibuat dalam bentuk histogram sebagai berikut:



Gambar 13. Diagram batang rata-rata aktivitas enzim bakteri proteolitik dalam waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari.

Pada waktu penyimpanan 0 hari dan 10 hari, rata-rata aktivitas enzim yang dihasilkan bakteri proteolitik sebesar 0,379 cm dan 0,467 cm. Setelah 0 hari sampai 10 hari penyimpanan, bakteri proteolitik mengalami peningkatan aktivitas enzim sebesar 27 %. Peningkatan aktivitas enzim disebabkan oleh adanya substrat yang ada didalam media carrier bekatul. Menurut Chandra Dewi (2004), adanya substrat didalam medium produksi dapat memicu bakteri untuk menyekresi metabolit selnya. Selama pertumbuhan, bakteri proteolitik akan menghasilkan enzim protease. Jika enzim bergabung dengan substrat maka akan menjadi kompleks enzim substrat yang kemudian terurai menjadi produk (Pelezar dan Chan, 1986). Enzim protease akan memecah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga dapat diserap oleh sel dan dapat digunakan untuk pertumbuhan. Aktivitas enzim dalam memecah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dapat diketahui dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri. Peningkatan aktivitas enzim terlihat jelas dengan bertambahnya diameter zona bening yang terdapat disekitar koloni bakteri hasil hidrolisis dengan media skim milk. Skim milk digunakan sebagai sumber protein untuk pertumbuhan bakteri.

Pada kurun waktu 20 hari penyimpanan, bakteri proteolitik masih mengalami peningkatan sebesar 29,8 % dengan rata-rata aktivitas enzim sebesar

0,610 cm. Peningkatan aktivitas menunjukkan bahwa bakteri proteolitik masih aktif melakukan kegiatan hidrolisis kasein pada media yang mengandung skim milk. Protease mengkatalisis degradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptida CO-NH dengan masuknya air ke dalam molekul. Reaksi tersebut melepaskan asam amino. Aktivitas enzim dalam 20 hari penyimpanan merupakan aktivitas enzim yang tertinggi selama kurun waktu 0 hari sampai 80 hari penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa 20 hari penyimpanan merupakan waktu optimum bagi bakteri proteolitik untuk melakukan aktivitas enzim.

Pada waktu penyimpanan 40 hari sampai waktu penyimpanan 80 hari bakteri proteolitik mengalami penurunan aktivitas enzim. Aktivitas enzim pada waktu penyimpanan 40 hari sebesar 0,486 cm atau menurun sebesar 19,7 % sedangkan aktivitas enzim pada waktu penyimpanan 80 hari sebesar 0,314 cm atau menurun sebesar 36,7 %. Penurunan aktivitas enzim dimungkinkan substrat yang ada dalam media carrier bekatul mulai berkurang. Menurut Chandra Dewi (2004), salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah substrat. Substrat yang digunakan dalam metabolisme sel berpengaruh terhadap aktivitas dan produktivitas enzim. Jika substrat ada dalam suatu medium maka enzim akan bekerja membentuk suatu produk sehingga aktivitas enzimnya tinggi. Tetapi apabila substrat dalam suatu medium berkurang maka enzim tidak akan bekerja secara optimal dalam membentuk suatu produk sehingga aktivitas enzimnya rendah. Jadi semakin lama waktu penyimpanan maka substrat semakin berkurang sehingga aktivitas serta produktivitas enzim semakin menurun.

Faktor lain yang mungkin terjadi menurut Mavitra E (2005) adalah penurunan aktivitas enzim terjadi karena meningkatnya kandungan asam amino di dalam medium. Akumulasi asam amino ini bertindak sebagai koreseptor yang berikatan dengan reseptor sehingga reseptor mampu mengikat operator dan menghalangi proses sintesis. Selain itu juga bisa disebabkan karena saling hidrolisis antar protease akibat tidak adanya lagi protein yang dapat dihidrolisis.

Berdasarkan Pelezar dan Chan (1986) faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim diantaranya adalah konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH, suhu. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin tinggi aktivitas enzim.

Sedangkan pada konsentrasi substrat, mula-mula laju naik dengan pesat dengan naiknya konsentrasi substrat. Kenaikan konsentrasi substrat selanjutnya tidak berpengaruh pada laju, laju menjadi tidak bergantung pada konsentrasi substrat. pH juga mempengaruhi aktivitas enzim, dimana aktivitas maksimum dicapai pada suatu pH tertentu dan penyimpangan-penyimpangan dari pH tersebut menyebabkan berkurangnya aktivitas. Sedangkan pada suhu, aktivitas enzim bertambah dengan naiknya suhu sampai aktivitas optimumnya dicapai. Kenaikan suhu lebih lanjut berakibat dengan berkurangnya aktivitas dan pada akhirnya merusak enzim. Uraian diatas jelas bahwa penyimpangan-penyimpangan dari keadaan optimum mengakibatkan berkurangnya aktivitas enzim dengan nyata.

Berdasarkan grafik aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari diketahui bahwa aktivitas enzim tertinggi ditunjukkan oleh bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) pada waktu penyimpanan 20 hari sebesar 0,7333 cm. Sedangkan aktivitas enzim terendah ditunjukkan oleh bakteri K $10^{2.5}$ (*Klebsiella*) pada waktu penyimpanan 80 hari sebesar 0,23333 cm. Berdasarkan hal tersebut dapat diketahui bahwa bakteri KP $10^{2.5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) adalah bakteri yang memiliki aktivitas paling tinggi dalam mensintesis dan menguraikan substrat yang ada didalam medium produksi untuk metabolisme dan pertumbuhan bakteri. Menurut Mardiyono (2005) menyatakan kombinasi diantara kedua bakteri *Klebsiella+Pseudomonas* bersifat netralisme yang tidak saling mengganggu. Selain tidak saling mengganggu, kedua bakteri tersebut juga sama-sama mensintesis substrat yang ada di dalam medium sehingga kombinasi diantara kedua bakteri memiliki aktivitas enzim yang paling tinggi. Jadi kombinasi bakteri berpengaruh terhadap aktivitas enzim bakteri proteolitik. Jika kombinasi diantara kedua bakteri saling menguntungkan (mutualisme) atau tidak saling mengganggu (netralisme) maka akan memiliki aktivitas enzim yang tinggi. Tetapi apabila kombinasi kedua bakteri bersifat merugikan (parasitisme) maka akan memiliki aktivitas enzim yang rendah.

Menduduki urutan kedua, aktivitas enzim tertinggi dihasilkan oleh kombinasi bakteri EPK (*E.Coli+Pseudomonas+Klebsiella*) $10^{2.5}$. Menurut

Saptawan (2006) kombinasi bakteri EPK bekerja secara sinergis yaitu antara satu dengan bakteri lainnya saling menunjang sehingga akan lebih mudah merombak protein menjadi asam-asam amino.

Hasil penelitian menunjukkan pula hubungan antara viabilitas dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul (r_{xy} hitung $>$ r_{xy} tabel) = (0,621679 $>$ 0,532) pada taraf signifikansi 5 %.

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji viabilitas dan uji aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul dapat diaplikasikan kedalam usaha peningkatan nutrisi pakan unggas khususnya ayam broiler. Kombinasi bakteri *Klebsiella*+*Pseudomonas* dan *E.Coli*+*Pseudomonas*+*Klebsiella* adalah kombinasi bakteri yang baik untuk diaplikasikan kedalam pembuatan pakan probiotik untuk ayam broiler. Menurut Mardiyono (2005) kombinasi bakteri *Klebsiella*+*Pseudomonas* bersifat netralisme yang tidak saling mengganggu. Sedangkan menurut Saptawan (2006) kombinasi bakteri *E.Coli*+*Pseudomonas*+*Klebsiella* bersifat sinergis. Berdasarkan penelitian Saptawan (2006) penambahan probiotik bakteri proteolitik dengan tiga jenis bakteri yaitu *E.Coli*+*Pseudomonas*+*Klebsiella* memperoleh hasil yang baik dalam meningkatkan bobot badan ayam broiler. Keunggulan lain yaitu penyerapan protein dalam pakan lebih optimal, kadar nitrogen dalam feses menjadi rendah dan feses tidak bau.

C. Pemahaman Konsep Virus, Monera, Protista pada Siswa SMA Kelas X

Berdasarkan kurikulum 2004, sistem pengajaran yang digunakan pada setiap sekolah mengacu pada pengembangan potensi dari dalam diri siswa, yang lebih dikenal dengan nama kurikulum berbasis kompetensi (KBK). Sistem pengajaran ini meliputi aspek kognitif, psikomotorik, dan afektif. Dalam pengajaran Biologi pada siswa SMA, kemampuan guru membuat variasi pengajaran sangat diutamakan, baik secara teoritis maupun konseptual guna mendukung pelaksanaan kurikulum tersebut

Biologi merupakan mata pelajaran yang banyak memerlukan praktek. Penerapan KBK dalam pembelajaran tersebut akan lebih efektif dibandingkan dengan pembelajaran teoritis di kelas. Metode dalam KBK yang memfokuskan pada kontak langsung dengan obyek belajar dikenal sebagai metode pengajaran *Student Teams Achievement Divisions* (STAD). Selama ini siswa SMA kelas X untuk mata pelajaran Biologi pada pokok bahasan Virus, Monera, Protista, guru

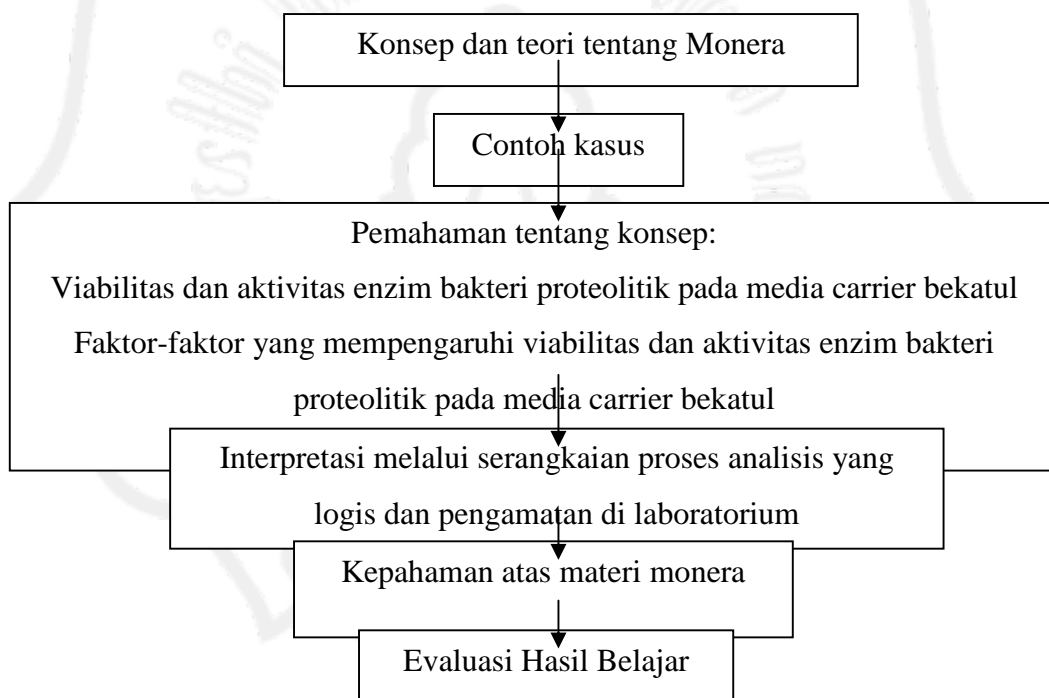
hanya memberikan materi secara teoritis di kelas padahal pokok bahasan tersebut memerlukan praktek dan penyampaian secara audio visual guna melihat fakta yang sebenarnya.

Mengingat terbatasnya sumber bahan belajar bagi siswa SMA kelas X mengenai pokok bahasan monera, hasil penelitian yang didapatkan dapat dijadikan sebagai ilustrasi dan pengkayaan materi dalam menambah pemahaman siswa pada pokok bahasan Virus, Monera, Protista, guna lebih memahami sub pokok bahasan Monera.

1. Organisasi Materi

Secara umum, penelitian mendeskripsikan viabilitas (ketahanan hidup) bakteri dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari. Penelitian tersebut merupakan contoh kasus dalam pembelajaran Virus, Monera, Protista bagi siswa SMA kelas X khususnya pada sub pokok bahasan Monera.

Alur pemahaman konsep pada ketiga sub pokok bahasan di atas dapat dijelaskan melalui gambar sebagai berikut:



Gambar 14. Alur Pemahaman Konsep Monera Siswa SMA Kelas X

2. Ilustrasi Hasil Penelitian

Ilustrasi viabilitas dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari disajikan pada tabel sebagai berikut:

Viabilitas Bakteri Proteolitik

Waktu Inkubasi	Viabilitas Bakteri	Ranking
0 hari	67.04762 sel/ml	5
10 hari	101.5714 sel/ml	3
20 hari	159.8571 sel/ml	1
40 hari	128.1905 sel/ml	2
80 hari	76.26193 sel/ml	4

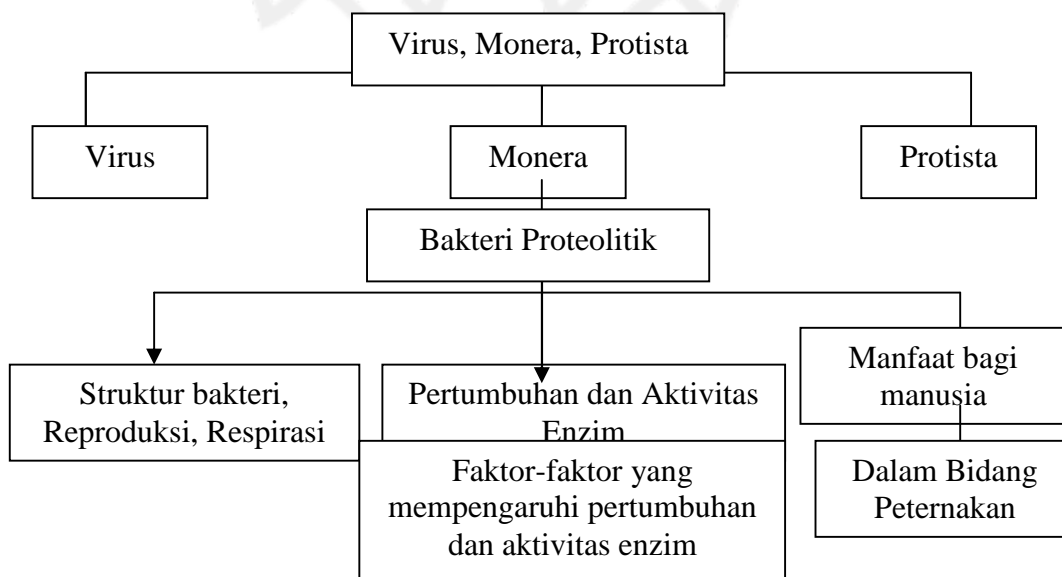
Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik

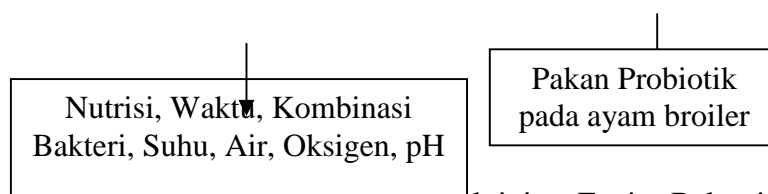
Waktu Inkubasi	Aktivitas Enzim Bakteri	Ranking
0 hari	0,379 cm	4
10 hari	0,467 cm	3
20 hari	0,61 cm	1
40 hari	0,486 cm	2
80 hari	0,314 cm	5

Gambar 15. Ilustrasi Hasil Penelitian tentang viabilitas dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul

3. Charta Pengajaran Virus, Monera, Protista di SMA Kelas X

Dari ilustrasi hasil penelitian, pemahaman tentang konsep Virus, Monera, Protista khususnya pada sub pokok Monera dapat diberikan. Kegiatan belajar yang akan dilaksanakan selain menggunakan hasil penelitian sebagai bahan ajar secara teori, siswa juga diberikan praktikum tentang inokulasi bakteri proteolitik guna melakukan pengamatan secara langsung fakta yang ada di lapangan. Rencana Pembelajaran yang akan dilakukan dan Lembar Kerja Siswa terlampir pada lampiran 5, 6, 7, 8. Secara sistematis, pemahaman tersebut dapat dibuat dalam format charta, sebagai berikut:





Gambar 16. Charta yang menggambarkan viabilitas dan Aktivitas Enzim Bakteri Proteolitik.

Pemahaman konsep tentang pokok bahasan Virus, Monera, Protista pada sub pokok bahasan Monera dapat dijelaskan melalui kajian logis berupa faktor-faktor yang mempengaruhi viabilitas dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul. Selama waktu penyimpanan 0 hari, 10 hari, 20 hari, 40 hari, 80 hari menghasilkan perubahan viabilitas dan aktivitas enzim yang berbeda-beda. Perubahan disebabkan karena adanya pertumbuhan bakteri dalam media carrier. Ada 3 bentuk laju pertumbuhan pada uji viabilitas dan aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul yaitu laju pertumbuhan naik, laju pertumbuhan optimum dan laju pertumbuhan turun.

Laju pertumbuhan naik terjadi pada waktu penyimpanan 0 hari sampai 10 hari. Sedangkan laju pertumbuhan optimum terjadi pada waktu penyimpanan 20 hari Laju pertumbuhan turun terjadi pada waktu penyimpanan selama 40 hari sampai 80 hari.

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri proteolitik dapat dijelaskan sesuai dengan hasil penelitian, yaitu nutrisi, waktu penyimpanan, kombinasi bakteri. Hal tersebut juga dapat menguatkan konsep tentang pertumbuhan bakteri.

BAB V

SIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Viabilitas tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi bakteri KP $10^{2,5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) dengan waktu penyimpanan 20 hari.
2. Aktivitas enzim tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi bakteri KP $10^{2,5}$ (*Klebsiella+Pseudomonas*) dengan waktu penyimpanan 20 hari

B. Implikasi

1. Implikasi Teoretis

Implikasi teoritis dari hasil penelitian ini adalah dapat digunakan sebagai pengetahuan bagi pembaca dan sebagai dasar untuk pengembangan penelitian tentang uji viabilitas dan uji aktivitas enzim mikroorganismenya yang lain.

2. Implikasi Praktis

Implikasi praktis dari penelitian ini adalah penggunaan bakteri proteolitik pada media carrier bekatul sebagai suplemen probiotik pada pakan ayam broiler.

3. Implikasi dalam Bidang Pendidikan

Penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan pengetahuan pada materi bioteknologi dan mikrobiologi di universitas. Serta dapat digunakan sebagai bahan tambahan pada mata pelajaran Biologi SMA (Sekolah Menengah Atas) pada pokok bahasan virus, monera dan protista (lampiran 5, 6, 7, 8).

C Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, saran yang dapat disampaikan adalah:

1. Diperlukan adanya penelitian lebih lanjut mengenai variasi pH, suhu dan konsentrasi substrat terhadap viabilitas bakteri dan aktivitas enzim bakteri proteolitik.
2. Diperlukan penelitian dengan menggunakan media carrier yang lain.



DAFTAR PUSTAKA

- Adi Sarwanto. 2000. *Meningkatkan Produksi Kacang Tanah di Lahan Sawah dan di Lahan Kering*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Ahmad Wahyudi. 2004. *Evaluasi Daya Hidup Bakteri Pada Probiotik Yoghurt Sapi Dengan Bekatul Sebagai Bahan Pembawa*. (<http://digilib.umm.ac.id>, 15 februari 2006)
- Aisjah Girindra. 1986. *Biokimia 1*. Jakarta: PT Gramedia
- Cahyana YA dan Muchroddi. 1999. *Jamur Tiram Pembibitan Pembudidayaan Analisa Usaha*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Chandra Dewi. 2004. *Produksi Gula Reduksi Oleh Rhizopus Oryzae Dari Substrat Bekatul*. Skripsi S1 Biologi FMIPA UNS Surakarta
- Darmawan Ari N. 2000. *Mikrobiologi Industri*. (www.tip.ugm.ac.id, 12 juni 2006)
- Dwidjoseputro. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Malang: Djambatan
- Elfi Susanti. 2003. *Penentuan Aktivitas Dan Jenis Protease Dari Bacillus sp. BAC4¹*. Sainmat Vol 1: 56-57
- Estu Retnaningtyas Nugrahaeni, Retno S. Sudibyo dan Umar Anggara Jenie. 2004. *Pemanfaatan Bekatul Untuk Meningkatkan Produksi Eritromisin Dari Biakan Saccromyces erythraea ATCC 11635*. Sains dan Sibermatika Vol. 17 No.3: 343-361
- Gaman PM dan Sherrington KB. 1981. *Ilmu Pangan Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- _____. 1992. *Ilmu Pangan Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Hadioetomo RS. 1990. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: PT Gramedia
- Indan Entjang. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: PT Citra Aditya Bakti
- Kamisa. 1997. *Kamus Lengkap Bahasa Indonesia*. Surabaya: Kartika
- Kuswanto dan Sudarmadji, 1989. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. FTP. UGM. Yogyakarta: Liberty
- Lay B.W, Sugyo H. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Press

- Lud Waluyo. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press
- Mardiyono. 2005. *Reduksi Krom Heksavalen Limbah Cair Industri Tekstil Oleh Bakteri Pseudomonas, E.Coli, Klebsiella*. Tesis S2 Ilmu Lingkungan Pascasarjana UNS Surakarta
- Mavitra Ellanvihara. 2005. *Pertumbuhan dan Aktivitas Eksoprotease Bacillus Licheniformis dan Bacillus Megaterium di Medium Ekstrak Limbah Padat Udang*. Skripsi S1 Biologi FMIPA UNS Surakarta
- Mul Mulyani, Kartasapoetra dan Sastroatmadja. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: Rineka Cipta
- Naughton dan Larry L. W. 1990. *Ekologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Partanto dan Dahlan. 1991. *Kamus Ilmiah Popular*. Surabaya: Arloka
- Pelczar J.M, Chan E.S.C. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press
- _____. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press
- Pinus Lingga. 1992. *Bertanam Ubi-ubian*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Pritanti, L. 1995. *Uji Viabilitas Candida Tropicalis, Strain G XIII 2.A. Terhadap Senyawa Fenol Pada Medium Air Laut Sintetik. Laporan Penelitian Magang Balibang Mikrobiologi*. Bogor: LIPI
- Robert W. Poole. 2000. *An Introduction To Quantitative Ecology*. Cornell University
- Saptawan H. 2006. *Aplikasi Probiotik Bakteri Proteolitik Pada Pakan Ternak Ayam Broiler Suatu Upaya Penerapan Konsep Peternakan Berwawasan Lingkungan*. Tesis S2 Ilmu Lingkungan Pascasarjana UNS Surakarta
- Slamet S, 2003. *Karakterisasi Enzim Protease Vibrio sp Penyebab Penyakit Berpendar Pada Udang*. Sainmat vol 1: 16
- Srikandi Fardiaz. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada
- Suharsono. 1990. *Enzimologi*. Yogyakarta: UGM Press
- Suhartono. 1991. *Protease*. Bogor: IPB Press

- Supriyadi. 1995. *Ketersediaan Fosfat Untuk Tanaman Tebu Pada Tanah Oxisol Pelaihari Yang Diperlukan Dengan Bahan Organic Dan Bakteri Pelarut Fosfat*. Tesis S2. Jurusan Tanah, Program Pasca Sarjana UGM Yogyakarta
- Supriyadi dan Sudadi, 2001. *Efektifitas Bakteri Pelarut Fosfat Pada Beberapa Macam Bahan Pembawa Inokulum*. Sains Tanah Vol. 1 No. 1: 30-36
- Valentina R.P, 2005. *Uji Viabilitas Mikroorganisme Efektif BIOEDU_UNSI Pada Berbagai Media Carrier*. Surakarta: Skripsi S1 Pendidikan Biologi FKIP UNS
- Widyastuti, 1995. *Proyek Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi*. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI (www.dbripteck.lipi.go.id, 12 juni 2006)
- Yusuf Setiawan, M. 2005. *Pengaruh Suplemen Ampas Tahu dan Dedak Padi Dalam Ransum Dasar Rumput Lapangan Terhadap Perforban Kambing Jantan Peranakan Etawa*. Skripsi S1 Universitas Sebelas Maret Surakarta
- www.republika.co.id (8 Januari 2006)
- www.gizi.net (15 Februari 2006)
- www.ipard.com (15 Februari 2006)
- [http:// library.usu.ac.id](http://library.usu.ac.id) (15 Februari 2006)

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil perhitungan viabilitas bakteri proteolitik pada media carrier bekatul (sel/ml).

No	Bakteri	Waktu				
		0 Hari	10 Hari	20 Hari	40 Hari	80 Hari
1	E 10 ⁵	57.6667x10 ⁷	100.333x10 ⁷	146.333x10 ⁷	116.333x10 ⁷	55 x10 ⁷
2	E 10 ^{2,5}	74.3333x10 ⁷	97.667 x10 ⁷	141.333x10 ⁷	111.333x10 ⁷	93.6667x10 ⁷
3	K 10 ⁵	34.6667x10 ⁷	84.333 x10 ⁷	132.333x10 ⁷	95 x10 ⁷	64 x10 ⁷
4	K 10 ^{2,5}	30.3333x10 ⁷	105 x10 ⁷	167.333x10 ⁷	132.667x10 ⁷	65 x10 ⁷
5	P 10 ⁵	90 x10 ⁷	101.333x10 ⁷	154 x10 ⁷	113.667x10 ⁷	51.6667x10 ⁷
6	P 10 ^{2,5}	64.3333x10 ⁷	70.6667x10 ⁷	144 x10 ⁷	89 x10 ⁷	55.6667x10 ⁷
7	EP10 ⁵	74 x10 ⁷	99 x10 ⁷	167.667x10 ⁷	115.667x10 ⁷	87.6667x10 ⁷
8	EP 10 ^{2,5}	52 x10 ⁷	118.667x10 ⁷	133.333x10 ⁷	97.6667x10 ⁷	87.6667x10 ⁷
9	EK 10 ⁵	43.6667x10 ⁷	78.3333x10 ⁷	145 x10 ⁷	134 x10 ⁷	73 x10 ⁷
10	EK 10 ^{2,5}	87 x10 ⁷	102.667x10 ⁷	148.667x10 ⁷	133 x10 ⁷	71.6667x10 ⁷
11	KP 10 ⁵	124.667x10 ⁷	134.667x10 ⁷	205 x10 ⁷	141 x10 ⁷	68.3333x10 ⁷
12	KP 10 ^{2,5}	48.3333x10 ⁷	110 x10 ⁷	223 x10 ⁷	221.667x10 ⁷	103.667x10 ⁷
13	EPK 10 ⁵	101 x10 ⁷	121.667x10 ⁷	177.333x10 ⁷	166.667x10 ⁷	98 x10 ⁷
14	EPK 10 ^{2,5}	56.6667x10 ⁷	97.6667x10 ⁷	152.667x10 ⁷	127 x10 ⁷	92.6667x10 ⁷

Keterangan :

E : *E. coli*

K : *Klebsiella*

P : *Pseudomonas*
 EP : *E. coli* + *Pseudomonas*
 EK : *E. coli* + *Klebsiella*
 KP : *Klebsiella* + *Pseudomonas*
 EPK : *E. coli* + *Pseudomonas* + *Klebsiella*

Lampiran 2. Hasil perhitungan Aktivitas enzim bakteri proteolitik pada media carrier bekatul (cm)

No	Bakteri	Waktu				
		0 Hari	10 Hari	20 Hari	40 Hari	80 Hari
1	E 5	0.33333	0.36667	0.4	0.36667	0.33333
2	E 2,5	0.43333	0.53333	0.6	0.5	0.23333
3	K 5	0.33333	0.46667	0.6	0.4	0.23333
4	K 2.5	0.36667	0.5	0.66667	0.5	0.26667
5	P 5	0.4	0.43333	0.6	0.56667	0.36667
6	P 2,5	0.33333	0.43333	0.6	0.56667	0.3
7	EP 5	0.33333	0.4	0.6	0.5	0.43333
8	EP 2,5	0.3	0.36667	0.6	0.43333	0.26667
9	EK 5	0.43333	0.5	0.5	0.3	0.3
10	EK 2,5	0.4	0.43333	0.56667	0.46667	0.3
11	KP 5	0.36667	0.6	0.7	0.6	0.33333
12	KP 2,5	0.33333	0.4	0.73333	0.6	0.33333
13	EPK 5	0.53333	0.66667	0.66667	0.4	0.36667
14	EPK 2,5	0.4	0.43333	0.7	0.6	0.33333

Keterangan :

E : *E. coli*

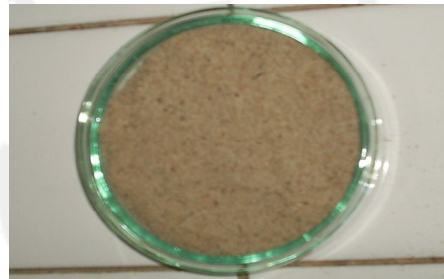
K : *Klebsiella*

P : *Pseudomonas*
EP : *E. coli* + *Pseudomonas*
EK : *E. coli* + *Klebsiella*
KP : *Klebsiella* + *Pseudomonas*
EPK : *E. coli* + *Pseudomonas* + *Klebsiella*

Lampiran 3. Alat dan Bahan



Bahan pembuat LB padat dan LB cair



Media carrier bekatul



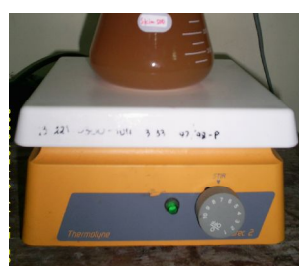
Bakteri *Pseudomonas*



Bakteri *Klebsiella*



Bakteri *E. Coli*



Inkubator

Stirer

Bunsen, Korek Api, Gelas Ukur



Autoclave



Timbangan Analitik



Petri, Erlenmeyer, Pipet tetes

Gambar 17. Alat dan Bahan

Lampiran 4. Prosedur Kerja Penelitian



Strerilisasi alat bahan



Pembuatan LB



Isolasi bakteri



Biakan bakteri dalam LB Cair



Penyimpanan pada suhu ruang



Isolasi bakteri dari media carrier bekatul



Pengenceran 10^{-7}



Penanaman bakteri dalam LB Padat



Viabilitas bakteri P 10^5 selama 20 hari



Penanaman bakteri pada uji aktivitas enzim Zona Jernih EPK 10^5 selama 0 hari

Gambar 18. Prosedur Kerja Penelitian

Lampiran 5. Rencana Pembelajaran I

RENCANA PEMBELAJARAN

Mata Pelajaran	: Biologi
Pokok Bahasan	: Virus, Monera, Protista
Jenjang	: SMA
Kelas/Semester	: X/2
Alokasi/Waktu	: 4 X 45'

A. STANDAR KOMPETENSI

Siswa mampu mengaplikasikan prinsip-prinsip pengelompokan makhluk hidup untuk mempelajari keanekaragamannya dan peran keanekaragaman hayati bagi kehidupan.

B. KOMPETENSI DASAR

Mendeskripsikan ciri-ciri monera dan mengkomunikasikan peranannya dalam kehidupan

C. INDIKATOR

1. Menunjukkan ciri-ciri monera
2. Membedakan monera (prokariotik) dengan organisme eukariotik

3. Merangkum informasi dan memberi contoh monera yang bermanfaat dan membahayakan

D. STRATEGI PEMBELAJARAN

- Metode : *Student Teams Achievement Divisions* (STAD)
- Pendekatan : Konstruktivisme

E. MATERI POKOK

1. Struktur bakteri
2. Bentuk dan ukuran tubuh bakteri
3. Reproduksi bakteri
4. Daur pertumbuhan populasi bakteri

F. MEDIA PEMBELAJARAN

Lembar Kerja Siswa (LKS)

G. PENILAIAN

- Kognitif : Hasil tes obyektif
- Afektif : Hasil observasi guru tentang sikap siswa saat kegiatan diskusi
- Psikomotor : Hasil observasi guru tentang kinerja siswa dalam inokulasi bakteri proteolitik

H. SUMBER BELAJAR

1. Drs. Istamar Syamsuri. 2004. *Biologi*. Jakarta: Erlangga
2. Drs. Slamet Prawirohartono. 2004. *Biologi*. Jakarta: Bumi Aksara
3. DA Pratiwi dkk. 2004. *Biologi*. Jakarta: Erlangga
4. Arif Priadi dkk. 2004. *Biologi*. Jakarta: Yudhistira

I. SKENARIO PEMBELAJARAN

1. KBM Pertemuan I

No	Kegiatan	Waktu
1.	<p>Pendahuluan</p> <ul style="list-style-type: none">- Guru menjelaskan tujuan kegiatan yang akan dilakukan.- Guru membagi seluruh siswa menjadi 10 kelompok (setiap kelompok terdiri dari 4-5 siswa).	10'
2.	<p>Kegiatan Pokok</p> <ul style="list-style-type: none">- Guru memberikan materi pelajaran dengan memberi motivasi : Sebutkan ciri-ciri monera?- Siswa memperhatikan penjelasan dari guru.- Siswa berdiskusi dalam kelompok dengan materi pokok monera.- Guru membimbing siswa yang mengalami kesulitan dalam diskusi.	70'
3.	<p>Penutup</p> <ul style="list-style-type: none">- Guru membuat kesimpulan bersama dengan siswa	10'

Surakarta, Agustus 2006
Guru Biologi

Winarwi

Lampiran 6. Rencana Pembelajaran II

RENCANA PEMBELAJARAN

Mata Pelajaran : Biologi
Pokok Bahasan : Virus, Monera, Protista
Jenjang : SMA
Kelas/Semester : X/2
Alokasi/Waktu : 4 X 45'

A. STANDAR KOMPETENSI

Siswa mampu mengaplikasikan prinsip-prinsip pengelompokan makhluk hidup untuk mempelajari keanekaragamannya dan peran keanekaragaman hayati bagi kehidupan.

B. KOMPETENSI DASAR

Mendeskripsikan ciri-ciri monera dan mengkomunikasikan peranannya dalam kehidupan

C. INDIKATOR

4. Merencanakan dan melakukan percobaan serta melaporkan hasilnya yang baik secara lisan/tulisan tentang pemanfaatan monera dalam pengolahan makanan.

D. STRATEGI PEMBELAJARAN

- Metode : *Student Teams Achievement Divisions* (STAD) dan Eksperimen
- Pendekatan : Konstruktivisme

E. MATERI POKOK

1. Respirasi bakteri
2. Peranan bakteri dalam kehidupan

F. MEDIA PEMBELAJARAN

Lembar Kerja Siswa (LKS)

G. PENILAIAN

- Kognitif : Hasil tes obyektif
- Afektif : Hasil observasi guru tentang sikap siswa saat kegiatan diskusi
- Psikomotor : Hasil observasi guru tentang kinerja siswa dalam inokulasi bakteri proteolitik

H. SUMBER BELAJAR

- 1 Drs. Istamar Syamsuri. 2004. *Biologi*. Jakarta: Erlangga
- 2 Drs. Slamet Prawirohartono. 2004. *Biologi*. Jakarta: Bumi Aksara
- 3 DA Pratiwi dkk. 2004. *Biologi*. Jakarta: Erlangga
- 4 Arif Priadi dkk. 2004. *Biologi*. Jakarta: Yudhistira

I. SKENARIO PEMBELAJARAN

2. KBM Pertemuan II

No	Kegiatan	Waktu
1.	Pendahuluan - Guru menjelaskan tujuan kegiatan yang akan dilakukan.	5'
2.	Kegiatan Pokok - Guru membagi seluruh siswa menjadi 10 kelompok (setiap kelompok terdiri dari 4-5 siswa). - Siswa mengadakan praktikum tentang inokulasi bakteri proteolitik dengan panduan berupa LKS yang telah disediakan guru serta siswa membuat laporan sementara. - Guru memberikan post test/ulangan harian tentang materi monera. - Siswa mengerjakan ulangan harian tersebut	45'
3.	Penutup - Guru membuat kesimpulan bersama dengan siswa	30'
		10'

J. TAGIHAN

1. Mengumpulkan laporan praktikum monera

2006

Surakarta, Agustus

Guru Biologi

Winarwi

Lampiran 7 . Lembar Kerja Siswa Untuk Praktikum

LEMBAR KERJA SISWA

Judul : Inokulasi bakteri proteolitik
Mata Pelajaran : Biologi
Kelas / Semester : X / II
Waktu : 1 x 45 Menit

A. Tujuan :

Dapat melakukan inokulasi bakteri proteolitik pada media LB Padat

B. Alat Dan Bahan :

➤ Bahan

1. LB Padat
2. Biakan Murni Bakteri *E.Coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*
3. Alkohol 70 %
4. Kapas
5. Aluminium foil

➤ Alat

1. Cawan petri
2. Bunsen
3. Ose
4. Erlenmeyer

C. Cara Kerja :

1. Timbang bahan pembuatan LB Padat dengan komposisi : Trypton 2 gram, Yeast Ekstrak 1 gram, NaCl 1 gram, Agar 3 gram, Akuades 200 ml

2. Masukkan bahan-bahan kedalam erlenmeyer dan dihomogenkan menggunakan magnet stirer
3. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminuim foil
4. Sterilisasi bahan menggunakan autockaf selama 15 menit
5. Bahan didinginkan sampai hangat-hangat kuku baru dituang dalam cawan petri steril sebanyak 15-20 ml
6. Didiamkan sampai bahan memadat
7. Ambil bakteri proteolitik menggunakan ose steril didekat api bunsen
8. Gores bakteri pada LB padat dengan menggunakan metode kuadran
9. Simpan pada inkubator pada suhu 37⁰C selama 16 jam
10. Amati apakah terjadi kontaminasi atau tidak

D. Data Pengamatan:

Kelompok:

No	Jenis bakteri	Kontaminasi		Keterangan
		Tidak	Ya	
			Bakteri	
1	<i>E.Coli</i>			
2	<i>Pseudomonas</i>			
3	<i>Klebsiella</i>			

E. Pertanyaan :

1. Hal-hal apa yang mengakibatkan terjadinya kontaminasi pada suatu media?
2. Bagaimana cara menggores bakteri yang benar?
3. Bagaimana pertumbuhan bakteri proteolitik setelah disimpan selama 16 jam?
4. Faktor-faktor apa yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri?
5. Apa manfaat bakteri proteolitik pada kehidupan manusia?

Lampiran 8. Soal-Soal Ulangan Harian

SOAL-SOAL ULANGAN HARIAN MATERI MONERA

1. Sebutkan 4 macam bakteri berdasarkan keberadaan dan letak flagelum?
2. Sebutkan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan koloni bakteri?
3. Jelaskan cara respirasi dan makan pada bakteri?
4. Sebutkan jenis bakteri berdasarkan cara hidupnya?
5. Jelaskan peranan bakteri dalam bidang pertanian?
6. Sebutkan 4 contoh bakteri yang merugikan bagi kehidupan manusia?
7. Sebutkan 4 contoh bakteri yang menguntungkan bagi kehidupan manusia?
8. Bagaimana langkah kerja dari inokulasi bakteri proteolitik?
9. Sebutkan ciri khas bakteri proteolitik?
10. Jelaskan peranan bakteri proteolitik bagi kehidupan manusia?

SELAMAT MENGERJAKAN

Lampiran 9. Penentuan Koefisien Korelasi Dalam Regresi

Penentuan Koefisien Korelasi Dalam Regresi

No	WAKTU 20 HARI				
	X	Y	X.Y	X ²	Y ²
1	146,333	0,4	58,53332	21413,43	0,16
2	141,333	0,6	84,79998	19975,1	0,36
3	132,333	0,6	79,39998	17512,1	0,36
4	167,333	0,66667	111,5561	28000,43	0,444449
5	154	0,6	92,4	23716	0,36
6	144	0,6	86,4	20736	0,36
7	167,667	0,6	100,6	28112,12	0,36
8	133,333	0,6	79,99998	17777,77	0,36
9	145	0,5	72,5	21025	0,25
10	148,667	0,56667	84,24451	22101,79	0,321111
11	205	0,7	143,5	42025	0,49
12	223	0,73333	163,5333	49729	0,537777
13	177,333	0,66667	118,2228	31447,1	0,444449
14	152,667	0,7	106,8667	23307,12	0,49
∑	2238	8,53334	1382,557	366878	5,297787

N = 14

X = Viabilitas Bakteri

Y = Aktivitas Enzim

$$r_{xy} = \frac{N \cdot \sum XY - (\sum X) \cdot (\sum Y)}{\sqrt{(N \cdot \sum X^2 - (\sum X)^2) (N \cdot \sum Y^2 - (\sum Y)^2)}}$$

$$= \frac{14 \times 1382,557 - (2238) \times (8,53334)}{\sqrt{(14 \times 366878 - (2238)^2) \times (14 \times 5,297787 - (8,53334)^2)}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{19355,798 - 19097,61492}{\sqrt{(5136292 - 5008644) \times (74,169018 - 72,8178915556)}} \\
 &= \frac{258,18308}{\sqrt{127648 \times 1,3511264444}} \\
 &= \frac{258,18308}{\sqrt{172468,5883747712}} \\
 &= \frac{258,18308}{415,93376271246589}
 \end{aligned}$$

$$r_{xy} \text{ Hitung} = 0,621679$$

$$r_{xy} \text{ Tabel} = 0,532 \text{ (Tarf Signifikasi 5 \%)}$$

Jika $r_{xy} \text{ Hitung} > r_{xy} \text{ Tabel}$ berarti ada hubungan atau korelasi

PERIJINAN

