

**OPTIMALISASI PRODUKSI α -AMILASE DAN GLUKOAMILASE
DARI BAKTERI PROTEOLITIK ASAL PENCERNAAN IKAN NILA GIFT**

**OPTIMALIZATION OF α -AMYLASE DAN GLUCOAMYLASE PRODUCTION
FROM PROTEOLYTIC BACTERIA FROM DIGESTIVE TRACT OF
TILAPIAS STRAIN GIFT**

**MUHAMMAD NOVIANTO BAYU SAPUTRO¹, NISA RACHMANIA MUBARIK¹,
ANJA MERYANDINI¹**

¹Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor
Jalan Agatis Gedung FAPET Lantai 5 Kampus IPB Darmaga Bogor

Diterima 20 Agustus 2008/Disetujui 15 September 2008

ABSTRACT

Probiotic technology has become one of the alternative tools to increase the fishery productivity. The aims of this experiment was to screen amylolytic isolates that consisted both α -amylase and glucoamylase from proteolytic bacteria isolated from digestive tract of Tilapias strain GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapias). From 31 proteolytic bacteria, 18 isolates produced extracellular amylase, 3 isolates (NU1, NU2, NL15) which showed the biggest amylolytic index and resulted one isolate, NU2, produced both α -amylase and glucoamylase. α -Amylase activity was measured by the method of Bernfeld and glucoamylase activity by the method of Somogyi-Nelson. Protein was determined by the method of Bradford. The isolates NU2 which belonged to Bacillus sp. produced highest both α -amylase and glucoamylase activity after 15 hours incubation. Enzymes characterization showed optimum activity of α -amylase at 37°C and pH 6-7, while glucoamylase at 40°C and pH 6. The use of nutrient broth with 0.5% (b/v) fish flour as substrate has enhanced both enzymes activity.

Key words: Glucoamylase, proteolytic bacteria, probiotic

*Penulis untuk korespondensi, Tel./Fax. 0251-622833
E-mail: nrachmania@ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Penggunaan teknologi probiotik telah menjadi salah satu alternatif dalam usaha meningkatkan produktivitas perikanan. Probiotik didefinisikan sebagai suplemen mikroba hidup yang memberikan efek menguntungkan terhadap inangnya dengan cara mengubah struktur komunitas mikroba, meningkatkan fungsi pemanfaatan pakan, meningkatkan nilai gizi pakan, meningkatkan ketahanan inang terhadap penyakit, serta meningkatkan kualitas lingkungan disekitar inang (Verschuere *et al.* 2000).

Prinsip dasar kerja probiotik ialah pemanfaatan kemampuan mikroorganisme dalam memecah atau menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein, dan lemak yang menyusun pakan yang diberikan (Feliatra *et al.* 2004). Kemampuan ini diperoleh karena adanya enzim-enzim khusus yang dimiliki mikroba untuk memecah ikatan tersebut. Enzim α -amilase dan glukoamilase merupakan enzim yang memiliki peranan dalam proses perombakan karbohidrat atau pati. Enzim α -amilase (EC 3.2.1.1) mengkatalisis pemutusan ikatan glikosidik α -1,4 dari dalam molekul pati, sedangkan glukoamilase atau amiloglukosidase (EC 3.2.1.3) menghidrolisis ikatan glikosidik α -1,4 dan α -1,6 dari bagian ujung gula nonpereduksi secara berurutan (Fogarty 1983).

Feliatra *et al.* (2004) telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. Demikian pula Mubarik *et al.* (2006) melaporkan telah berhasil mengisolasi tiga puluh satu isolat bakteri proteolitik dari pencernaan ikan nila GIFT (*Genetic Improvement of Farmed Tilapias*) dan beberapa isolat terpilih. Penelitian tersebut telah berhasil dikarakterisasi aktivitas proteasenya. Sehubungan dengan upaya menggali kemampuan isolat-isolat proteolitik yang memiliki potensi menghasilkan enzim amilase ekstraseluler, maka penelitian ini bertujuan untuk menapis isolat-isolat proteolitik tersebut yang memiliki aktivitas enzim α -amilase dan glukoamilase sehingga isolat-isolat tersebut dapat diaplikasikan sebagai agen probiotik dalam budidaya perikanan air tawar.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat. Bahan-bahan yang digunakan ialah 31 isolat bakteri proteolitik asal ikan nila koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA IPB, media agar nutrien (NA), media kaldu nutrien (NB), tepung ikan, tepung tapioka, pereaksi-pereaksi: Somogyi-Nelson (Nelson 1944 dalam Breuil & Saddler 1985), Bernfeld (1955), dan Bradford (1976). Sedangkan peralatan yang digunakan ialah peralatan yang umum digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

Metode. Peremajaan Isolat Bakteri. Tiga puluh satu isolat proteolitik asal pencernaan ikan nila yang telah diperoleh dari penelitian sebelumnya (Mubarik *et al.* 2006) diremajakan pada kaldu nutrisi (NB) yang mengandung 0.5% pati. Kultur diinkubasi pada suhu ruang (25-27°C) selama \pm 24 jam dan digoyang dengan kecepatan 140 rpm.

Penapisan Isolat Bakteri Amilolitik. Tiga puluh isolat bakteri proteolitik hasil peremajaan digores pada media cawan agar nutrisi (NA) yang mengandung 0.5% pati. Isolat bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, lalu diamati zona bening yang terbentuk. Isolat bakteri lalu dipilih berdasarkan indeks amilolitiknya, yaitu nisbah antara selisih diameter zona bening dan koloni dengan diameter koloninya. Tiga isolat bakteri dengan indeks amilolitik terbesar diuji aktivitas α -amilase dan glukamilasanya. Satu isolat bakteri penghasil aktivitas α -amilase dan glukamilase terbesar dipilih untuk dilakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram dan ditentukan kondisi optimum pertumbuhannya.

Produksi Enzim. Tiga isolat bakteri penghasil IA terbesar ditumbuhkan pada media NB yang mengandung 0.5% pati lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25°C dan digoyang dengan kecepatan 140 rpm. Enzim amilase ekstrak kasar ekstraseluler diperoleh dengan cara mensentrifugasi kultur pada kecepatan 14000 g selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatan mengandung enzim amilase lalu dipisahkan dari endapan dan diukur aktivitasnya.

Pengukuran Aktivitas α -Amilase. Metode yang digunakan ialah metode Berntfeld (1955). Sebanyak 1 ml larutan pati 1% (dalam 0,05M bufer Tris-HCl pH 7) direaksikan dengan 1 ml enzim ekstrak kasar, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Setelah itu, ditambahkan 2 ml pereaksi Dinitrosalisilat (DNS) dan ditempatkan pada air mendidih selama 5 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Satu unit aktivitas α -amilase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang reaksinya menghasilkan produk setara 1 μ mol maltosa per menit pada kondisi pengukuran. Sebagai standar, digunakan larutan maltosa pada konsentrasi 100-500 ppm dengan selang konsentrasi 100 ppm.

Pengukuran Aktivitas Glukoamilase. Aktivitas enzim glukoamilase diukur dengan metode Nelson-Somogyi (Nelson dalam Breuil & Saddler 1985). Satu unit aktivitas glukoamilase setara dengan 1 μ mol glukosa yang dihasilkan per menit pada kondisi pengukuran. Sebagai standar digunakan glukosa pada konsentrasi 100-500 ppm dengan selang konsentrasi 100 ppm.

Pengukuran Kadar Protein. Kadar protein diukur dengan metode Bradford (1976). Sebagai standar digunakan larutan Bovin Serum Albumin (BSA) berkonsentrasi 100-500 ppm dengan selang konsentrasi 100 ppm.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas α -amilase dan glukamilase 3 isolat bakteri terpilih

Kode isolat	Aktivitas spesifik α -Amilase (unit/mg protein)		Aktivitas spesifik Glukoamilase (unit/mg protein)	
	Suhu inkubasi enzim		Suhu inkubasi enzim	
	37°C	50°C	37°C	50°C
NU 1	-	-	-	0,143
NU 2	-	0,085	0,865	-
NL 15	0,363	-	-	-

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Sel dan Aktivitas Enzim. Sebanyak $\pm 10^8$ sel/ml isolat terpilih ditumbuhkan pada media NB yang mengandung 0,5% pati. Kultur diinkubasi dan digoyang dengan kecepatan 92 rpm selama 36 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, diukur pertumbuhan sel, aktivitas α -amilase, dan glukamilase setiap 3 jam selama 36 jam.

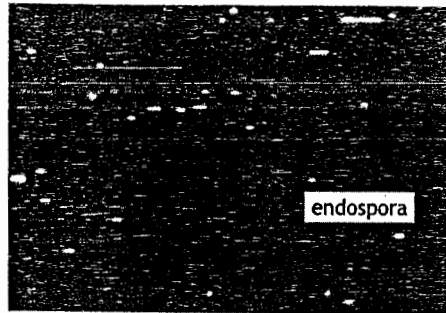
Pengaruh Substrat Pertumbuhan terhadap Aktivitas Amilase. Isolat bakteri terpilih dibiakkan pada media NB yang mengandung 0,5% tepung ikan, sebagai pembanding digunakan media NB yang mengandung 0,5% pati tapioka. Biakan diinkubasi selama 15 jam dalam keadaan digoyang. Setelah 15 jam, supernatan diambil lalu diukur aktivitas α -amilase dan glukamilasinya.

Karakterisasi Suhu dan pH Enzim Untuk mengetahui kondisi optimum kedua enzim, maka aktivitas kedua enzim diukur pada berbagai suhu dan pH. Rentang suhu yang digunakan yaitu 30, 37, 40, 50, dan 60°C. Sedangkan, rentang pH yang digunakan, yaitu 6, 7, 8, dan 9. Bufer yang digunakan yaitu bufer sitrat (pH 6), bufer tris-HCl (pH 7 dan 8), dan bufer Glisin-NaOH (pH 9).

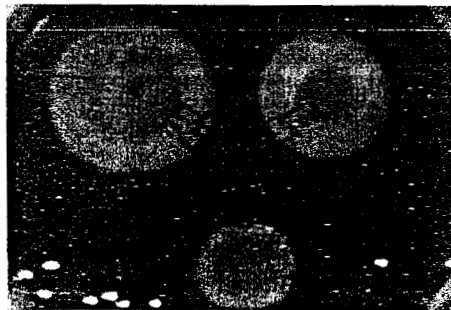
HASIL

Sebanyak 18 isolat bakteri proteolitik yang diujikan mampu membentuk zona bening di sekitar koloni pada media NA yang mengandung 0,5% pati tapioka pada suhu ruang setelah disiram dengan larutan lodin (Gambar 1).

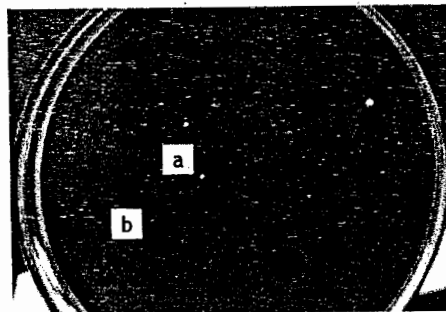
Ada tiga isolat dari 15 isolat amilolitik yang memiliki nilai IA paling besar, yaitu isolat bakteri NU1 (1,22), NU2 (0,94), dan NL15 (0,76). Hasil pengukuran aktivitas enzim α -amilase dan glukamilase menunjukkan bahwa isolat bakteri NU1 memiliki aktivitas spesifik glukamilase pada suhu inkubasi enzim 50°C, yaitu sebesar 0,143 unit/mg protein. Isolat bakteri NL15 memiliki aktivitas spesifik α -amilase pada suhu inkubasi enzim 37°C, yaitu sebesar 0,363 unit/mg protein. Di antara ketiga isolat penghasil IA terbesar hanya isolat bakteri



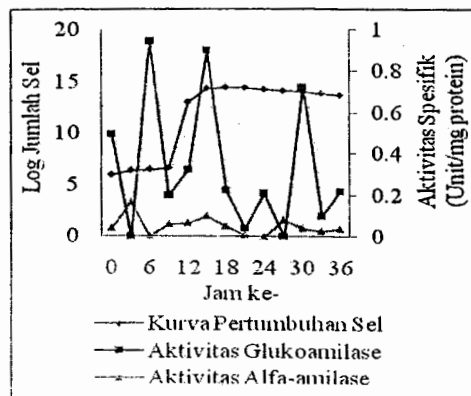
Gambar 1. Isolat bakteri amilolitik pada agar- agar nutrien yang mengandung 0,5% pati setelah disiram larutan Iodin



Gambar 2. Sel isolat NU2 hasil pewarnaan Gram (perbesaran 1000x)



Gambar 3. Uji patogenesis terhadap isolat bakteri NU2 (a) dan supernatannya (b)

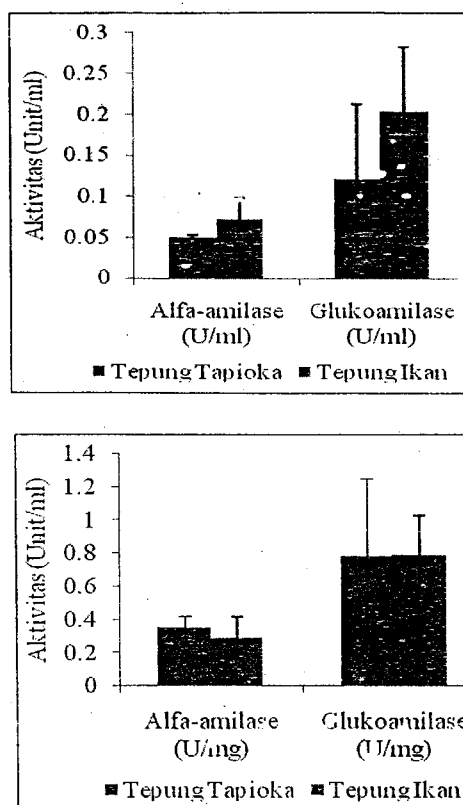


Gambar 4. Kurva pertumbuhan dan aktivitas α -amilase dan glukoamilase isolat NU-2

NU2 yang memiliki aktivitas α -amilase pada suhu 50°C dan glukoamilase pada suhu 37°C. Nilai aktivitas α -amilase spesifik sebesar 0,085 unit/mg protein dan glukoamilase spesifik sebesar 0,865 unit/mg protein (Tabel 1).

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat bakteri NU2 tergolong ke dalam genus *Bacillus* yang memiliki ciri-ciri, yaitu bentuk sel batang berantai, bersifat Gram positif, dan memiliki endospora pada bagian sentral sel (Gambar 2). Sebagai analisis tambahan dari penelitian ini dilakukan uji patogenitas. Bakteri NU2 mampu membentuk zona bening pada media agar darah, sebaliknya uji supernatan tidak menunjukkan adanya zona bening (Gambar 3). Pengukuran turbiditas sel yang dilakukan setiap 3 jam selama 36 jam menunjukkan bahwa bakteri NU2 mengalami fase lag pada jam ke-0 hingga jam ke-9, fase eksponensial pada jam ke-9 hingga jam ke-12, dan memasuki fase stasioner pada jam ke-15 (Gambar 4).

Hasil pengukuran aktivitas enzim α -amilase menunjukkan bahwa aktivitas maksimum α -amilase terjadi pada jam ke-3 (0,163 unit/mg protein) dan ke-15 (0,1 unit/mg protein). Sedangkan aktivitas spesifik glukoamilase maksimum terjadi pada jam ke-6 (0,947 unit/mg protein) dan jam ke-15 (0,903 unit/mg protein). Pertumbuhan sel untuk produksi amilase pada substrat yang dimodifikasi menunjukkan bahwa aktivitas kedua enzim ternyata relatif lebih tinggi pada media NB yang mengandung 0,5% tepung ikan dengan nilai aktivitas α -amilase yaitu 0,051 unit/ml dan glukoamilase yaitu 0,204 unit/ml (Gambar 5a). Meskipun demikian, aktivitas spesifik ternyata menunjukkan perbedaan hasil, yaitu nilai aktivitas α -amilase ternyata lebih tinggi pada media tapioka, sedangkan aktivitas spesifik glukoamilasenya tidak jauh berbeda antara media tapioka dan media tepung ikan (Gambar 5b). Hasil karakterisasi menunjukkan

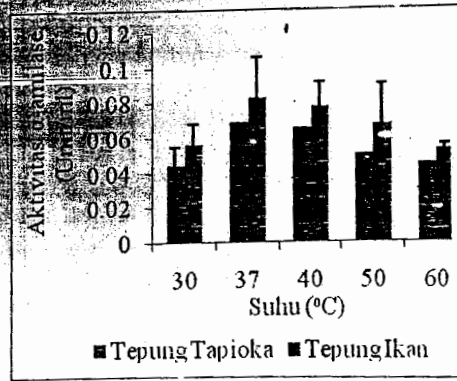


Gambar 5. Aktivitas α -amilase dan glucoamilase isolat NU2 yang diproduksi dengan menggunakan substrat tepung tapioka dan tepung ikan (a) dalam satuan aktivitas unit/ml, (b) dalam satuan aktivitas unit/mg protein

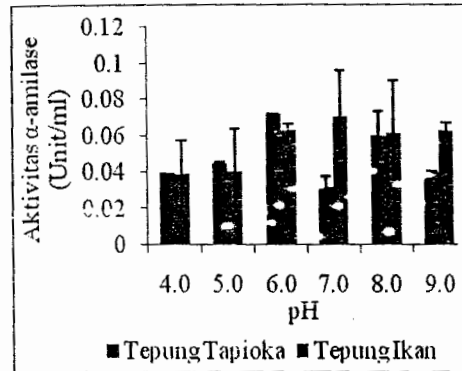
bahwa aktivitas α -amilase isolat NU-2 optimum pada suhu 37°C dan pH 6,0 untuk yang diproduksi pada media tepung tapioka dan tepung ikan (Gambar 6 & 7). Sedangkan aktivitas optimum glucoamilase terjadi pada suhu 40°C dan pH 4-5 (Gambar 8 & 9).

PEMBAHASAN

Pembentukan zona bening di sekitar koloni pada nutrisi agar setelah disiram larutan iodin menunjukkan bahwa bakteri mampu menghasilkan enzim amilase ekstraseluler yang dapat menghidrolisis pati (amilosa dan amilopektin)



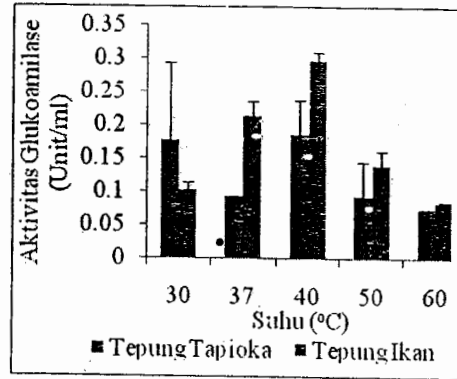
Gambar 6. Aktivitas α -amilase isolat NU-2 yang diproduksi pada tepung tapioka dan tepung ikan pada berbagai suhu. Pengukuran aktivitas pada pH 7.0



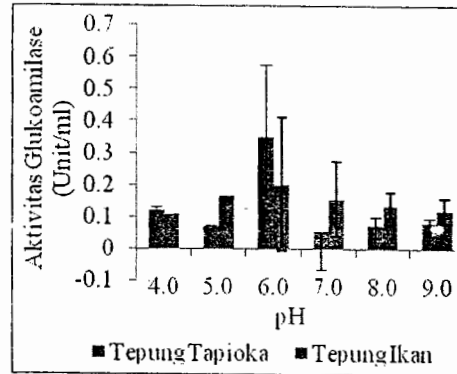
Gambar 7. Aktivitas α -amilase isolat NU-2 yang diproduksi pada tepung ikan dan tepung tapioka pada berbagai pH. Pengukuran aktivitas pada suhu optimum masing-masing

yang terkandung dalam media. Dari ke-18 bakteri amilolitik yang diamati ternyata memiliki nilai indeks amilolitik yang bervariasi. Perbedaan nilai IA antara isolat amilolitik disebabkan oleh kemampuan difusi enzim amilase ekstraseluler yang tidak selalu sama. Oleh sebab itu, uji hidrolisis pati hanya bersifat kualitatif.

Berdasarkan pengamatan morfologi sel dengan teknik pewarnaan Gram, isolat bakteri NU2 termasuk ke dalam genus *Bacillus* yang memiliki morfologi berbentuk batang berantai, bersifat Gram positif, dan memiliki endospora pada



Gambar 8. Aktivitas glucoamilase isolat NU-2 yang diproduksi pada tepung ikan dan tepung tapioka pada berbagai suhu. Pengukuran aktivitas pada pH 7.0



Gambar 9. Aktivitas glucoamilase isolat NU-2 yang diproduksi pada tepung ikan dan tepung tapioka pada berbagai pH. Pengukuran aktivitas pada suhu optimum masing-masing

masing-masing jenis pisang, yaitu kepok (70%), nangka (60%), dan tanduk (100%) berwarna coklat muda.

Berdasarkan hasil pengamatan, pengeringan oven dan jemur menimbulkan perubahan warna antara kulit pisang yang segar dengan warna tepung kulit pisang. Warna asal kulit pisang yang sudah matang adalah kuning. Setelah menjadi tepung, warna kulit pisang berubah menjadi coklat akibat proses pengeringan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Winarno & Fardiaz (1982) dan Buckle *et al.* (1987) yang menyatakan bahwa proses pengeringan

enzim amilase secara komersial untuk berbagai keperluan (Sivaramakrishnan *et al.* 2006).

Hasil pengukuran kurva aktivitas menunjukkan bahwa aktivitas maksimum α -amilase terjadi pada jam ke-3 ketika sel berada pada fase lag dan jam ke-15 ketika sel berada pada fase stasioner. Sedangkan untuk glukamilase terjadi pada saat jam ke-6 (fase lag) dan jam ke-15 (fase stasioner). Hasil ini memang sedikit berbeda dari hasil penelitian lainnya yang melaporkan bahwa enzim amilase diproduksi pada saat fase log atau pada saat sel mengalami fase stasioner. Ashger *et al.* (1987) melaporkan bahwa aktivitas α -amilase *Bacillus subtilis* JS-2004 terjadi pada jam ke-48 setelah inkubasi atau pada saat sel mengalami fase stasioner. Oleh sebab itu, tingginya aktivitas α -amilase pada jam ke-3 dan glukamilase pada jam ke-6 diduga disebabkan oleh pengaruh inokulum. Ray *et al.* (2007) menyatakan bahwa kondisi inokulum seperti keadaan sel dan jumlah optimum sel di dalam inokulum berpengaruh terhadap proses fermentasi.

Di dalam memenuhi kebutuhan akan nutrisinya, beberapa bakteri mampu memproduksi enzim-enzim ekstraseluler. Enzim-enzim ekstraseluler seperti amilase dan protease, dihasilkan dengan tujuan untuk merombak molekul kompleks di luar sel menjadi lebih sederhana, sehingga molekul-molekul yang sederhana tersebut mampu masuk ke dalam sel. Enzim-enzim ekstraseluler ini bersifat induktif dan dipengaruhi oleh substrat yang tersedia di lingkungan (Whitaker 1994).

Menurut Murtidjo (2001), tepung ikan merupakan bahan makanan pokok ikan yang digunakan sebagai sumber protein hewani dan mineral. Sebagai komponen utama penyusun pakan ikan, tepung ikan memiliki kadar protein yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan tepung tapioka. Sebaliknya, tepung tapioka memiliki kandungan karbohidrat yang jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan tepung ikan (Tabel 2). Hal inilah yang menyebabkan nilai aktivitas spesifik α -amilase dan glukamilase hasil modifikasi substrat tidak jauh berbeda.

Di antara berbagai ion logam lainnya, ion kalsium seringkali dilaporkan mampu meningkatkan baik produksi maupun aktivitas amilase (Srivastava & Baruah 1986; Sivaramakrishnan *et al.* 2006). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Qader *et al.* (2007) terhadap aktivitas α -amilase dari *Bacillus* sp. AS-1. Adanya ion Ca^{2+} diketahui dapat meningkatkan stabilitas enzim (Lin *et al.* 1998). Meskipun demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji pengaruh komposisi media (seperti pengaruh anion dan kation, rasio C/N) terhadap peningkatan aktivitas α -amilase dan glukamilase.

Enzim merupakan senyawa biomolekul yang memiliki struktur dasar berupa protein. Sebagai suatu protein, suatu enzim mempunyai kondisi tertentu untuk bekerja secara optimal. Faktor-faktor yang mempengaruhi

kondisi tersebut antara lain suhu dan pH. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa kedua enzim tergolong sebagai netral enzim, yaitu enzim yang aktivitas optimumnya berada pada kisaran pH normal (6.0-7.0) dengan suhu optimum untuk α -amilase yaitu 37°C dan 40°C untuk glukamilase. Sivaramakrishnan *et al.* (2006) melaporkan bahwa suhu optimum produksi enzim amilase yang dihasilkan oleh suatu organisme memiliki keterkaitan dengan suhu optimum pertumbuhan selnya. Pada umumnya bakteri mesofilik memiliki aktivitas enzim amilase terbaik pada kisaran suhu 20-40°C. Meskipun demikian, beberapa spesies *Bacillus* seperti *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, dan *B. amiloliquefaciens* dilaporkan mampu memproduksi amilase dengan kisaran suhu yang lebih luas yaitu 37-60°C (Sivaramakrishnan *et al.* 2006). Sementara itu, Fogarty (1983) menyatakan bahwa suhu optimum untuk aktivitas glukamilase berada pada kisaran 40-60°C, sedangkan pH optimumnya pada kisaran 4,5-5,0. Hasil perbandingan dengan referensi menunjukkan bahwa karakter setiap enzim tidaklah selalu sama (Tabel 4). Perbedaan karakter suhu dan pH yang dimiliki oleh enzim menunjukkan bahwa enzim bersifat khusus, tergantung spesies yang menghasilkannya. Selain mengandung kadar protein tinggi, tepung ikan juga mengandung kadar mineral yang cukup tinggi, terutama kalsium (Ca) dan fosfor (P) (Tabel 3).

Jika enzim akan diaplikasikan untuk pemakaian industri atau aplikasi praktis sudah selayaknya dilakukan pengujian keamanan apakah mengandung bahan yang toksik yang tidak diharapkan ada di dalam enzim tersebut. Analisis yang dilakukan dalam penelitian ini sehubungan dengan hal tersebut yaitu menguji kemampuan melisis darah. Bakteri penghasil hemolisin akan mampu melisis sel darah merah. Beberapa anggota dalam genus *Bacillus* diketahui

Tabel 2. Kadar protein dan karbohidrat pada tepung ikan dan tepung tapioka (Alamsyah 2005)

Jenis tepung	Kadar protein (%)	Kadar karbohidrat (%)
Tepung Ikan	55,7	2,9
Tepung Tapioka	2,6	65,84

Tabel 3. Kadar kalsium dan fosfor pada tepung ikan dan tepung tapioka (Alamsyah 2005)

Jenis tepung	Kadar kalsium (%)	Kadar fosfor (%)
Tepung Ikan	4,75	4,75
Tepung Tapioka	0,17	0,17

Tabel 4. Karakter α -amilase dan glukoamilase dari sejumlah bakteri

Enzim	Bakteri	Suhu optimum	pH optimum	Referensi
α -amilase	<i>B. acidocaldarius</i>	75	3,5	Buonocore <i>et al.</i> (1976)
α -amilase	<i>C. acetobutylicum</i> ATCC 824	45	5,6	Paquet <i>et al.</i> (1991)
α -amilase	<i>Streptomyces rimosus</i>	35-50	6,0-6,7	Yang & Wang (1999)
α -amilase	<i>B. subtilis</i> JS-2004	70	8,0	Ashger <i>et al.</i> (2007)
α -amilase	<i>Bacillus</i> sp. TS-23	70	9,0	Lin <i>et al.</i> (1998)
α -amilase	<i>Bacillus</i> sp. IMD370	40	10,0	Mc Tighe <i>et al.</i> (1995)
Glukoamilase	<i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i>	75	4,0-6,0	Hyun & Zeikus (1985)
Glukoamilase	<i>Bacillus</i> sp. Termofil	70	5,0	Gill & Kaur (2004)
Glukoamilase	<i>Streptomyces rimosus</i>	35-50	6,0-6,7	Yang & Wang (1999)
Glukoamilase	<i>Sulfolobus solfataricus</i>	90	5,5 - 6,0	Kim <i>et al.</i> (2004)

bersifat patogen dan memiliki kemampuan dalam menghidrolisis darah, salah satunya yaitu *B. cereus*. *B. cereus* diketahui mampu memproduksi beberapa enterotoksin, antara lain protease, fosfolipase, dan hemolisin (Drobniewski 1993). Meskipun demikian, penggunaan *B. cereus* sebagai agen probiotik telah dilaporkan oleh Duc *et al.* (2004). Duc *et al.* (2004) menyatakan bahwa tidak selamanya produksi enterotoksin dilakukan, faktor-faktor lingkungan mikro, seperti faktor adhesi dan kompetisi terhadap bakteri komensal lainnya, perolehan nutrisi, dan pH di dalam saluran gastrointestinal berpengaruh terhadap produksi enterotoksin. Bakteri NU2 ternyata dapat melisis sel darah merah, namun ekstrak kasar enzim amilase yang dihasilkan tidak dapat melisis sel darah merah. Dengan demikian apabila enzim akan diaplikasikan harus terbebas dari sel bakteri penghasilnya.

SIMPULAN

Isolat bakteri NU2, merupakan genus *Bacillus*, mampu menghasilkan baik enzim α -amilase dan glukamilase. Aktivitas maksimum α -amilase dan glukamilase terjadi pada saat jam ke-15 setelah inkubasi. Penggunaan media NB yang menggunakan 0.5% tepung ikan mampu meningkatkan aktivitas kedua enzim. Aktivitas α -amilase optimum pada suhu 37°C dan pH 6-7, sedangkan aktivitas glukamilase optimum pada suhu 40°C dan pH 6. Sel bakteri NU2 mampu menghasilkan hemolisin, akan tetapi supernatan yang mengandung enzim amilase ekstrak kasar tidak menghasilkan hemolisin.

SARAN

Perlu dikaji lebih lanjut mengenai pengaruh inokulum dan komposisi media berdasarkan rasio C/N dalam produksi α -amilase dan glukamilase.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah R. 2005. *Pengolahan Pakan Ayam dan Ikan Secara Modern*. Depok: Penebar Swadaya.
- Ashger M, MJ Asad, SU Rahman, RL Legge. 2007. A thermostable α -amylase from moderately thermophilic *Bacillus subtilis* strain for starch processing. *J Food Eng* 79:950-955.
- Bernfeld P. 1955. *Amylases α and β : Methods in Enzymol I*. New York: Academic Pr.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities of protein in utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254.
- Breuil C, Saddler JN. 1985. Comparison of the 3,5-dinitrosalicylic acid and Nelson-Somogyi methods of assaying for reducing sugars and determining cellulose activity. *Enzyme Microbiol Technol* 7:331.
- Departemen Kelautan dan Perikanan RI. 2005. Pemberdayaan industri perikanan nasional melalui pengembangan budidaya laut dan pantai [terhubung berkala]. [http: www.dkp.go.id](http://www.dkp.go.id) [25 Nov 2006].
- Drobniowski FA. 1993. *Bacillus cereus* and related species. *J Clin Microbiol Rev* 6(4):324-338.
- Duc et al. 2004. Characterization of *Bacillus* probiotic available for human use. *Appl Environ Microbiol* 70(4):2161-2171.

- Feliatra, I Efendi, E Suryadi. 2004. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. *J Natur Indones* 6:75-80.
- Fogarty WM. 1983. Microbial amylases. Di dalam: Fogarty WM, editor. *Microbial Enzymes and Biotechnology*. London: Applied Science. hlm 1-92.
- Cill RK, J Kaur. 2004. A thermostable glucoamylase from a thermophilic *Bacillus* sp.: characterization and thermostability. *J Industrial Microbiol Biotechnol* 31:1 [terhubung berkala]. <http://www.springerlink.com>.
- Holt *et al.* 1994. *Determinative Bacteriology*. Ed ke-9. NSA: Lippincot William & Wilkins.
- Kim *et al.* 2004. Properties of a novel thermostable glucoamylase from the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus*. *Appl Environ Microbiol* 70(7):3933-3940.
- Lin LL, CC Chyau, WH Hsu. 1998. Production and properties of a raw-starch-degrading amylase from the thermophilic and alkaliphilic *Bacillus* sp. TS-23. *Biotechnol Appl Biochem* 28:61-68.
- Mubarik NR, I Fatimah, D Wahjuningrum. 2006. Isolation of proteolytic bacteria from digestive tract of tilapias strain GIFT (*Oreochromis niloticus* (Linnaeus) Trewavas) and characterization of its extracellular protease. *Proceeding of ASEAN Biochemistry Seminar*; Surabaya, 6-7 Feb 2006. Surabaya: Universitas Airlangga. hlm 1-6.
- Murtidjo BA. 2001. *Pedoman Meramu Pakan Ikan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Qader *et al.* 2005. Enhanced production and extracellular activity of commercially important amylolytic enzyme by a newly isolated strain of *Bacillus* sp. AS-1. *Turk J Biochem* 31(3):135-140.
- Ray AK, A Bairagi, KS Ghosh, SK Sen. 2007. Optimization of fermentation condition for cellulase production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. *Acta Ichthyol Piscat* 37(1):47-53.
- Sivaramakrishnan *et al.* 2006. α -Amylase from microbial sources-An overview on recent developments. *Food Technol Biotechnol* 44:173-184.
- Srivastava RAK, JN Baruah. 1986. Culture conditions for production of thermostable amylase by *Bacillus stearothermophilus*. *Appl Environ Microbiol* 52(1):179-184.
- Verschuere L, G Rombaut, P Sorgeloos, W Verstraete. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol Mol Biol Rev* 64:655-671.
- Whitaker JR. 1994. *Principles of Enzymology for the Food Sciences*. Ed ke-2. New York: Marcel Dekker.