INHEALTH: INDONESIAN HEALTH JOURNAL
https://jurnal-eureka.com
e-ISSN: 2828-2663
p-ISSN: 2829-0542
DOI: https://doi.org/10.56314/inhealth.v3i1

Volume.3, Issue.1, February (2024) : 94~ 107
Received : 28 February 2024, Accepted : 29 February 2024, Published : 29 February 2024

Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Amilase Pada Produk Fermentasi Kentang Yukon Gold (Solanum Tuberosum L.) Berbasis Gen 16s Rna

Nurhilaliyah
Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Makassar, Indonesia

Correspondence* E-mail: nurhilaliyah025@gmail.com

Abstrak

Kebutuhan amilase dan tingginya daya produksi enzim membuat pencarian sumber-sumber amilase yang baru sangat diperlukan salah satunya melalui proses fermentasi Kentang Yukon Gold (Solanum tuberosum, L.) yang mengandung 18,4 g karbohidrat selama 3 hari. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil enzim amilase yang berasal dari produk fermentasi kentang Yukon Gold. Uji penghasilan enzim amilase dilakukan pada media selektif Starch Agar (SA) Uji enzimatik isolat bakteri didapatkan 4 isolat. Proses identifikasi molekuler dilakukan melalui analisis sekuen gen 16S rRNA bakteri yang telah diamplifikasi berdasarkan metode PCR. DNA hasil dari amplifikasi kemudian di sekuensing menggunakan BLAST (Basic Local Aligment Searc Tool), isolate FST-1 merupakan isolat yang memiliki ideks amilolitiki terbesar dengan nilai 2,63. Hasil identifikasi isolate FST-1 didaptkan kemiripan 100% dengan bakteri Pseudomonas sutzeri sehingga isolate FST-1 diberi nama Pseudomonas sutzeri FST-1 (Fermented SolanumTuberosum-1). Kesimpulanya, strain FST-1 merupakan bakteri penghasil amilase yang potensial dan teridentifikasi sebagai Pseudomonas sutzeri srain FST-1.

Kata Kunci : *Enzim Amilase, Fermentasi Kentang Yukon Gold, Pseudomonas Sutzeri, Bakteri Amilolitik, Gen 16S Rrna, Identifikasi Molekuler*

PENDAHULUAN

Teknologi enzim saat ini berkembang pesat dan berperan penting tidak hanya di bidang industri, tetapi juga kesehatan. Pemakaian enzim sebagai biokatalisator menjadikan teknologi enzim ini sebagai alternatif menggantikan proses kimiawi dalam industri makanan, tekstil, dan kesehatan (Soeka dkk, 2011). Menurut Allan dkk. (2006), pentingnya enzim amilase dalam bidang

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

kesehatan (farmasi) ditunjukkan oleh penggunaan enzim a-amilase dari bakteri genus Bacillus dalam pengobatan penyakit gangguan pencernaan, kekurangan eksokrin pankreas, pankreatitis, diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2. Dalam bidang bioteknologi enzim a-amilase juga telah banyak diterapkan seperti pada bidang kimia klinis, analitik dan medis (Mobini dan Javan, 2012).
Enzim berfungsi sebagai biokatalisator yang mempercepat laju suatu reaksi kimia, enzim akan mengubah molekul substrat menjadi hasil reaksi (produk) yang menghasilkan molekul berbeda dari substratnya. Enzim merupakan katalisator (protein katalitik) untuk reaksi-reaksi kimia yang terjadi di dalam sistem biologi (Susanti dan Fibriana, 2017). Salah satu enzim yang sangat dikenal oleh masyarakat luas adalah enzim amilase yang merupakan enzim hidrolitik pemecah senyawa makromolukel karbohidrat.
Amilase adalah enzim yang berperan mendegradasikan pati menjadi gula yang lebih sederhana agar dapat digunakan oleh tubuh seperti maltose, dektrin dan glukosa. Enzim ini dapat menghidrolisis molekul pati dalam menghasilkan produk yang bervariasi (Ariandi, 2017) Di negara berkembang seperti Indonesia pemenuhan kebutuhan enzim amilase sebagian besar berasal dari hasil impor negara lain. Sebagai alternatif untuk mengantisipasi kebutuhan industri dengan penggunaan enzim amilase, maka dilakukan upaya memproduksi enzim melalui penyeleksian mikrobia lokal (Fatmawati dkk, 2016). Enzim amilase dapat ditemukan dari berbagai sumber seperti tumbuhan, hewan dan mikroorganisme. Mikroorganisme adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tumbuhan dan hewani. Selain itu penggunaan mikroorganisme akan lebih menguntungkan karena perkembang biakannya relatif lebih cepat (Sherly, 2003).

Pengelolaan jenis makanan (Kadmaerubun dkk., 2023) dalam industri pangan di Indonesia pada umumnya dilakukan secara fermentasi dengan mendayagunakan aktivitas metabolisme suatu pencampuran dari beberapa spesies dalam menghasilkan senyawa tertentu. Mikrobia yang berperan dalam pembuatan pangan fermentasi dapat dikembangkan pemanfaatannya, misalnya dengan menghasilkan zat metabolik seperti enzim (Pawiroharsono, 2007). Kebutuhan amilase dan tingginya daya produksi enzim membuat pencarian sumber-sumber amilase yang baru sangat diperlukan salah satunya melalui proses fermentasi.
Indonesia adalah salah satu negara dengan sumber karbohidrat yang melimpah salah satunya adalah kentang. Kentang (Solamun tuberosum L.) merupakan tanam umbi yang kaya dengan kandungan karbohidrat dan merupakan urutan ketiga makanan pokok yang paling sering di komsumsi oleh masyarakat sebagai pengganti beras dan gandum. Kentang Yukon Gold adalah salah satu jenis kentang dengan kandungan gizi yang tinggi. Dalam 100 g kentang tersebut terkandung 322 kJ kalori yang terdiri dari 18,4 g karbohidrat, 2,0 g protein, 0,1 g lemak, 12,0 mg kalsium, 0,8 mg zat besi, 0,3 mg vitamin B6 dan 19,7 mg vitamin C (Ikhwani, 2012).

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Keragaman hayati yang tinggi di Indonesia memberikan peluang besar diperolehnya enzim amilase melalui pemanfaatan mikroorganisme potensial yang dimilikinya. Bakteri amilolitik adalah salah satu mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan enzim amilase. Bakteri amilolitik tumbuh dengan baik pada media yang kaya akan karbohidrat, kemudian bakteri ini akan menghidrolisis pati menjadi komponen yang lebih sederhana (Akhdiya, 2003).

Salah satu cara untuk mendapatkan enzim amilase dari bakteri yaitu dengan melakukan isolasi bakteri untuk menemukan isolat bakteri amilolitik (Hasriati, & Kusniyanto, 2022). Uji aktivitas bakteri amilolitik penghasil amilase dilihat dengan mengisolasi bakteri tersebut menggunakan media Starch Agar (SA). Media Starch Agar (SA) adalah media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme amilolitik dimana terdiri dari pati 1%. Mikroorganisme amilolitik akan memecah pati maupun glikogen. Pati yang terdapat pada media SA akan dipecah oleh bakteri amilolitik yang ditandai dengan perubahan warna yaitu warna coklat jika menghidrolisis pati tidak sempurna, warna kuning (transparan) jika menghidrolisis pati sempurna dan warna biru jika tidak menghidrolisis pati.

Salah satu metode yang digunakan dalam mendeteksi molekuler berbasis DNA adalah polymerase Chain Reaction (PCR). PCR merupakan suatu metode amplifikasi DNA secara in vitro. Metode tersebut dapat digunakan untuk mengamplifikasikan segmen DNA dalam jumlah jutaan kali, untuk mengidentifikasi bakteri penghasil amilase digunakan analisis PCR 16S rRNA (Handoyo, 2001). Rinanda, 2011 mengatakan bahwa metode dengan analisis sekuensing gen 16S rRNA (Ribosomal Ribonucleic Acid), merupakan identifikasi berbasis molekuler dengan tingkat sensitivitas dan spesifitas tinggi. Pemanfaatan gen 16S rRNA ini telah digunakan sebagai sistematika molekuler yang universal, representatif, dan praktis.

Enzim amilase memiliki peranan yang cukup penting diberbagai bidang, dengan mengetahui hal tersebut maka penelitian terkait produk fermentasi kentang Yukon Gold yang kaya akan karbohidrat diharapkan mampu memperoleh sumber baru penghasil enzim amilase dari kelompok bakteri. Hal ini dapat dilakukan dengan cara isolasi dan identifikasi molekuler bakteri berdasarkan analisis gen 16S rRNA.

METODE

Bahan dan Metode Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksperimenal yang didukung studi pustaka. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Megarezky Makassar.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi rak tabung, pipet ukur, lampu spiritus, inkubator 37 °C, neraca Analitik, neraca analitik, ose, cawan petri, tabung reaksi, mortar, alu, Beker gelas, gelas ukur, Erlenmeyer, plastic

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

wrap, ,botol duran 100 ml, cetakan dan sisiran gel, labu ukur 100 ml,autoklave, mikroskop, sentrifuge, vortex, spektrofotometer (nano drop 2000), alat PCR (thermocycler), elektroforesis chamber dan UV transluminator, ose jarum dan ose bulat, mikrotube eppendorf 1,5 dan 0,2 ml,tisu,panci,hot plateyellow tip, white tip, microtube, lemari pendingin (show chase), dan software MEGA X.
Bahan-bahan yang digunakan diantaranya adalah Starch Agar (SA), NaCl fisiologis, cat Gram, objek glas, iodin, aquadest steril, alkohol 70%, ddH_2O, My Tag Red Mix, loading dye, buffer Tris-Acid EDTA (TAE), agarosa 0,8%, Phospate Buffer Citrate (PBS), primer 27F (5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), Phospate Buffer Saline (PBS), Marker 1500bp, mastemix bioline, primer 1492R (5'-TACGGYTACCTT GTTACGACTT-3'), Ethidium Bromide (EtBr) dan biology molecular agarose marker.

Preparasi Sampel

Penelitian ini dilakukan menggunakan sampel berupa Kentang Yukon Gold Solanum tuberosum L. Gambaran kentang Yukon Gold sebelum fermentasi dan kentang Yukon gold setelah dilakukan fermentasi 3 hari hasil fermentasi tertera pada gambar berikut:



(A) (B) (C)

Gambar 1. Preparasi Sampel

A. Kentang Jenis Yukon Gold
B. Kentang Yukon gold Sebelum Fermentasi
C. Kentang Setelah Fermentasi

penelitian ini digunakan sampel berupa kentang yang dijadikan sebagai produk fermentasi dengan menggunakan bantuan dari ragi. Kentang Yukon Gold (Solanum tuberosum L.) digunakan sebagai sumber karbohidrat yang mengandung amilum atau pati, terjadinya fermentasi akan menyebakan perubahan sifat dari bahan pangan sebagai akibat pemecahan kandungan-kandunga bahan pangan. Kentang Yukon Gold sebelum dilakukan fermentasi berwarna kuning, memiliki tekstur keras dan tidak memliki bau khas, sedangkan setelah dilakukan fermentasi kentang Yukon Gold mengalami perubahan warna putih pucat, memiliki tekstur yang lembek, bau khas yang menyengat,bergelembung dan agak asam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengamatan Morfologi Koloni

Dari total bakteri yang ditemukan dari sampel produk fermentasi kentang yang dilakukan selama 3 hari didapakan sebanyak 5 koloni bakteri murni dengan

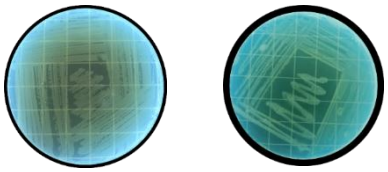
This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

morfologi yang berbeda- beda, karakteristik Morfologi koloni dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Nama Isolat	Bentuk	Warna	Ukuran (cm)	Elevasi	Konsistensi
FST- 1	*Round*	Kuning	0,2	*Convex*	*Smooth*
FST- 2	*Punctiform*	Putih	0,1-0,2	*Raised*	*Smooth*
FST- 3	*Irregular*	Putih	0,3-0,5	*Convex*	*Mucoid*
FST- 4	*Round*	Putih krem	0,2	*Raised*	*Mucoid*
FST- 5	*Irregular*	Putih krem	0,2-0,3	*Convex*	*rough*



FST-1 FST-2 FST-3



FST-4 FST-5

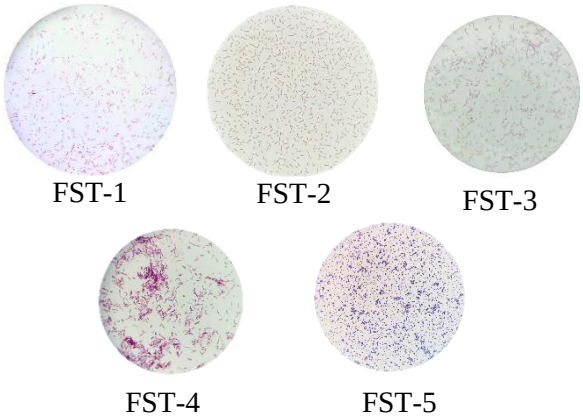
Berdasarkan data yang disajikan pada tabel 1 dan gambar 1 hasil dari purifikasi bakteri pada media *Natrium Agar* (NA) didapatkan karakter morfologi yang berbeda-beda. Isolat FST-1 dan FST-4 berbentuk *Round* (Bulat), isolate FST-2 berbentuk *Punctiform* (titik-titik), sedangkan bakteri FST-3 dan FST-5 berbentuk *Irregular* (tidak beraturan. Isolat FST-1 berwarna kuning, isolat FST-2 dan FST-3 berwarna putih sedangkan isolate FST-4 dan FST-5 berwarna Putih Krem. Isolat FST-1 berukuran 0,2 cm, isolat FST-2 berukuran 0,1-0,2 cm, isolat FST-3 berukuran 0,3-0,5 cm, isolat FST-4 berukuran 0,2 cm, dan isolat FST-5 berukuran 0,2-0,3 cm. Tepian isolat FST-1, FST-2 dan FST-4 *entire* (halus beraturan), tepian isolat G2 *undulate* (bergelombang), dan tepian isolat FST-3 dan FST-5 *lobate* (tidak rata). Elevasi isolat FST-1, FST-3 dan FST-5 *convex,* dan elevasi isolat FST-2 dan FST-4 *raised.* Konsistensi isolat FST-1 dan FST-2 *smooth* (halus), konsistensi isolate FST-3 dan FST-4 *mucoid* (berlendir) sedangkan konsitensi isolate FST-5 *rough* (Kasar).

Pewarnaan Gram

Tabel 2. Hasil Pengecatan Gram

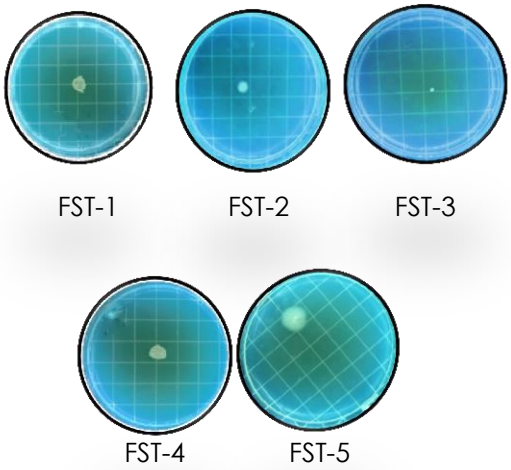
Nama Isolat	Bentuk	Susunan	Hasil Pengecatan Gram
FST-1	Basil	Soliter	*Gram- Negatif*
FST-2	Basil	Soliter	*Gram- Negatif*
FST-3	Basil	Soliter	*Gram- Negatif*
FST-4	Basil	Berderet	*Gram- Negatif*
FST-5	coccus	Bergerombol	*Gram- Positif*

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



Berdasarkan data hasil pengecatan gram yang tersaji pada tabel 2 dan gambar 2 menunjukkan bahwa isolat FST-1, FST-2, FST-3, dan FST-4 merupakan gram negative sedangkan isolate FST-5 merupakan Gram(+)Positif. FST-1 berbentuk basil, isolat FST-2 dan FST-4 berbentuk basil, isolat FST-3 berbentuk basil sedangkan Isolat FST-5 berbentuk coccus. Isolat FST-1, FST-2, FST-3 memiliki susunan soliter, Isolat FST-4 memiliki susunan soliter berderet sedangkan FST-5 memiliki susunan soliter Bergerombol.

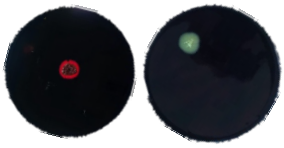
Uji Enzimatik Penghasil Amilase



Gambar 3. Uji Aktifitas Amilolitik Sebelum Penambahan Indikator Iodin



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



FST-4 FST-5

Gambar 4. Uji Aktifitas Amilolitik Sesudah Penambahan Indikator Iodin

Berdasarkan hasil uji aktivitas hidrolitik menggunakan media selektif Starch Agar (SA) menunjukkan 3 isolat mampu tumbuh dalam media selektif. Isolat yang telah didapatkan diukur indeks amilolitiknya dengan cara menghitung diameter zona bening kemudian dibagikan dengan diameter koloni sehingga didapatkan hasil aktivitas amilolitik paling besar yaitu isolat kode FST-1 dengan indeks amilolitik 2,63, isolat kode FST-4 dengan indeks amilolitik 1,40, isolat FST-3 dengan indeks amilolitik 1,25, sedangkan FST-2 dan FST-5 tidak menghasilkan zona bening. Isolat yang tidak menghasilkan zona bening dapat disebabkan karena bakteri tidak dapat mendegradasi amilum karena kebutuhan sumber karbon yang berbeda pada masing-masing isolat (Susilawati dkk., 2015).

Isolasi DNA Bakteri

Isolat FST-1 kemudian akan diisolasi DNA untuk mendapatkan DNA genomnya. Isolasi DNA bakteri merupakan tahap dimana satu isolat bakteri terpilih hasil pemeriksaan isolasi dan identifikasi bakteri diisolasi DNA genomnya menggunakan Kit Reagen Zymo-Spin TM untuk memperoleh DNA murni (Ratnasari & farida, 2009). Untuk mengetahui konsentrasi DNA genom bakteri maka kemudian diperiksa konsentrasi kemurniannya menggunakan NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) dengan panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.

Tabel 3. Uji Kemurnian Ekstrak DNA Sampel FST-1 dengan menggunakan NanoDrop

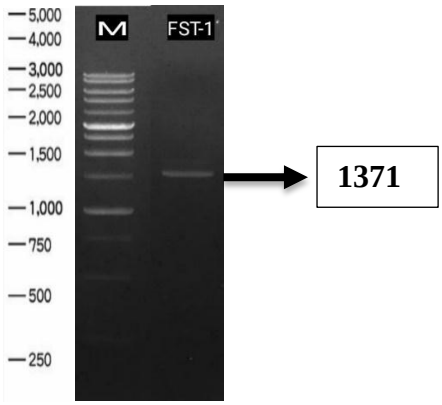
Nama Isolat	Konsentrasi Asam Nukleat (µg/ml)	A260/280	A260/230
FST-1	401,5	1,88	1,80

Berdasarkan Tabel 3, hasil yang diperoleh dari uji kemurnian isolasi DNA genom isolat FST-1 adalah konsentrasi asam nukleat 401,5 □g/ml dan konsentrasi kemurnian DNA A260/280 sebesar 1,88. Konsentrasi kemurnian telah sesuai dengan batas kemurnian DNA yaitu 1,8-2,0. Isolasi DNA dari isolat FST-1 yang telah murni, selanjutnya dilakukan amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan PCR.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Amplifikasi Gen 16S rRNA Metode PCR dan Elektroforesis

Hasil gel elektroforesis amplifikasi berdasarkan pita marker isolat bakteri sampel FST-1 memiliki ukuran 1371 bp (base pair). Hasil visualisasi elektroforesis gel agarosa 0,8% dari isolat FST-1.



Gambar 5. Visualisasi Hasil Elektroforesis dengan UV Transluminator

Sekuensing dan Basic Local Alligment Search Tools (BLAST)

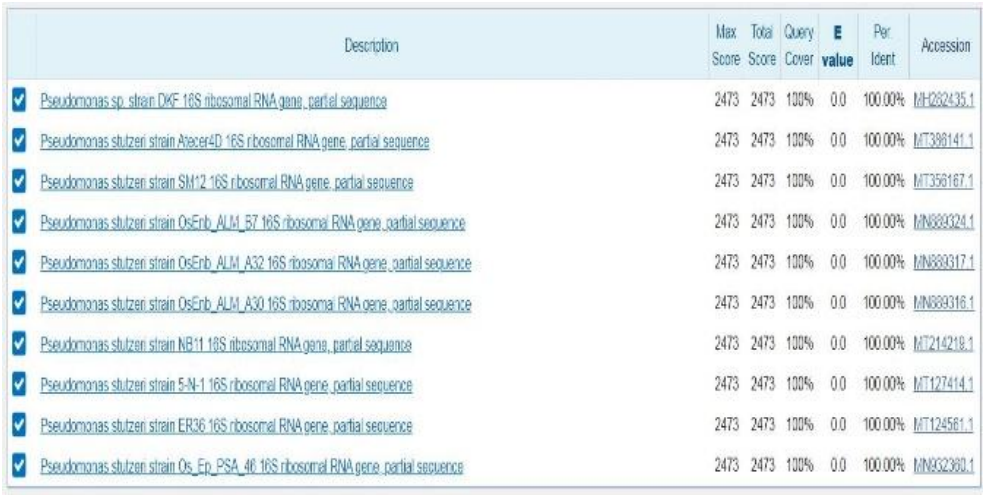
Produk PCR gen 16S rRNA kemudian dikirim ke PT. Genetika Science yang berada di Jakarta, Indonesia, untuk dianalisis sekuen atau urutan basa nukleotida. Berikut merupakan urutan basa nukleotida dari isolat bakteri FST-1 :

AGTGGAGCTTGCTCCATGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTG
GTAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAG
TGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGA
GGTAAAGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTG
GAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGG
CGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTT
TAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATA
AGCACCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGCAAGCGTTAATCGG
AATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGC
TCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCGAGCTAGAGTATGGCAGAGGGTGGTGGAATT
TCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCAC
CTGGGCTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCG
CAGCTAACGCATTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGA
ATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAA
CCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACT
CTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC
GTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTAAGGTGGGCACTCTAAGGAGA
CTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGC
CTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGC
TAATCCCATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGTCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGCTAGTCTAAC

Hasil sekuens gen 16S rRNA didapatkan dari pensejajaran kedua primer forward dan reserve, Sekuens konsensus yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan data sekuens yang tersedia di database menggunakan

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

software tertentu (Safitri dkk., 2018). Hasil sekuen gen 16s rRNA dari isolat FST-1, kemudian dianalisis secara bioinformatika melalui BLAST (Basic Local Aligment Search Tool). Program BLAST dapat diakses secara online melalui website www.ncbi.nih.gov.blast.



Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Accession
Pseudomonas sp. strain DKF 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MH282435.1
Pseudomonas stutzeri strain Atexer4D 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MT396141.1
Pseudomonas stutzeri strain SM12 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MT356167.1
Pseudomonas stutzeri strain OsErib_ALM1_B7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MN889324.1
Pseudomonas stutzeri strain OsErib_ALM1_A32 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MN889317.1
Pseudomonas stutzeri strain OsErib_ALM1_A30 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MN889316.1
Pseudomonas stutzeri strain NB11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MT214218.1
Pseudomonas stutzeri strain 5-N-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MT127414.1
Pseudomonas stutzeri strain ER36 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MT124561.1
Pseudomonas stutzeri strain Os_Ep_PSA_46 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2473	2473	100%	0.0	100.00%	MN832360.1

Gambar 6. Hubungan Kekerabatan Terdekat

Berdasarkan gambar tersebut bahwa isolate FST-1 mempunyai kemiripan dengan fragmen Gen 16S ribosomal RNA isolat bakteri Pseudomonas sp. Strain DKF sebanyak 100 %. Identifikasi bakteri pada tingkat genus dapat dilakukan apabila urutan sekuen 16S rRNA memiliki kesamaan ≥ 97% dengan sekuen yang ada di GenBank (Setiawan dkk., 2017). Dengan demikian isolat FST-1 diberi nama Pseudomonas sp FST-1 (FST-1 = Fermented Solanum tuberosum-1).

Penelitian yang telah dilakukan untuk isolasi dan idenifikasi bakteri yang terdapa pada produk fermentasi kentang Yukon gold (Solanum tuberosum L.) yang dimulai dari tahap preparasi sampel yaitu fermentasi sampel, Proses fermentasi dilakukan agar diharpkan mampu mendegradasi karbohidrat menjadi bentuk yang lebih sederhana seperti glukosa, menghasilkan etanol dan CO2, menurut Diryanti, dkk 2010 proses fermentasi paling umum menggunakan ragi (yeast) sehingga pada proses fermentasi ini menggunakan ragi merek NKL. Mikrobia yang umum terlibat dalam proses fermentasi yaitu bakteri, khamir dan kapang. Ragi roti dan ragi tapai mengandung khamir yang sama yaitu Saccharomyces cereviciae (Jannah, 2010). Kemudian tahap kedua dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan NaCl 0,9% dimana pengenceran ini berfungsi untuk mengurangi kepadatan dari bakteri yang tersuspensi didalam sampel, proses pengenceran digunakan perbandingan 1:9, perbandingan 1:9 dilakukan agar sampel perngenceran pertama hingga selanjutnya diperoleh 1/10 sel mikrooganisme dari pengenceran sebelumnya (Tyas dkk., 2018), selanjutnya dilakukan penanaman dan purifikasi menggunakan media NA, media NA merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, agar dan bukan merupakan media selektif.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Tahap ketiga adalah isolasi bakteri, Setelah dilakukan penanaman dan pemurnian lalu diamati morfologi bakteri yang tumbuh. Karakterisasi morfologi untuk mengidentifikasi bakteri meliputi bentuk, warna, ukuran, elevasi, tepian, dan konsistensi. Isolat tersebut kemudian dilakukan pengecatan gram untuk mengetahui morfologi sel dengan dilakukan pengecatan gram. Kemudian dilakukan uji enzimatik penghasil Amilase menggunakan metode doting pada media SA. Media starch agar merupakan media selektif hal ini ditujukan agar koloni yang tumbuh hanya koloni yang mampu menghidrolisis pati. Setelah dilakukan penanaman dan pemurnian lalu diamati morfologi bakteri yang tumbuh. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menghidrolisis pati menjadi senyawa lebih sederhana yaitu glukosa (Sulistyaningtyas & Wilson, 2018). Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni akan terlihat selelah ditetesi larutan iodine (Rahayu dkk. 2019). Tahap ketiga adalah Identifikasi Molekuler bakteri yaitu mulai dari isolasi bakteri, Amplifikasi Gen 16S rRNA menggunakan PCR dan elektroforesis agar ros 0,8% yang terakhir adalah sekuensing dan Blast.

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh hasil isolat FST-1 merupakan bakteri amilolitik yang memiliki kemiripan 100% dengan bakteri Pseudomonas stutzeri. Pseudomonas stutzeri adalah Gram-negatif tanah, bakteri yang motil, memiliki satu flagel kutub, dan diklasifikasikan sebagai basil, atau berbentuk batang non-pembentuk spora yang biasanya berukuran panjang 1-3 mikron dan lebar 0,5-0,8 mikron (Lehmann, 1896). Bakteri Pseudomonas stutzeri merupakan bakteri yang menunjukan hasil negatif pada uji katalase dan oksidase. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 35°C (Lapage dkk., 1968). Bakteri ini pernah diisolasi dan ditemukan dari tanah, jerami, tulang belakang manusia, saluran air dan pupuk kandang. Organisme ini telah diisolasi dari berbagai tempat seperti cairan tulang belakang manusia, jerami, pupuk kandang, tanah dan saluran air (Van Niel & Allen, 1952). Bakteri P. stutzeri merupakan bakteri endofit yang ditemukan dari hasil isolasi umbi tanaman dahlia dan dilaporkan juga mampu menghasilkan enzim amylase dengan cara menghidrolisis amilum yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri (Robi'a, 2012), bakteri endofit adalah bakteri yang tumbuh di dalam jaringan tanaman yang tidak membahayakan inangnya yang dapat masuk ke jaringan akar, bunga, daun serta melalui kerusakan bagian tanaman (Radja, 2015).

Bakteri P. stutzeri biasanya dimanfaatkan sebagai bakteri pengurai bahan organik, Bakteri P. stutzeri juga merupakan Bakteri indigen potensial dalam mereduksi merkuri yang ditemukan dalam limbah cair tepung agar dan juga pernah dilaporkan bahwa P. putida, P. stutzeri dan P. fulva juga dapat secara efektif digunakan dalam proses bioremoval logam merkuri (Hg) secara in vitro (Wulandari dan Suarsini, 2016). Beberapa strain P. stutzeri pernah dilaporkan sebagai bakteri patogen oportunistik terhadap manusia. Sejak infeksi awal tersebut P. stutzeri telah menyebabkan infeksi pada manusia yang

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

memiliki berbagai penyakit, seperti endokarditis infeksi tulang, mata, kulit atau saluran kemih, meningitis, pneumonia dan artritis (Park dkk., 2013).
Klasifikasi bakteri Pseudomonas stutzeri adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Phylum	: proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies Group	: Pseudomonas stutzeri group
Species	: Pseudomonas stutzeri
Sub Spesies	: Pseudomonas stutzeri stain FST-1

Bakteri Pseudomonas stutzeri pada produk fermentasi kentang belum pernah ditmukan sebelumnya, namun kentang merupakan tanaman yang menyimpan umbi didalam tanah dan bakteri P. stutzeri masuk dalam golongan bakteri gram- negative tanah dan bakteri endofit pada tanaman, hal ini sejalan dengan Zinniel dkk., 2012 yang mengatakan bahwa bakteri endofitik selain memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim selulase juga dapat menghasilkan enzim amylase. Enzim a-amilase merupakan enzim yang berasal dari Pseudomonas stutzeri (Nangin & Sutrisno, 2015).). P. stutzeri merupakan bakteri yang memiliki sifat proteolitik, amilolitik, pektinolitik dan lipolitik. Selain itu juga bersifat denitrifier (Van dan Allen,1995).

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa Isolat bakteri dari sampel produk fermentasi Kentang Yukon Gold selama 3 hari dapat diperoleh 5 isolat bakteri murni, dari 5 isolat bakteri diperoleh isolat bakteri amilolitik yaitu isolat FST-1, FST-3, dan FST-4 dengan indeks amilolitik terbesar dimiliki oleh isolat FST-1 sebesar 2,63. Berdasarkan hasil identifikasi secara molekuler isolat FST-1 dengan sekuen gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat FST-1 merupakan spesies yang berasal dari genus *pseudomonas* yaitu *Pseudomonas stutzeri* dengan tingkat kemiripan sebanyak 100%. Dengan demikian isolat bakte.
Rekomendasi kepada semua isolat yang didapatkan diharapkan dilakukan identifikasi secara molekuler tidak hanya sampai pada identifikasi morfologi dan koloni. Diperlukannya penelitian lanjut tentang uji aktivitas enzim amilase pada Isolat FST-1 untuk mengetahui pH suhu optimum yang tepat pada bakteri dalam menghasilkan enzim amilase.

DAFTAR PUSTAKA

Allan, S., Gregory, P.C. 2006. Amylases For Pharmaceutical Use. *Jurnal World Intellectual Property Organization*. Pp. 1-24

Akhdiya, A., (2003). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalin Termostabil. *Buletin Plasma Nutfah*. *Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian,* Bogor.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Ariandi, A. (2017). Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-Amylase) Dan Reaksi Enzimatisnya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Dinamika*, *7*(1), 74-82.

Dirayati, Abdul, G., Erlidawati. 2017. Pengaruh Jenis Singkong dan ragi Terhadap Kadar Etanol Tape Singkong. *Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA*. 1(1), pp 26-33.

Fatmawati, F., Warganegara, F. M., & Puspasari, M. (2016). Identifikasi Bakteri Potensial Penghasil Enzim Amilase, Selulase, Xilanase dan Lipase Pada Fase Termofilik Kompos Manur Sapi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, *16*(1), 69-76.

Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Poymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Pusat Studi Bioteknologi.* Universitas Surabaya.

Hendro Stenly Kadmaerubun, Rahmawati Azis, & Jalil Genisa. (2023). Hubungan Pola Makan dan Asupan Gizi Dengan Kekurangan Energi Kronik (KEK) Pada Ibu Hamil. INHEALTH : INDONESIAN HEALTH JOURNAL, 2(2), 127~138. https://doi.org/10.56314/inhealth.v2i2.152

Jannah, E (2010). Pemisahan Enzim Glukoamilase dari Kaldu Fermentasi Menggunakan Membran Ultrafiltasi. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses, ISSN: 1411-4216.*

Ikhwani., A. (2012). Sistem Pakar Diagnosis Hama Dan Penyakit Pada Tanaman Kentang Dengan Menggunakan Metode Case Base Reasoning. *Doctoral dissertation.* Fakultas Teknik Unpas.

Lehmann KB, Neumann R (1896). Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. Munchen: Lehmann.

Lapage, S. P., Hill, L. R., & REEVE, J. D. (1968). Pseudomonas stutzeri in pathological material. *Journal of medical microbiology*, *1*(2), 195-202.

Mobini-Dehkordi, M., & Javan, FA (2012). Penerapan alpha-amylase dalam bioteknologi. *J. Biol. dunia saat ini*, *1* , 39-50.

Nangin, D., dan Sutrisno, A (2015). Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No. 3. Pp. 1032-1039.*

Pawiroharsono, S. (2007). Potensi pengembangan industri dan bioekonomi berbasis makanan fermentasi tradisional. *J Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *5*, 85-91.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Ratnasari, Y. A., & Faridah, I. N. 2019. *Otimasi Metode Isolasi Dna Sampel Fta Cards Menggunakan Purelink ® Genomic Dna Kits Dan Chelex-100 Optimization of Fta Cards Sample Dna Isolation Method Using Purelink ® Genomic Dna Kits and*. *Bachelor Thesis*, *1*. http://eprints.uad.ac.id/id/eprint/14764

Rahayu, M.A., Sulistyaningtyas, A.R dan Darmawati, S., 2019. *Isolasi Bakteri Hidrolitik Penghasil Enzim Amilase dari Limbah Industri Tapioka.* In Prossiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus, (Vol. 2).

Robi'a., Saryono., & Pusfita, F. 2012. Skrining Bakteri Endofitik dari Umbi Tanaman Dahlia (Dahlia variabilis). Jurnal Ilmiah Sains Terapan. 3(2): 153-158 Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. Appl. Environ. Microbiol 68:2198-2208

Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengmbangan Obat Herbal. Majalah Ilmu Kefarmasian II. Vol 3 (113-126).

Safitri, R. *et al* (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 24 Jam dan Identifikasi Molekuler Bakteri Berbasis Gen 16s rRNA. *Skripsi.* Universitas Muhammadiyah Semarang.

Susilawati, I.O., Ummi Mardhiah, B., Hesti Riany. 2015. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi. *Jurnal Semirata*. 4(1), pp. 359–367.

Susanti, R., & Fibriana, F. (2017). *Teknologi Enzim*. Penerbit Andi.

Sherly, P., (2003). Isolasi dan karakterisasi Bakteri Genus Bacilus yang Mampu Menghasilkan Enzim Amilase. *Skripsi.* Semarang: Universitas Diponegoro.

Soeka, Y.S., Rahayu, S.H., Setianingrum, N. and Naiola, E., 2011. Kemampuan bacillus licheniformis dalam memproduksi enzim protease yang bersifat alkalin dan termofilik. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.*

Sulistyaningtyas, A. R. and Wilson, W. (2018) 'The Potential of Liquid Tofu Waste in Increasing Antioxidant Activity of Robusta Green Coffee', 10(18), pp. 356–361

Tyas, D.E., Niniek, W., Anhar, S. 2018. Perbedaan Jumlah Bakteri Dalam Sedimen Pada Kawasan Bermangrove dan Tidak Bermangrove di Perairan Desa bedono Demak. *Journal Management Of Aquatic Resouces.* 7(2), pp. 189- 196.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Wa Ode Hasriati, & Eryanti Kusniyanto, R. (2022). Analisis Hubungan Bakteri Neseria Gonorea Dengan Kejadian Persalinan Prematur Secara Retrospektif. INHEALTH : INDONESIAN HEALTH JOURNAL, 1(2), 71–77. https://doi.org/10.56314/inhealth.v1i2.44

Wulandari, S., & Suarsini, E. (2016). Efektivitas Konsorsia Bakteri Indigen Dalam Mereduksi Logam Berat Merkuri (Hg) Limbah Cair Tepung Agar.

Zinniel DK,P Lambrecht, NB Harris, Z Feng, D Kuczmarski, P Higley, CA Ishimaru, A Arunakumari, RG Barletta and AK Vidaver. 2002.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License