



Isolasi dan Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Proteolitik untuk Bioremediasi Limbah Industri Tahu

Isolation and Pathogenicity Level Test of Proteolytic Bacteria for Bioremediation of Tofu Industrial Waste

Nadhila Pranida Maristiasa^{1*}, Fandhi Adi Wardoyo¹, Sri Darmawati², Stalis Norma Ethica²

¹Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Semarang

Corresponding author: pranidhanadhila@gmail.com*

Riwayat Artikel: 25 September, 2019; Diterima: 28 September 2019; Diterbitkan: 2 Oktober, 2019

Abstrak

Limbah yang dihasilkan dalam proses pembuatan tahu berupa limbah padat dan cair yang dapat mengganggu kesehatan. Kegiatan industri tahu biasanya dilakukan oleh usaha kecil, sehingga tidak memiliki unit pengolahan limbah. Pengolahan limbah dapat diatasi dengan bioremediasi, yaitu suatu cara mendegradasi limbah yang ramah lingkungan menggunakan mikroorganisme indigen hasil seleksi untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu dengan maksud untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat bakteri indigen penghasil enzim protease dari limbah cair industri tahu untuk keperluan bioremediasi. Isolasi bakteri indigen dilakukan dengan cara kultivasi isolat bakteri hasil purifikasi koloni dari sampel limbah cair tahu yang diambil dari Pabrik Tahu dan Tempe Pak Ngatijan Jl. Imogiri Barat, Bantul, Yogyakarta. Uji enzim protease dilakukan pada media SMA yang ditandai dengan pembentukan zona bening protease. Selanjutnya uji patogenitas bakteri dilakukan pada media *MacConkey Agar* (MC) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Dari hasil penelitian ini diperoleh 2 isolat bakteri, yaitu STW 1 dan STW 2 yang keduanya merupakan bakteri proteolitik dan berdasarkan karakteristik pada media MCA dan BAP bersifat patogenitas rendah. Dengan demikian kedua isolat bakteri proteolitik yang diperoleh berpotensi dijadikan agen bioremediasi untuk mendegradasi limbah cair industri tahu.

Kata kunci: Bioremediasi, limbah cair tahu, industri tahu, bakteri proteolitik

Abstract

Waste generated in the process of making tofu in the form of solid and liquid waste that can interfere with health. Tofu industry activities are usually carried out by small businesses, so they do not have a waste treatment unit. Waste treatment can be overcome by bioremediation, which is a way to degrade environmentally friendly waste using indigenous microorganisms that have been selected to grow on certain pollutants with a view to reducing the levels of these pollutants. The aim of this study was to obtain an isolate of the bacterium inducing enzyme protease from tofu industrial wastewater for bioremediation purposes. The isolation of indigenous bacteria was carried out by means of cultivation of bacterial isolates as a result of colony purification from tofu liquid waste samples taken from the Ngatijan Tofu and Tempe Factory Jl. Imogiri Barat, Bantul, Yogyakarta. Protease enzyme test is carried out on high school media which is marked by the formation of a clear zone of protease. Furthermore, bacterial pathogenicity tests were carried out on *MacConkey Agar* (MC) and *Blood Agar Plate* (BAP) media. From the results of this study, 2 bacterial isolates were obtained, namely STW 1 and STW 2, both of which are proteolytic bacteria and based on the characteristics of the MCA and BAP media are low pathogenicity. Thus, the two isolates of proteolytic bacteria obtained could potentially be used as bioremediation agents to degrade liquid waste from tofu industry.

Keywords: Bioremediation, tofu liquid waste, tofu industry, proteolytic bacteria

PENDAHULUAN

Proses pembuatan tahu masih menggunakan teknologi sederhana dan menghasilkan



limbah (Lestari, 2016). Limbah yang dihasilkan dalam proses pembuatan tahu berupa limbah padat dan cair (Subekti, 2011). Limbah cair biasanya langsung di buang ke saluran-saluran pembuangan, selokan atau badan air tanpa pengolahan terlebih dahulu (Andesgur dkk., 2015).

Limbah tersebut biasanya tidak dikelola sehingga mencemari lingkungan (Thamrin dkk., 2010). Kegiatan industri tahu biasanya dilakukan oleh usaha skala kecil dengan modal terbatas, sehingga tidak memiliki unit pengolahan limbah. Limbah cair tahu mengandung zat 165ndustr yang menyebabkan pertumbuhan mikroba (Subekti, 2011).

Limbah cair industri tahu pada lingkungan jika dibuang langsung ke perairan dapat menyebabkan bau yang menyengat, polusi pada air, dan mengganggu ekologi perairan yang menyebabkan kematian ikan dan biota lainnya (Nugraha, 2011). Untuk mengatasi permasalahan pembuangan limbah yang mengganggu lingkungan dan kesehatan, diupayakan suatu metode dengan mikroorganismenya seperti bakteri proteolitik yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi bahan 165ndustr (Zahidah, 2013).

Bakteri proteolitik untuk penanganan limbah dapat ditemukan di berbagai sumber yang mengandung protein tinggi seperti pada limbah cair industri tahu (Fong dan Tan, 2000). Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganismenya yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya menurunkan kadar polutan tersebut (Priadie, 2012). Bakteri yang dapat digunakan sebagai agen bioremediasi, yaitu bakteri yang memiliki tingkat patogenitas rendah sampai non patogen (Ethica dkk., 2018).

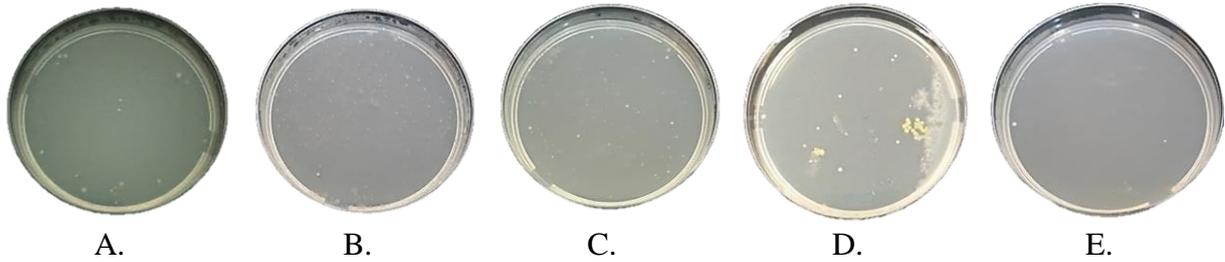
Seleksi patogenitas bakteri dapat dilakukan dengan media Mac Conkey (MCA) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Seleksi bakteri proteolitik dapat dilakukan dengan media *Skim Milk Agar* (SMA) (Arifiani dan Ethica, 2018). Penelitian yang sebelumnya telah dilakukan oleh Sabrina dan Ethica (2018), menyimpulkan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media SMA merupakan bakteri proteolitik. Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler (Abraham, 1993). Penelitian ini penting dilakukan untuk mengurangi limbah industri pembuatan tahu dengan cara yang ramah lingkungan.

METODE

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif eksperimental dengan didukung studi pustaka. Populasi penelitian ini adalah limbah industr tahu di Pabrik Tahu dan Tempe Pak Ngatijan Jl. Imogiri Barat, Bantul, Yogyakarta. Sampel penelitian ini adalah limbah cair tahu. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, autoklaf, *waterbath*, cawan petri, tabung reaksi, pipet ukur, ose, lampu, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, dan dirgalsky (Arifiani dan Ethica, 2018). Bahan-bahan yang digunakan adalah isolat bakteri yang berasal dari limbah cair industri tahu, medium yang digunakan adalah produk oxoid yaitu *Nutrient Agar* (NA), *Blood Agar Plate* (BAP), *MacConkey Agar* (MCA), NaCl fisiologis, *Skim Milk Agar* (SMA) (Sigma Aldrich, USA), dan *aquadest* steril (Arifiani dan Ethica, 2018, Eticha dkk., 2018).

HASIL

Pengenceran bakteri dilakukan secara bertingkat dari pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil inokulasi, A. Pengenceran 10^1 , B. Pengenceran 10^2 , C. Pengenceran 10^3 , D. Pengenceran 10^4 , E) Pengenceran 10^5 .

Berdasarkan Gambar 1. terdapat 2 koloni bakteri yang berbeda dari keseluruhan pengenceran sehingga dapat dilakukan purifikasi bakteri dengan medium NA.

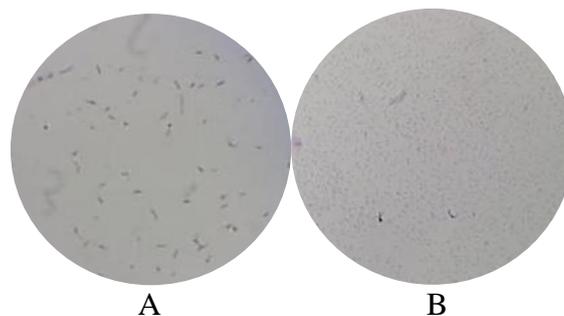
Total koloni bakteri yang ditemukan dari purifikasi satu sampel limbah cair industri tahu adalah sebanyak 2 koloni bakteri murni dengan morfologi yang berbeda. Karakteristik morfologi masing-masing isolat dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Isolat Bakteri, A) Isolat STW 1, dan B) Isolat STW 2.

Berdasarkan Gambar 2. dapat diketahui bahwa bentuk koloni STW 1 (*Soil Tofu Waste*) *Round with raised margin* dan STW 2 (*Soil Tofu Waste*) *Complex*, berdasarkan karakteristik warna STW 1 berwarna putih keruh dan STW 2 berwarna kekuningan. Berdasarkan ukuran kedua koloni tersebut berukuran besar, memiliki tepi *smooth* dan elevasi flat, sedangkan berdasarkan konsistensinya koloni STW 1 berlendir dan koloni STW 2 kering.

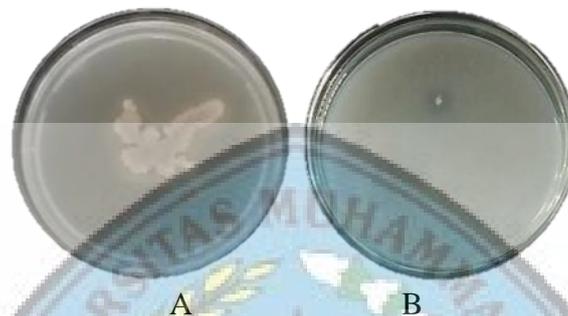
Koloni bakteri yang telah dipurifikasi kemudian diidentifikasi karakteristik dan jenisnya berdasarkan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan gram koloni bakteri yang diamati di bawah mikroskop optik dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram, A) Isolat STW 1, dan B) Isolat STW 2.

Berdasarkan Gambar 3. diketahui bahwa karakteristik koloni pada pewarnaan gram, yaitu isolat koloni STW 1 memiliki karakteristik bakteri jenis Gram-positif dengan bentuk koloni bakteri basil berspora, sedangkan isolat koloni STW 2 merupakan bakteri jenis Gram-negatif dengan bentuk koloni bakteri basil. Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi bakteri, maka selanjutnya dilakukan uji enzimatis penghasil enzim protease dan uji tingkat patogenitas.

Koloni bakteri yang telah dipurifikasi dan diidentifikasi kemudian dilakukan uji penghasilan enzim protease untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang dipilih merupakan kelompok proteolitik atau penghasil enzim protease. Hasil uji penghasil enzim koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Isolat Bakteri pada media SMA, A) Isolat STW 1, dan B) Isolat STW 2.

Berdasarkan hasil uji penghasilan enzim protease yang ditunjukkan Gambar 4. dapat diketahui bahwa isolat bakteri STW 1 dan STW 2 mampu menghasilkan zona bening protease di sekitar koloni bakteri tetapi zona bening tersebut tidak dapat diukur. Terbentuknya zona bening protease ini membuktikan bahwa kedua isolat yang diperoleh dari penelitian ini merupakan bakteri penghasil enzim protease (Ethica, 2018).

Koloni bakteri yang telah dilakukan uji penghasilan enzim protease kemudian diuji tingkat patogenitasnya dengan media MC. Hasil uji tingkat patogenitas bakteri dapat dilihat pada Gambar 5. sebagai berikut:

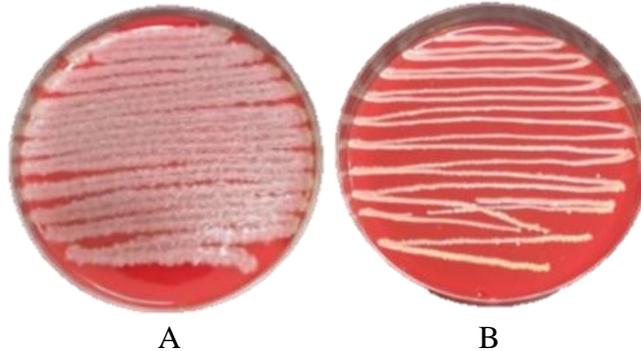


Gambar 5. Uji Tingkat Patogenitas pada Media MC, A) Isolat STW 1 dan B) Isolat STW 2.

Berdasarkan hasil uji tingkat patogenitas yang ditunjukkan Gambar 5. dapat diketahui bahwa isolat bakteri STW 1 mampu mengubah warna media MC menjadi merah muda yang menunjukkan bakteri tersebut mampu memfermentasikan laktosa dan STW 2 tidak mengubah warna media MC menjadi merah muda yang menunjukkan bakteri tersebut tidak mampu memfermentasikan laktosa, sehingga tingkat patogenitas isolat bakteri STW 1 < STW 2. Bakteri yang tidak mampu memfermentasikan laktosa merupakan bakteri yang memiliki

tingkat patogenitas rendah dan bakteri yang mampu memfermentasikan laktosa adalah bakteri yang mampu menggunakan laktosa sebagai sumber nutrisinya (Sabrina dan Ethica, 2018).

Koloni bakteri yang telah dilakukan uji tingkat patogenitas pada media MC dilanjutkan dengan media BAP. Hasil uji tingkat patogenitas dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Uji Tingkat Patogenitas pada Media BAP. A) Isolat STW 1 dan B) Isolat STW 2.

Berdasarkan hasil uji tingkat patogenitas yang ditunjukkan Gambar 6. dapat diketahui bahwa isolat bakteri STW 1 dan STW 2 terlihat tidak mengubah warna media BAP di sekitar koloni yang artinya bakteri tersebut tidak mampu mendestruksi sel darah merah (γ -hemolisis) sehingga memiliki tingkat patogenitas cenderung rendah. Bakteri dengan sifat γ -hemolisis merupakan bakteri yang tidak mampu menggunakan sel darah merah sebagai sumber nutrisinya (Irianto, 2014).

DISKUSI

Isolasi dan uji tingkat patogenitas bakteri proteolitik untuk bioremediasi limbah industri tahu dilakukan dengan tahapan awal berupa pengenceran sampel cair limbah tahu dengan NaCl fisiologis sebelum diinokulasikan ke media *Nutrient Agar*. Pengenceran yang dilakukan merupakan pengenceran bertingkat dengan perbandingan 1:9 untuk sampel dan pengenceran pertama hingga pengenceran selanjutnya. Tujuan dari pengenceran ini untuk mengurangi kepadatan bakteri atau mikroorganisme yang tersuspensi dalam sampel (Wasteson dan Hornes, 2009).

Bakteri yang telah dilakukan purifikasi dilakukan karakterisasi morfologi untuk mengidentifikasi bakteri meliputi bentuk, warna, ukuran, tepi, elevasi, dan konsistensi (Darmawati dkk., 2015). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh 2 koloni dengan morfologi berbeda. Bentuk koloni STW 1 (*Soil Tofu Waste*) *Round with raised margin* dan STW 2 (*Soil Tofu Waste*) *Complex*, berdasarkan karakteristik warna STW 1 berwarna putih keruh dan STW 2 berwarna kekuningan. Berdasarkan ukuran kedua koloni tersebut berukuran besar, memiliki tepi *smooth* dan elevasi flat, sedangkan berdasarkan konsistensinya koloni STW 1 berlendir dan koloni STW 2 kering.

Setelah dilakukan karakterisasi morfologi, bakteri juga diidentifikasi berdasarkan jenisnya dalam pewarnaan Gram. Bakteri digolongkan berdasarkan dua jenis yaitu bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif. Bakteri Gram-positif ditunjukkan pada isolat koloni STW 1 dengan bentuk basil berspora, sedangkan bakteri Gram-negatif ditunjukkan pada isolat koloni STW 2 dengan bentuk basil.

Setelah dilakukan isolasi, identifikasi dan purifikasi bakteri, selanjutnya dilakukan uji penghasil enzim protease menggunakan media SMA. Bakteri yang menghasilkan enzim protease akan mendegradasi protein sehingga menimbulkan zona bening di sekitar koloni pada media SMA (Ethica, 2018). Setelah dilakukan uji tersebut diperoleh hasil isolat bakteri



STW 1 dan STW 2 menghasilkan zona bening di sekitar koloni tetapi zona bening tersebut tidak dapat diukur. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh isolat yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan bakteri penghasil enzim protease.

Bakteri yang telah teruji sebagai golongan bakteri proteolitik atau penghasil enzim protease kemudian dilakukan uji tingkat patogenitas menggunakan media MC dan BAP. Hasil yang diperoleh dari uji tingkat patogenitas pada media MC bahwa isolat bakteri STW 1 mampu memfermentasikan laktosa dan STW 2 tidak mengubah warna media menjadi merah muda yang menunjukkan bakteri tersebut tidak mampu memfermentasikan laktosa (Sabrina dan Ethica, 2018), sehingga tingkat patogenitas isolat bakteri STW 1 < STW 2, sedangkan hasil uji tingkat patogenitas pada media BAP bahwa isolat bakteri STW 1 dan STW 2 tidak mengubah warna media BAP di sekitar koloni yang artinya bakteri tersebut tidak mampu mendestruksi sel darah merah (γ -hemolisis) (Irianto, 2014). Bakteri yang tidak mampu memfermentasikan laktosa merupakan bakteri dengan tingkat patogenitas cenderung rendah, jika isolat pada media MC tidak mampu memfermentasikan laktosa (NLF) dan pada media BAP tidak mampu mendestruksi sel darah merah (γ -hemolisis), isolat tersebut cenderung memiliki sifat patogenitas relatif rendah (Arifiani dan Ethica, 2018).

Isolat STW 1 dan STW 2 merupakan isolat bakteri indigen (bakteri asal) yang terdapat pada limbah cair industri tahu dengan kandungan protein yang tinggi. Dari hasil penelitian ini dapat diperoleh bakteri indigen penghasil enzim protease dengan tingkat patogenitas relatif rendah dari limbah cair industri tahu. Menurut Ethica (2018), bakteri dengan karakteristik tersebut berpotensi untuk dijadikan agen bioremediasi limbah cair. Namun sebelum digunakan sebagai agen bioremediasi, harus dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memperbaiki parameter limbah cair seperti pH, *Chemical Oxygen Demand* (COD), *Biological Oxygen Demand* (BOD), *Total Suspended Solid* (TSS), *Total Dissolved Solid* (TDS) (Ethica dkk., 2017; Ethica dkk., 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, dari sampel cair industri tahu Pabrik Tahu dan Tempe Pak Ngatijan Jl. Imogiri Barat, Bantul, Yogyakarta, bahwa:

1. Diperoleh 2 isolat bakteri dengan morfologi berbeda, yaitu STW 1 dan STW 2.
2. Kedua isolat tersebut sama-sama mampu menghasilkan zona bening protease di sekitar koloni.
3. Kedua isolat sama-sama memiliki tingkat patogenitas rendah.

Dengan demikian kedua isolat bakteri indigen limbah tahu hasil penelitian ini yaitu STW 1 dan STW 2 berpotensi untuk dijadikan kandidat agen bioremediasi. Hal ini karena keduanya mampu menghasilkan enzim pendegradasi protein tahu dan tingkat patogenitasnya rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, A. G., G. Antoni L., dan A. C. Anon. (1993). Proteolytic Activity of *Lactobacillus Bulgaricus* Grown in Milk. *Journal of Dairy Science*. La Plata, Argentina.
- Arifiani, N., dan Ethica, S. N., (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Lipase dan Protease yang Berpotensi sebagai Agen Bioremediasi dari Limbah Biomedis Cair Puskesmas Halmahera Kota Semarang. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus* (Vol. 1).
- Darmawati, S., Sembiring, L., Asmara, W., dan Artama, W.T., (2015). Identifikasi Bakteri Batang Gram Negatif pada Darah Widal Positif Berdasarkan Karakter Fenotipik.
- Ethica, S. N., *Bioremediasi Limbah Biomedik Cair*, (2018), pp 1-158, Deepublish Publisher, Yogyakarta, ISBN 978-602-475-503-4.



- Ethica, S.N., Muchlissin, S.I., Saptaningtyas, R. dan Sabdono, A., (2018). Protease Producers Predominate Cultivable Hydrolitic Bacteria Isolated from Liquid Biomedical Waste, *Asian Journal of Chemistry* 30(9): 2035-2038 DOI: 10.14233/ajchem.
- Fong, K. P. Y., dan Tan, H. M. (2000). Isolation Of a Microbial Consortium From Activated Sludge For The Biological Treatment Of Food Waste. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(5), pp 441-443.
- Irianto, K., (2014). *Bakteriologi Medis, Mikologi Medis, dan Virologi Medis (Medical Bacteriology, Medical Micology, and Medical Virology)*. Alfabeta: Bandung.
- Lestari, P. B. (2016). Biodegradasi Limbah Cair Tahu Dari Mikroorganisme Indigen Sebagai Bahan Ajar Mikrobiologi Lingkungan Di Perguruan Tinggi. *Jurnal Edukasi Matematika dan Sains*, 2(1), pp 84-94.
- Nugraha, H., dan Hari, S. (2011). Pengukuran Produktivitas dan Waste Reduction dengan Pendekatan Productivity. *Jurusan Teknik Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember*, pp 1-11.
- Priadie, B. (2012). *Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air*. Pusat Litbang Sumber Daya Air, Kementerian PU. Jl. Ir. H. Juanda No. 193 Bandung.
- Sabrina, A. N., dan Ethica, S. N., (2018). Potensi Bakteri Indigen Penghasil Enzim Protease dan Lipase sebagai Agen Bioremediasi Limbah Biomedis Puskesmas Tlogosari Kulon. In *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus* (Vol. 1).
- Subekti, S. (2011). Pengolahan Limbah Cair Tahu Menjadi Biogas sebagai Bahan Bakar Alternatif. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim Semarang* 1(1).
- Wasteson, Y., dan Hornes, E. (2009). Pathogenic *Escherichia Coli* Found in Food. *International Journal of Food Microbiology*, 12, pp 103-114.
- Zahidah, D., dan Shovitri, M. (2013). Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob sebagai Pendegradasi Limbah Organik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 2(1), pp E12-E15.