



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

BIOKIMIA
(Kode : F-11)

ISBN : 978-979-1533-85-0

AIR RENDAMAN KEDELAI SEBAGAI ANTI-MIKROBIA

Sri Hartini¹, Lucia Devi², Irene Wijaya², Kris Herawan Timotius²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Indonesia. Telp. 0298)321212 psw. 251, Fax. (0298) 321433, HP 085727883621,

Email : dec1arantius@yahoo.com

²Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga.

Abstrak

Air rendaman kedelai yang berasal dari proses pembuatan tempe memberikan tambahan permasalahan lingkungan berkaitan dengan bau dan kuantitas serta kualitas limbah cair tersebut. Padahal, limbah ARK masih kaya dengan kandungan protein terutama yang berpotensi sebagai anti bakteri baik gram negatif maupun positif. Uji potensi anti bakteri dapat dilakukan dengan pemisahan fraksi protein dan dilanjutkan dengan determinasi efek penghambatan terhadap bakteri uji. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) juga dapat digunakan menjadi alternatif tambahan pembuktian potensi ARK sebagai penghambat mikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji potensi ARK sebagai penghambat pertumbuhan mikroba patogen. Air Rendaman Kedelai (ARK) dipisahkan fraksi proteinnya dengan Amonium Sulfat pada konsentrasi 0-40 %; 40-50%; 50-60%; 60-70% v/v. Selanjutnya dengan fraksi protein dilakukan pengujian potensi daya hambat antimikrobia terhadap bakteri patogen gram positif dan negatif yaitu *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* dengan metode sumur. Uji penghambatan diperkuat dengan KLT melalui penyemprotan bakteri dan paranitro tetrazolium kemudian diamati dibawah sinar UV 254 nm. Uji mikroskopis juga dilakukan terhadap bakteri uji untuk memastikan morfologi sel. Masing-masing fraksi menghasilkan penghambatan terhadap kedua jenis bakteri tersebut, yang ditandai adanya zona terang di sekeliling sumur. Bakteri yang terdapat pada fraksi pertama dan kedua diisolasi dan dilakukan pengujian ulang terhadap daya hambat kedua bakter. Hasil pengamatan menunjukkan penghambatan yang sama. Uji KLT menunjukkan penghambatan positif yang ditandai dengan munculnya zona terang di sekitar spot, sedangkan diluar spot muncul warna ungu kemerahan. Pengamatan mikroskopis dengan pengecatan gram memperlihatkan morfologi bulat dan gram positif. Dari hasil uji laboratorium terhadap efek penghambatan ARK terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* dapat disimpulkan bahwa ARK mempunyai potensi sebagai anti bakteri terhadap keberadaan bakteri patogen.

Kata kunci : Air Rendaman Kedelai (ARK), Antimikrobia

PENDAHULUAN

Tempe merupakan salah satu makanan khas Indonesia, hanya sekarang sudah semakin mendunia karena banyak negara-negara lain juga memproduksinya. Penelitian tentang tempe sudah dilakukan sejak tahun 1926 khususnya di Jepang [7]. Tempe dianggap sebagai makanan yang sehat sehingga semakin banyak penggemarnya [9]. Dampak selanjutnya adalah setiap harinya terjadi peningkatan produksi tempe [2].

Salah satu bahan untuk pembuatan tempe adalah kedelai. Di dalam 100 g kedelai mengandung protein 34,9 g, lemak 18,1 g, Kalsium 227 mg, dan air 7,5 g [1 & 8]. Sedangkan dalam 100 g tempe mengandung protein 20,8 g, lemak 8,8 g, kalsium 155 mg, dan fosfor 326 mg [2].

Beberapa tahapan di-perlukan dalam proses pembuatan tempe, yaitu pencucian, perendaman dan pengasaman, pengupasan,

tahapan perebusan, inokulasi dengan ragi, pembungkusan dan fermentasi. Hal riskan yang sering diabaikan pada proses pembuatan tempe ini adalah dihasilkannya limbah cair yang dapat merusak lingkungan [13]. Limbah cair ini berasal dari proses perendaman dan pengasaman.

Limbah cair dari proses perendaman dan pengasaman ini bersifat asam karena air yang digunakan untuk merendam selama 1 malam akan tercampur dengan bakteri yang berasal dari kulit kacang kedelai maupun udara sekitar. Limbah cair yang berasal dari air bekas rendaman kedelai ini sering disebut Air Rendaman Kedelai (ARK). ARK yang selama ini dibuang harus diolah kembali agar tidak mencemari lingkungan dan dimanfaatkan kembali oleh masyarakat, karena limbah ini berasal dari kedelai yang kaya akan protein [6], maka dimungkinkan bahwa limbahnya juga masih mengandung protein.

Seperti yang sudah dikemukakan sebelumnya bah-wa ARK ini bersifat asam. Sifat asam ini berasal dari bakteri *Lactobacillus* sp, selain itu sifat asamnya dapat dicirikan secara langsung yaitu dari bau asam dan terbentuknya buih pada ARK [10]. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* sp. ini berasal dari fermentasi asam laktat secara alami. Fermentasi asam laktat dan pengasaman ini ternyata juga bermanfaat meningkatkan nilai gizi dan berpotensi untuk menghilangkan bakteri-bakteri beracun [5].

Bakteri *Lactobacillus* sp yang berasal dari fermentasi secara tidak langsung memiliki sifat penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri-bakteri patogen atau dapat dikatakan juga bahwa bakteri ini dapat bersifat antibakteri. Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen ini berasal dari produk asam laktat yang berasal dari bakteri *Lactobacillus*. Asam laktat yang terdapat pada *Lactobacillus* ini sangat asam sehingga bakteri-bakteri lain sulit tumbuh dalam kondisi yang sangat asam ini [12].

Sekarang ini penelitian tentang ARK belum banyak dilakukan, sehingga penelitian serta pengembangan nilai guna ARK ini layak untuk dilakukan lebih lanjut. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji potensi ARK sebagai penghambat pertumbuhan mikroba patogen.

PROSEDUR PERCOBAAN

Bahan dan piranti

NaCl, Reagen Lawry, NaOH, NaCO₃, CuSO₄, *Folin-Ciocalteu's*, Sodium Potassium Tartrat (SPT), Amonium Sulfat, medium NA (Nutrient Agar) dan NB (Nutrient Broth).

Klarifikasi ARK

Sampel dipusingkan pada alat *centrifuge* dengan kecepatan 800 rpm sebanyak 3 kali masing-masing 30 menit untuk mendapatkan sampel yang jernih.

Penentuan Protein Terlarut (Metoda Lowry) [3]

Protein terlarut pada ARK di uji dengan metode Lowry sebagai berikut 1 ml ARK klarifat ditambah 1.7 ml reagen Lowry dibiarkan 30 menit dan ditambah folin Chiocalteus sebanyak 2 ml. Setelah 30 menit warna yang terbentuk diukur pada spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Kadar protein dihitung berdasarkan kurva standar menggunakan Bovin Serum Albumin (BSA) sebagai standar.

Penentuan Lipida

Ekstraksi lipida klarifat ARK dengan menggunakan metode Soxhlet cair-cair dengan pelarut aseton pada pH 2.

Fraksinasi Protein

Protein pada klarifat ARK sebanyak 100 ml diendapkan ammonium sulfat secara bertahap dengan kepekatan berturut-turut sebagai berikut : 0-40, 40-50, 50-60, 60-70 pada suhu 0-4 °C dan

endapan diperoleh dengan pemusingan pada 2000 rpm selama 30 menit. Endapan didialisis dengan kantong selofan selama 2x 24 jam menggunakan bufer fosfat pH 7.

Uji Anti Mikroba

Dialisat protein pada masing-masing fraksi diuji daya hambat terhadap pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* dengan metode sumur berdiameter 6 mm dengan cara sebagai berikut, masing-masing diinokulasikan pada medium NA cair dengan suhu 50 C dan dituang pada cawan petri dan dibiarkan memadat. Dibuat sumur dengan *cork borer* pada medium setelah memadat kemudian masing-masing fraksi dialisat dimasukkan ke dalam sumur masing-masing sebanyak 20 µL dan diinkubasi semalam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi, zona terang diamati di sekitar sumur. Uji penghambatan ini juga dilakukan dengan yang diinokulasi pada medium ARK dan NB yang sudah dimurnikan dengan penyaring kerapatan 0.4 µm. Filtrat ARK dan NB yang sudah murni dilakukan uji KLT dengan pelarut kloroform untuk medium NB dan campuran etil asetat dan kloroform (1:1) untuk medium ARK. Lembaran KLT yang terdapat sampel filtrat dari NB dan ARK, yang sudah dilarutkan pada masing-masing pelarut disemprot bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* kemudian dengan paranitro tetrazolium. Hasil KLT dilihat dibawah sinar UV 254 nm dan *dikerok*, yang kemudian diuji penghambatannya kembali. Dalam uji penghambatan ini digunakan kertas cakram yang akan ditaruh pada masing-masing sumur di medium NA yang diberi *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli*.

Morfologi mikroba

Pengamatan morfologi dari bakteri yang berasal dari ARK, dilakukan dengan pengecatan gram pada isolat. Pengecatan gram ini dilakukan bertahap, pertama pengecatan dengan gram A

yang kemudian didiamkan selama 2 menit. Kemudian dilanjutkan dengan pengecatan gram B dan didiamkan selama 1 menit. Berikutnya dicat dengan gram C dan D yang masing-masing didiamkan selama 30 detik. Hasil pengecatan diamati dibawah mikroskop untuk melihat morfologi dari mikroba tersebut [8].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan protein terlarut

Protein dari ARK yang diuji menggunakan metode Lowry, adalah 0.21% (b/v). Reaksi yang berlangsung pada metode Lowry ini diakibatkan bereaksinya ion Cu^+ , yang dihasilkan oleh oksidasi ikatan peptida, dengan reagen Folin-Ciocalteu (campuran asam Fosfotungstat dan asam Fosfomolibdat dalam reaksi Folin-Ciocalteu) [3].

Penentuan lipida

Setelah dilakukan sokletisasi, ternyata sampel tidak mengandung lipid. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil sokletisasi yang berwarna bening. Jika ARK mengandung lipid, maka lipid akan terikat pada aseton yang digunakan sebagai pelarut, aseton bersifat nonpolar [4].

Uji anti mikrobia

Pada uji penghambatan terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* terbentuk zona terang di sekitar sumur yang dibuat. Penghambatan tersebut terjadi karena adanya pertumbuhan jenis lain yang lebih kuat sehingga menekan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* (dapat dilihat pada **Gambar 1**) dan *Escheria coli* (dapat dilihat pada **Gambar 2**).

Sifat penghambatan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* ini sama seperti kemampuan yang dimiliki oleh bakteri *Lactobacillus*, yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain [10 & 12]. Hal ini

dikarenakan tidak semua bakteri mampu tumbuh dalam kondisi yang sangat asam [12].

Uji KLT

Uji KLT ini merupakan salah satu metode untuk uji anti mikrobial dengan menggunakan medium kromatografi. **Gambar 3** menunjukkan hasil KLT dari penghambatan terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escheria coli* oleh pada ARK. Warna ungu kemerahan yang terlihat merupakan pertumbuhan bakteri yang telah disemprotkan pada KLT dan warna terang disekitarnya merupakan penghambatan bakteri dari ARK. Warna ungu kemerahan yang terlihat, terjadi karena adanya Paranitro tetrazolium mendehi-drogenasi bakteri (khususnya pada bagian membrannya), sehingga membran itu mengalami formasi. maka timbullah warna ungu kemerahan. Hasil KLT tersebut diuji dengan menggunakan kertas cakram dan diuji penghambatannya pada medium NA. Hasil yang diperoleh tidak menunjukkan adanya penghambatan, hal ini dikarenakan konsentrasi filtrat murni bakteri terlalu kecil jika dibandingkan dengan kontrolnya.

Morfologi mikroba dari ARK

Morfologi mikrobial dari ARK yang diamati dengan pengecatan gram dan diamati dibawah mikroskop (**Gambar 4**). ini berwarna ungu maka dapat dikatakan bakteri gram positif karena mampu menyerap warna larutan cat kristal violet dan setelah ditetesi etanol warna ungunya tidak luntur [11].

KESIMPULAN

Bakteri yang terkandung dalam ARK adalah bakteri gram positif. Selain itu bakteri ini memiliki sifat yang dapat menghambat bakteri lain, sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri.

DAFTAR RUJUKAN

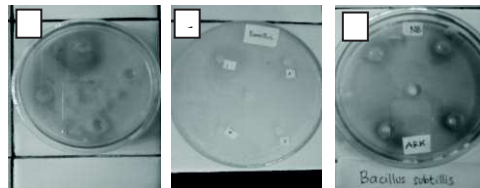
- [1] Anonim, 2005. Tanaman Obat Indonesia. http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanoba/view.php?id=15. Diakses pada tanggal 03-10-2010.
- [2] Anonim, 2006-2009. Mengenal 6 Jenis Tempe Dan Kandungan Gizinya. Ayahbunda. <http://www.ayahbunda.co.id/Artikel/Gizi+dan+Kesehatan/Keluarga/mengenal.6.jenis.tempe.dan.kandungan.gizinya/001/001/762/6/3>. Diakses pada tanggal 05-10-2010.
- [3] Anonim¹.2010. Lowry Protein Assay. http://en.wikipedia.org/wiki/Lowry_protein_assay. Diakses tanggal 07-10-2010
- [4]Anonim².2010. Lipid. <http://id.wikipedia.org/wiki/Lipid> Diakses pada tanggal 07-10-2010
- [5] Lund, B. M., Tony C. Baird-Parker and Grahame W. G. , 2000. The microbiological safety and quality of food. Vol.2. Aspen in Gaithersburg, Md .
- [6] Karyadi, D. 1985. *Prospek Pengembangan Tempe Dalam Upaya Peningkatan Status Gizi dan Kesehatan Masyarakat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- [7] Mahardhika, Aghna, 2010. Semua Tentang Tempe. <http://www.kaskus.us/showthread.php?t=5537503>. Diakses pada tanggal 25-09-2010.
- [8] Mancera, V, 2010. Kedelai Sumber Protein. http://toko_posiklan.com/berita/36-informasi-umum/69-susu-kedelai-minuman-fungsional-kaya-gizi.html. Diakses pada tanggal 09-09-2010.
- [9] Mnemosyne, 2009. Tempe. <http://www.tebarnasi.com/showthread.php?t=634> Diakses tanggal 19-10-2010.
- [10] Omafuvbe B. O., Esosukpo, T. S., T. S. Oladejo and A. A. Teye., 2007. Effect of Soaking and Roasting Dehulling Methods of Soybean on Bacillus Fermentation of Soy-Daddawa. Am. J. Food Technol. 2 (4) : 257-264. ISSN 1557-4571.

[11] Ruly. 2008. Pengecatan Gram. <http://dunia-mikro.blogspot.com/2008/05/pengecatan-gram.html> Diakses tanggal 19-10-2010.

[12] Slabyj B,, Alfred B. and Russell H. 2003. Microbiological Quality and Safety of Food. Department of Food Science

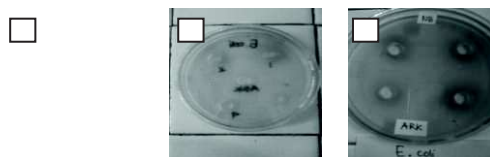
and Human Nutrition. University of Maine. Orono, ME 04473.
 [13] Wardhana, W.A. 2004. Dampak Pencemaran Lingkungan. Penerbit Andi. Yogyakarta.

LAMPIRAN



Gambar 1. Uji penghambatan terhadap *Bacillus subtilis*

- a. Filtrat ARK;
- b. Fraksinasi Protein;
- c. Filtrat isolat



Gambar 2. Uji penghambatan terhadap *Escheria coli*.

- a. Filtrat ARK;
- b. Fraksinasi Protein;
- c. Filtrat isolat



Gambar 3. Uji KLT



Gambar 4. Morfologi bakteri dari ARK