

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI PROTEOLITIK ASAL LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI DASAR PENENTUAN AGEN PEMBUATAN BIOFERTILIZER

Muhammad Asril*, Sovia Santi Leksikowati**

*Program Studi Biologi, Institut Teknologi Sumatera, Lampung Selatan, Indonesia,
m.asril@bi.itera.ac.id

**Program Studi Biologi, Institut Teknologi Sumatera, Lampung Selatan, Indonesia,
sovia.santi@bi.itera.ac.id

Email korespondensi: m.asril@bi.itera.ac.id

Diterima : 28 Januari 2019

Disetujui : 15 Juli 2019

Diterbitkan : 1 Agustus 2019

Abstract: Liquid tofu waste has the effect of damaging the environment if treated poorly. The waste contains a reasonably high protein so that it can be used as a substrate for the isolation of proteolytic bacteria. Proteases produced by proteolytic bacteria can hydrolyze proteins in liquid tofu waste. The results of protein hydrolysis are amino acids in the form of nitrogen. The nitrogen can be used by plants for nutritional growth so that bioconversion products from proteolytic bacteria can be used as biofertilizers. The purpose of this study was to isolate and select potential proteolytic isolates from liquid tofu waste, which could be used as biofertilizer agents. The method used was bacterial isolation, proteolytic activity test, potato decay test, hemolysis test, and antagonism test among isolates. The results showed that there were two potential isolates from 28 isolates that had been successfully isolated, namely BLT-12 and BLT 21 with each Proteolytic Index of 3.20 and 3.16, respectively. The two isolates were gram-positive in the form of basil, did not have hemolysis activity, could not decompose potatoes so that they did not have a pathogenic effect on the test plants and did not have antagonistic properties between the two others. Therefore, BLT 12 and BLT 21 isolates can be used as candidates for potential isolates of biofertilizer agents.

Keywords: proteolytic bacteria, tofu liquid waste, pectinolytic, synergism

Abstrak: Limbah cair tahu memiliki efek merusak lingkungan jika tanpa dilakukan pengolahan dengan baik. Limbah tersebut mengandung protein yang cukup tinggi, sehingga dapat dijadikan sebagai substrat isolasi bakteri proteolitik. Protease yang dihasilkan oleh bakteri proteolitik mampu menghidrolisis protein dalam limbah cair tahu. Hasil hidrolisis protein berupa asam amino berbentuk nitrogen dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan untuk nutrisi pertumbuhan sehingga produk biokonversi dari bakteri proteolitik dapat dijadikan sebagai biofertilizer. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan menyeleksi isolat proteolitik potensial dari limbah cair tahu yang dapat dijadikan sebagai agen biofertilizer. Metode yang digunakan adalah isolasi bakteri, uji aktivitas proteolitik, uji pembusukan kentang, uji hemolisis dan uji antagonisme antar isolat. Hasil menunjukkan bahwa terdapat dua isolat potensial dari 28 isolat yang telah berhasil diisolasi yaitu BLT-12 dan BLT 21 dengan masing-masing Indeks Proteolitik sebesar 3.20 dan 3.16. Kedua isolat merupakan gram positif berbentuk basil, tidak memiliki aktivitas hemolisis, tidak memiliki kemampuan untuk membusukkan kentang sehingga tidak memiliki efek patogenitas terhadap tanaman uji serta tidak memiliki sifat antagonisme antar keduanya. Oleh karena itu, isolat BLT 12 dan BLT 21 dapat dijadikan sebagai kandidat isolat potensial agen biofertilizer.

Kata kunci: bakteri proteolitik, limbah cair tahu, pektinolitik, sinergisme

Pendahuluan

Industri pengolahan tahu merupakan industri yang cukup berkembang di Indonesia. Industri ini menghasilkan limbah cair yang berasal dari proses pencucian, pengeringan dan pencetakan. Jumlah limbah cair yang dihasilkan setiap harinya mencapai 4000 liter (Asril *et al.* 2019) dan dibuang ke lingkungan tanpa melalui proses pengolahan limbah yang sesuai standar. Limbah cair tahu dengan jumlah yang cukup tinggi tersebut mengandung protein dan bahan organik yang cukup tinggi (Faisal *et al.* 2014) dan memiliki ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan tanaman (Hidayani *et al.* 2014). Akan tetapi, bahan organik tersebut masih dalam bentuk kompleks sehingga sulit untuk didegradasi oleh organisme tanah dan menyebabkan pencemaran air dan tanah. Salah satu upaya yang dilakukan dalam penanganan limbah cair tahu adalah dengan memanfaatkan produksi limbah cair sebagai substrat isolasi bakteri proteolitik (Asril *et al.* 2019).

Pada umumnya, bakteri proteolitik dapat ditemukan dari berbagai sumber yang mengandung protein tinggi diantaranya limbah cair pengolahan bandeng presto (Paskandani *et al.* 2014), limbah cucian ayam potong dan cucian ikan (Andika & Sulistyarsi, 2017), limbah bulu (Pertiwiningrum *et al.* 2017) bahkan dapat ditemukan berasosiasi dengan lamun (Rizaldi *et al.* 2018). Bakteri proteolitik mampu menghasilkan protease yang dapat menghidrolisis protein di dalam limbah cair tahu. Protease memegang peranan penting dalam berbagai fungsi biologi mulai dari tingkat sel, organ hingga organisme yang dinamakan sebagai reaksi metabolik dan fungsi regulator (Vazquez *et al.* 2008). Beberapa bakteri yang dikenal sebagai penghasil protease dari limbah cair tahu diantaranya *Staphylococcus* (Fatoni *et al.* 2008), *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis* (Supriyanti *et al.* 2013).

Penggunaan bakteri penghasil protease yang berasal dari limbah cair tahu merupakan salah satu cara biokonversi limbah yang mampu mengurangi jumlah polutan dengan cara mempercepat dekomposisi bahan organik (Agus *et al.* 2014). Pemanfaatan produk biokonversi dari mikroba dapat digunakan sebagai pupuk hayati. Hal ini dikarenakan bakteri proteolitik mampu merombak protein menjadi asam amino dalam bentuk nitrogen yang dapat digunakan oleh tumbuhan sebagai nutrisi penting untuk pertumbuhan (Hutabarat *et al.* 2014). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri proteolitik dari limbah cair tahu dan menyeleksi isolat potensial sebagai dasar awal penentuan isolat yang dapat dijadikan sebagai agen biofertilizer.

Metode Penelitian

Isolasi Bakteri Proteolitik

Bakteri proteolitik diisolasi dari limbah cair tahu menggunakan media *Nutrient Agar* + 1% *Skim Milk* dengan metode *spread plate* dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Uji positif ditandai dengan adanya zona bening yang

terbentuk di sekeliling koloni akibat adanya hidrolisis kasein menjadi nitrogen terlarut. Koloni tunggal yang menghasilkan zona bening kemudian dimurnikan. Isolat yang memiliki indeks proteolitik tertinggi selanjutnya dilakukan pengamatan karakter morfologi dan pewarnaan gram bakteri dan uji hemolisin pada *Blood Agar*.

Uji Aktivitas Proteolitik

Kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein ditandai dengan pembentukan zona jernih disekitar koloni bakteri. Caranya satu ose koloni digoreskan pada medium *Nutrient Agar* + 1% *Skim Milk*. Isolat diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam dan diamati terbentuknya zona jernih pada masing-masing koloni. Koloni yang membentuk zona jernih merupakan bakteri penghasil protease. Indeks Proteolitik (IP) pada masing-masing koloni untuk mengetahui daya degradasi bakteri terhadap protein didalam media dengan persamaan berikut (Durham *et al.* 1987):

$$IP = \frac{\text{Diameter Zona Bening (mm)} - \text{Diameter Koloni (mm)}}{\text{Diameter Koloni (mm)}} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan

IP : *Indeks Proteolitik*

Uji Pembusukan Kentang (Uji Aktivitas Pektinolitik)

Seleksi selanjutnya dilakukan uji kemampuan pektinolitik pada kentang. Uji ini bertujuan untuk melihat aktivitas pektinolitik pada bakteri yang merupakan indikasi awal bakteri tersebut mampu merusak pektin yang terdapat pada dinding sel tanaman. Jika bakteri tersebut menunjukkan hasil positif, maka bakteri tersebut tidak dapat dijadikan sebagai kandidat bakteri potensial karena digolongkan sebagai bakteri patogen yang mampu menyebabkan lesi pada kentang. Pengujian pembusukan kentang dilakukan dengan cara menggoreskan isolat bakteri pada bagian tengah umbi kentang yang telah dicuci dengan air mengalir dengan menggunakan jarum ose. Umbi kentang yang telah diberi perlakuan diletakkan dalam wadah yang telah diberi kapas dan air steril sebanyak 1 ml lalu diinkubasi selama 2-3 hari. Reaksi positif dari isolat tersebut ditunjukkan dengan adanya pembusukan pada bagian tengah umbi kentang yang menandakan bahwa isolat tersebut terindikasi sebagai isolat patogen pada tanaman (Lelliot and Stead, 1987).

Uji Antagonisme Antar Bakteri Potensial

Pengujian isolat bakteri proteolitik potensial dilakukan dengan metode difusi sumur. Dua isolat bakteri proteolitik terpilih masing-masing diuji antagonis pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁸ cfu/ml disebar pada permukaan media MHA. Suspensi bakteri potensial lainnya sebanyak 100 µl dengan konsentrasi 10⁸ cfu/ml dimasukkan kedalam sumur berdiameter 8 mm pada media MHA kemudian diinkubasi selama 24 jam

pada suhu 30 °C. Pengamatan dilakukan dengan pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur yang diberikan suspensi bakteri (Asril, 2012).

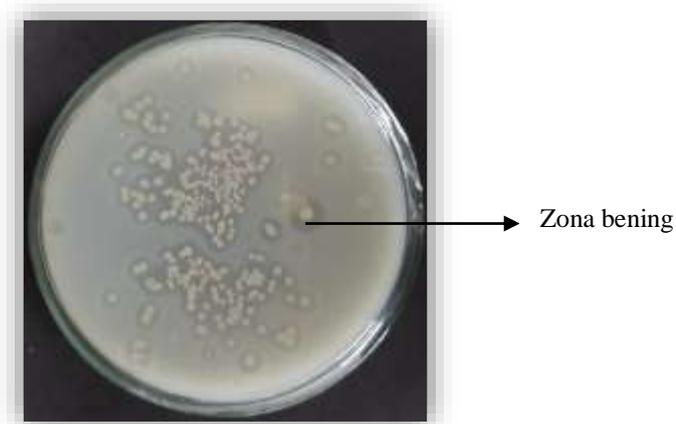
Hasil Penelitian dan Pembahasan

Dari 1 ml sampel limbah cair tahu berhasil diisolasi sebanyak 28 isolat bakteri proteolitik dengan karakter morfologi yang cukup beragam (tabel 1). Isolat tersebut kemudian diberi kode BLT. Aktivitas protease dari masing-masing bakteri proteolitik ditunjukkan dengan adanya pembentukan zona bening pada medium padat di sekitar koloni bakteri (Gambar 1).

Tabel 1. Karakter morfologi bakteri proteolitik terpilih

Kode Isolat	Warna Koloni	Elevasi Koloni	Tepian Koloni	Bentuk Koloni	Ciri spesifik
BLT-01	Kuning	Timbul	Bulat	Bulat	mengkilap
BLT-02	Putih	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	Putih kasap
BLT-03	Putih	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	memiliki serbuk putih
BLT-04	Putih	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	Berlendir dan sulit diinokulasi
BLT-05	Putih kekuningan	Timbul	Bulat	Bulat	-
BLT-06	Putih	Timbul	Bulat	Bulat	Tidak mengkilap
BLT-07	Putih kekuningan	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	Koloni menyebar dan koloni tidak terpisah
BLT-08	transparan	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	-
BLT-09	Putih	Timbul	Bulat	Bulat	Tebal dan bergurat
BLT-10	Putih	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	Koloni menyebar
BLT-11	Putih	Timbul	Bulat	Bulat	Seperti tetesan air
BLT-12	Putih kekuningan	Timbul	Bulat	Bulat	berpendar
BLT-13	Putih	Timbul	Bulat	Bulat	Tidak mengkilap dan ada guratan
BLT-14	Putih	Timbul	Berlekuk	Tak beraturan	Setelah 48 jam berubah warna menjadi agak kemerahan
BLT-15	Putih	Timbul	Bulat	Bulat	Ada guratan hitam
BLT-16	Putih kekuningan	Timbul	Bulat	Bulat	Tidak terlalu mengkilap
BLT-17	Putih	Timbul	Berlekuk	Tidak beraturan	Permukaan kasar
BLT-18	Putih kekuningan	Rata	Bulat	Bulat	-
BLT-19	Putih	Rata	Bulat	Bulat	-
BLT-20	Putih	Timbul	Berlekuk	Bulat	-
BLT-21	Kuning	Rata	Bulat	Bulat	Berpendar

Kode Isolat	Warna Koloni	Elevasi Koloni	Tepian Koloni	Bentuk Koloni	Ciri spesifik
BLT-22	Putih	Timbul	Bulat	Bulat	-
BLT-23	Putih	Rata	Berlekuk	Bulat	-
BLT-24	Putih	Timbul	Berlekuk	Bulat	-
BLT-25	Kuning	Timbul	Bulat	Bulat	-
BLT-26	Kuning	Rata	Bulat	Bulat	Transparan
BLT-27	Kuning	Rata	Bulat	Bulat	Terdapat titik hitam di bagian tengah
BLT-28	Merah	Rata	Berlekuk	Bulat	serbuk



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri proteolitik dari limbah cair tahu.

Isolat bakteri yang diperoleh dari limbah tahu berjumlah 28 isolat dan memiliki aktivitas proteolitik yang cukup beragam. Hal ini dikarenakan limbah cair tahu merupakan substrat yang cukup menyediakan komponen protein untuk nutrisi bagi bakteri penghasil protease. Protease merupakan enzim perombak protein. Jumlah protein yang tinggi pada limbah cair tahu sebesar 20.74% (Asril *et al.* 2019) dapat menjadi sumber nutrisi yang baik untuk pertumbuhan bakteri proteolitik.

Berbagai laporan terkait keberadaan bakteri proteolitik pada limbah cair tahu seperti total populasi bakteri proteolitik dari limbah cair tahu sebanyak 23×10^4 cfu/ml (Asril *et al.* 2019). Selain jumlah populasi, Fatoni *et al.* (2008) berhasil mengisolasi 7 isolat bakteri proteolitik dari limbah cair tahu. Sedangkan Wardani dan Nindita (2012) berhasil mendapatkan 30 bakteri proteolitik dengan aktivitas protease yang beragam. Oleh karena itu, substrat yang digunakan sebagai sampel dalam mengisolasi bakteri proteolitik dapat diperoleh dari berbagai tempat yang banyak mengandung protein seperti limbah cair tahu, rumah pemotongan hewan, tambak, dan tempat pembuangan susu rusak serta tanah gambut yang kaya akan bahan organik, pada produk fermentasi terutama yang berbahan dasar kedelai seperti oncom (Lestari *et al.* 2018) dan produk fermentasi ikan (Samad *et al.* 2017). Isolasi dilakukan dengan menggunakan medium yang mengandung kasein,

yang merupakan substrat yang baik untuk mengisolasi bakteri penghasil enzim protease dan menginduksi sintesis enzim protease alkalin (Ward, 1983).

Selain karakter yang beragam, ke 28 isolat bakteri juga memiliki indeks proteolitik yang cukup bervariasi (tabel 2). Hasil penghitungan indeks proteolitik (IP) berdasarkan zona bening, ke-28 isolat bakteri proteolitik yang diinkubasi selama 48 jam diperoleh 9 (sembilan) isolat yang memiliki IP terendah dengan nilai $IP \leq 1$ yaitu isolat BLT-08, BLT-10, BLT-11, BLT-14, BLT-22, BLT-23, BLT-26, BLT-27 dan BLT-28. Sedangkan isolat yang memiliki IP tertinggi yaitu BLT-12, BLT 16 dan BLT-21 dengan $IP \geq 3$ (Gambar 2). Zona bening bakteri disebabkan adanya aktivitas enzim proteolitik ekstraseluler yang dihasilkan bakteri dalam menghidrolisis kasein yang berada didalam susu skim pada media. Zona bening tersebut merupakan indikator bahwa isolat bakteri mampu memanfaatkan protein pada media sebagai sumber nutrisinya (Badriyah dan Ardyati, 2013). Indeks proteolitik isolat BLT-12, BLT 16 dan BLT 21 sudah cukup tinggi dibandingkan isolat L2 yang hanya memiliki indeks 2.45 (Pertiwiningrum *et al.* 2017).



Gambar 2. Zona bening bakteri proteolitik dengan IP tertinggi BLT-12

Tabel 2. Indeks proteolitik bakteri

Isolat	Diameter Zona Bening		Diameter Koloni		Indeks Proteolitik	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
BLT-01	15	25	25	7	2.000	2.571
BLT-02	20	27	27	10	1.353	1.700
BLT-03	17	25	25	6.5	1.833	2.846
BLT-04	20	27	27	8	2.636	2.375
BLT-05	4	11	11	4	0.600	1.750
BLT-06	20	28	28	8	2.333	2.500
BLT-07	15	19	19	6.5	1.727	1.923
BLT-08	6	7	7	6	0.200	0.167
BLT-09	20.25	27	27	8.5	1.700	2.176
BLT-10	17	21	21	11.5	1.833	0.826

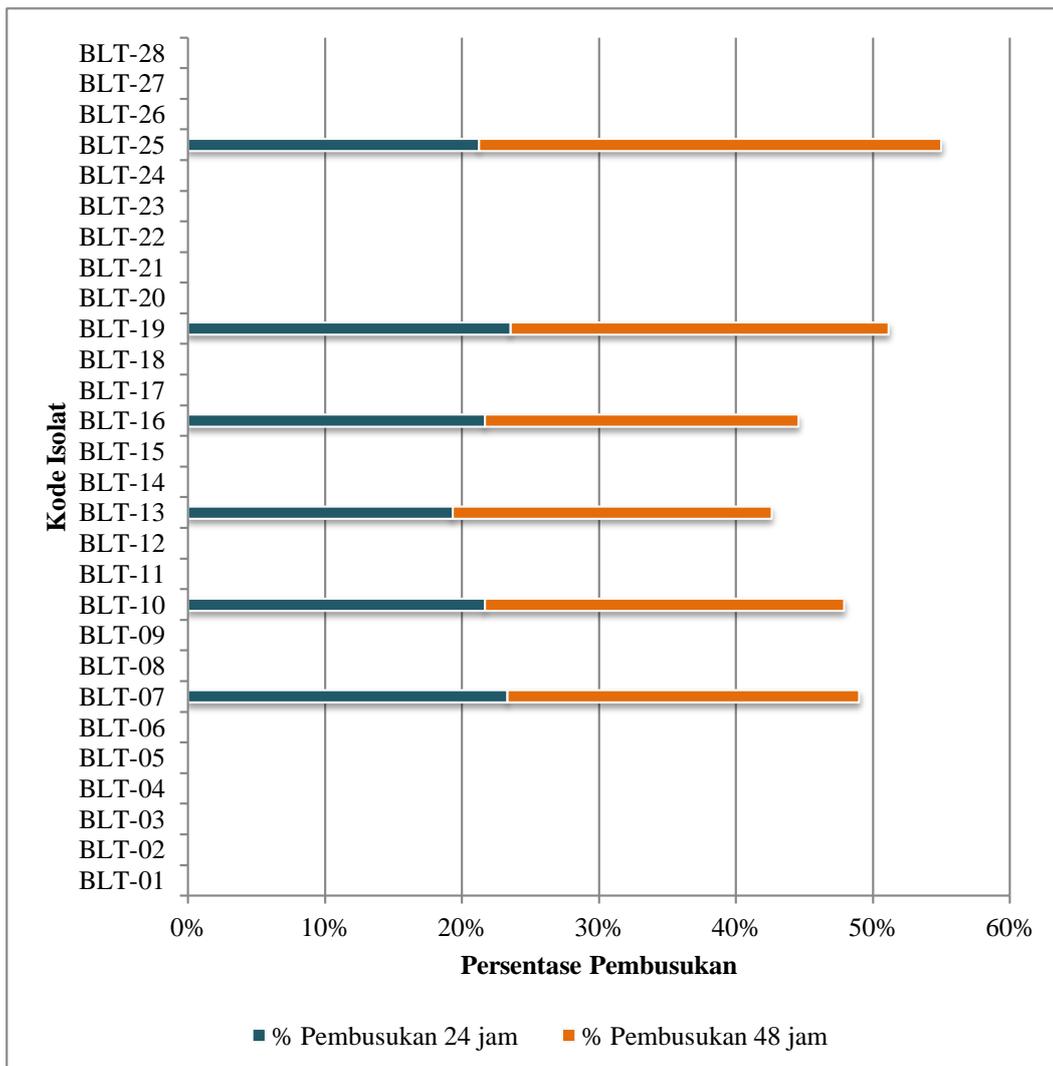
Isolat	Diameter Zona Bening		Diameter Koloni		Indeks Proteolitik	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
BLT-11	6.5	11.5	11.5	8.5	0.444	0.353
BLT-12	16	21	21	5	3.000	3.200
BLT-13	12.5	18	18	5	1.778	2.600
BLT-14	11	16	16	11	0.100	0.455
BLT-15	20	30	30	8	2.333	2.750
BLT-16	16.5	23	23	5.5	2.667	3.182
BLT-17	22	31	31	10	1.750	2.100
BLT-18	19	26	26	9	1.375	1.889
BLT-19	16	20	20	6.5	1.667	2.077
BLT-20	16	23	23	6.5	1.909	2.538
BLT-21	9	12.5	12.5	3	2.600	3.167
BLT-22	10	13	13	12	0.429	0.083
BLT-23	11	15	15	12	0.158	0.250
BLT-24	16.5	24	24	8	2.300	2.000
BLT-25	16	21	21	6	2.556	2.500
BLT-26	41	42	42	36	0.171	0.167
BLT-27	21	23	23	16	0.500	0.438
BLT-28	17	18	18	11.5	0.545	0.565

Indeks proteolitik isolat bakteri memiliki peningkatan dan penurunan aktivitas seiring dengan masa inkubasi bakteri pada media uji. Hal ini disebabkan oleh fase eksponensial atau logaritmik bakteri. Kecepatan pembelahan bakteri ini berhubungan dengan produksi protease aktivitas protease bakteri pada fase pertumbuhan bakteri. Kecepatan pembelahan diri bakteri selama fase log bersifat spesifik tergantung jenis bakteri dan faktor lingkungan seperti substrat, suhu, pH dan lainnya (Paskandani *et al.* 2014). *Bacillus cereus* var. *mycoides* memiliki aktivitas protease tertinggi pada 24 jam inkubasi dan mengalami penurunan seiring lamanya masa inkubasi (Josephine *et al.* 2012). Jenis bakteri lainnya memiliki aktivitas protease tertinggi pada 48 jam inkubasi seperti *E.coli*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp. (Palsaniya *et al.* 2012).

Seleksi lainnya untuk kandidat isolat potensial yaitu pengujian pembusukan kentang atau uji pektinolitik. Sebanyak 28 isolat yang memiliki aktivitas proteolitik dilakukan pengujian pembusukan kentang selama 48 jam. Uji ini bertujuan untuk melihat aktivitas pektinolitik pada bakteri yang merupakan indikasi awal bakteri tersebut mampu merusak pektin yang terdapat pada dinding sel tanaman. Jika bakteri tersebut menunjukkan hasil positif, maka bakteri tersebut tidak dapat dijadikan sebagai kandidat bakteri potensial karena digolongkan sebagai bakteri patogen yang mampu menyebabkan lesi pada kentang. Berdasarkan hasil pengujian 28 isolat pada umbi kentang, terdapat 6 (enam) isolat bakteri yang mampu membusukkan kentang yaitu isolat BLT-07, BLT-10, BLT-

13, BLT-16, BLT-19 dan BLT-25 (Gambar 3). Isolat yang menunjukkan hasil positif dalam uji pembusukan kentang menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut bersifat *Soft rot* ditandai dengan membusuknya bagian tengah kentang yang diinokulasikan bakteri (Gambar 4).

Peningkatan persentase lesi selama masa inkubasi disebabkan oleh pertumbuhan sel bakteri dalam menggunakan kentang sebagai substrat. Dalam pertumbuhan sel bakteri, fase logaritmik menjadi awal inokulasi dalam proses penggunaan substrat. Peningkatan jumlah sel bakteri secara optimal pada fase logaritmik akan diikuti oleh produksi enzim yang dapat digunakan dalam mendegradasi substrat (Rahayu *et al.* 2010) sehingga mampu menghasilkan lesi yang semakin besar. Bakteri yang bersifat *Soft rot* merupakan kelompok bakteri yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman dan bersifat patogenik (Oviana *et al.* 2015) dan menunjukkan bahwa kentang berpotensi sebagai inang alternatif (Supriadi *et al.* 2002).



Gambar 3. Uji pembusukan kentang (uji pektinolitik)

Berdasarkan hasil tersebut, isolat BLT 12 dan BLT 21 merupakan isolat yang tidak mampu mendegradasi pektin pada tanaman sehingga tidak menyebabkan patogen pada tanaman uji. Hal ini juga ditunjukkan pada bakteri hasil isolasi dari daun edamame asal Jember (Masnilah *et al.* 2013). Pada dasarnya seleksi bakteri proteolitik ini bertujuan untuk memilih bakteri potensial yang dapat dijadikan sebagai agen biostimulan pada tanaman atau disebut dengan biofertilizer. Sehingga tahapan ini harus dilakukan untuk meminimalkan resiko kerusakan pada tanaman uji.



Gambar 4. Pembusukan pada bagian tengah umbi kentang

Uji Hemolisis dan Pewarnaan Bakteri Isolat Potensial

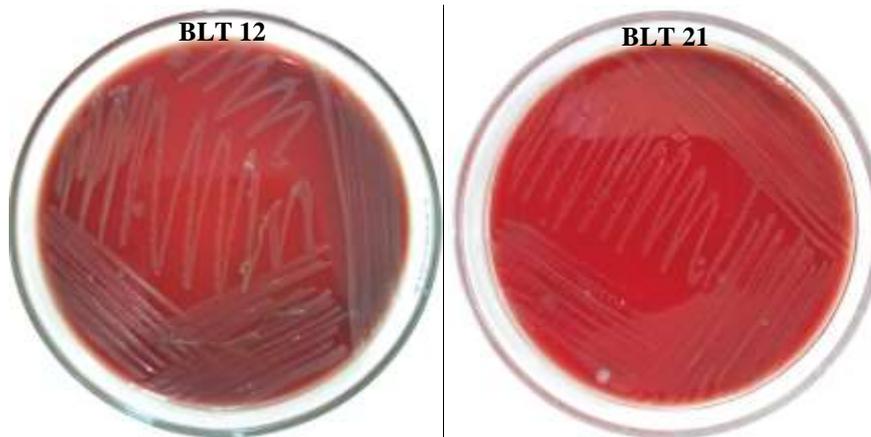
Berdasarkan uji proteolitik dan uji pektinolitik diperoleh dua isolat potensial yaitu BLT 12 dan BLT 21 sebagai agens biofertilizer yang selanjutnya dilakukan uji hemolisis dan pewarnaan gram bakteri. Berdasarkan uji pewarnaan gram bakteri menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut merupakan bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu pada struktur dinding sel bakteri (Tabel 3). Hasil pengujian hemolisis pada media *Blood Agar* menunjukkan bahwa kedua isolat potensial yaitu BLT 12 dan BLT 21 tidak menunjukkan kemampuan dalam melisiskan darah pada media uji (Gambar 5).

Tabel 3. Hasil uji pewarnaan dan hemolisis

Kode Isolat	Pewarnaan	Uji Hemolisis
BLT 12	Basil Gram Positif	Negatif
BLT 21	Basil Gram Positif	Negatif

Hemolisin merupakan toksin yang dikeluarkan oleh bakteri dengan membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni (Rahmi *et al.* 2015). Aktivitas hemolisin suatu bakteri memiliki hubungan korelasi terhadap pembentukan faktor virulensi

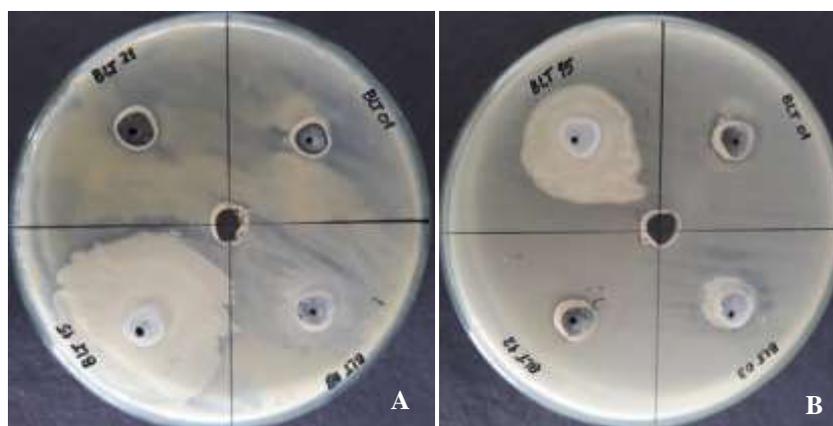
bakteri tersebut (Boriollo *et al.* 2017). Hal ini berhubungan dengan bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik juga memiliki peranan dalam faktor virulensinya (Monod, 2008). Protease memainkan peran penting dalam berbagai proses patologis (Vermelho *et al.* 1996), sehingga pengujian ini dilakukan untuk seleksi awal terhadap tingkat patogenitas bakteri proteolitik terhadap manusia dan hewan. Tahapan ini merupakan langkah awal dalam proses pembuatan produk biofertilizer yang akan diaplikasikan ke lapangan agar dapat mengelompokkan bakteri yang digunakan merupakan bakteri non patogen.



Gambar 5. Uji hemolisis isolat BLT 12 dan BLT 21 pada media *Blood Agar* selama 24 jam.

Uji Antagonisme Antar Isolat Potensial

Dua isolat proteolitik potensial diujikan kemampuan antagonisme antar isolat. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kedua isolat dapat bersinergi dengan baik. Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak adanya sifat antagonisme antar isolat yang diindikasikan dengan tidak adanya zona penghambatan diantara isolat bakteri yang diujikan (Gambar 6).



Gambar 6. Uji antagonisme antar isolat (A) BLT 12 dan (B) BLT 21 pada media *Muller Hinton Agar* selama 24 jam

Uji sinergisme atau kompatibel dilakukan untuk mengetahui bakteri yang digunakan sebagai agen biokontrol dapat digunakan secara tunggal atau

konsorsium dan tidak saling menekan satu sama lain (Suryanto *et al.* 2014). Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari kedua bakteri potensial atau lebih yang akan dijadikan sebagai agen biofertilizer atau diinokulasikan ke tanaman target merupakan faktor yang penting agar bakteri yang diaplikasikan dapat hidup dengan baik.

Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: (1) salah satu dari genus bakteri mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh bakteri lainnya, (2) Genus bakteri yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada produk bahan organik yang telah didegradasi oleh genus bakteri lainnya, (3) Genus bakteri mampu melindungi genus bakteri lainnya yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik yaitu menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik (Deng and Wang, 2016).

Kesimpulan

Bakteri proteolitik yang telah berhasil dari limbah cair tahu sebanyak 28 isolat bakteri. Indeks proteolitik tertinggi diperoleh dari isolat BLT 12 dan BLT 21 masing-masing sebesar 3.20 dan 3.16. Kedua isolat bakteri merupakan bakteri gram positif berbentuk bacil dan tidak memiliki aktivitas hemolisis pada media *blood agar*. Dalam uji pembusukan kentang kedua isolat tersebut menunjukkan hasil negatif yang menandakan bahwa kedua jenis isolat tersebut tidak memiliki efek patogenitas dan dapat dijadikan kandidat isolat yang aman untuk diujikan ke tanaman. Kedua isolat juga tidak memiliki aktivitas antagonisme antar isolat, sehingga dalam pengujian dapat digunakan dalam bentuk isolat tunggal maupun konsorsium. Skrining dan pemanfaatan bakteri potensial yang berasal dari limbah cair tahu ini merupakan salah satu upaya penanganan limbah cair tahu terhadap dampak pencemaran lingkungan yang ditimbulkan.

Penghargaan

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kemenristekdikti atas dukungan pembiayaan penelitian ini melalui Program Hibah Penelitian Dosen Pemula kepada Muhammad Asril dengan Nomor SPPK: 007/SP2H/LT/DRPM/2018 dan kepada Institut Teknologi Sumatera.

Daftar Pustaka

- Agus, C., Faridah, E., Wulandari, D., dan Purwanto, B.H. (2014). Peran mikroba starter dalam dekomposisi kotoran ternak dan perbaikan kualitas pupuk kandang. *J. Manusia dan Lingkungan*, 21(2), 179-187.
- Andika, Z.P., dan Sulistyarsi. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik Pada Limbah Air Cucian Ayam Potong dan Cucian Ikan Sebagai Penyusun

- Modul Biologi SMA Kelas X. *Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS II*. 30 September 2017. Madiun, Indonesia, 357-367.
- Asril. (2012). Kemampuan Bakteri Tanah Dalam Menghambat Pertumbuhan *Ganoderma boninense* dan *Fusarium oxysporum* Secara *in vitro* dan Uji Penghambatan Penyakit Layu *Fusarium* Pada Benih Cabai Merah. [Skripsi]: USU, Medan.
- Asril, M., Oktaviani, I., dan Leksikowati, S. S. (2019). Isolasi Bakteri *Indigineous* dari Limbah Cair Tahu dalam Mendegradasi Protein dan Melarutkan Fosfat. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 20(1),67-72.
- Badriyah, B.I. dan T. Ardyati. (2013). Deteksi aktivitas proteolitik isolat bakteri asal ampas tahu pada substrat bekatul. *Jurnal Biotropika*, 1(3), 109-113.
- Boriollo, M. F. G., M. F. R. Netto, J. J. da Silva, C. T. dos Santos Dias and J.F. Hofling. (2017). Performance evaluation of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* genotypes and *taxa* on human and animal blood agar culture media. *Afr. J. Microbiol Res*, 11(21), 860-887.
- Deng, Y. and S.Y. Wang. (2016). Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *J. Microbiol*, 54(1), 23-30.
- Durham, D. R., Stewart, D. B., and Stellwag, E. J. (1987). Novel Alkaline and Heat Stable Serine Proteases From Alkaliphilic *Bacillus* sp. Strain GX6638. *Journal of Bacteriology*, 169(6), 2762-2768.
- Fatoni, A., Zufahair, dan Lestari, P. (2008). Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*, 10 (2), 83-88.
- Faisal, M., Maulana, F., Alam, P. N., and Daimon, H. (2014). Wastewater Characteristics From Tofu Processing Facilities in Banda Aceh. *The proceedings of The 4th Annual International Conference Syiah Kuala University (AIC Unsyiah)*, 18-21. Oktober 22-24. Banda Aceh, Indonesia,
- Hidayani, Sufardi, dan Hakim, L. (2014). Limbah Tahu Untuk Memperbaiki Sifat Kimia dan Biologi Tanah Serta Hasil Tanaman Jagung Manis (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt L.). *Jurnal Manajemen Sumberdaya Lahan*, 4(1), 572-578.
- Hutabarat, R., Puspita, F., dan Khoiri, M.A. (2014). Uji Formulasi Pupuk Organik Cair Berbahan Aktif *Bacillus* sp. Pada Pembibitan Utama Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq). *Jom Faperta*, 1(2), 1-13.
- Josephine, F.S., Ramya, V.S., Devi, N., Ganapa, S.B., Siddalingeshwara, K.G., Venugopal, N. and Vishwanatha, T. (2012). Isolation, Production and Characterization of Protease From *Bacillus* sp. Isolated From Soil Sample. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2(1), 163-168.
- Lelliot, Stead. (1987). *Methods for the Diagnosis of Bacterial Disease of Plants*. Oxford: Blackwell Sci. Publ.
- Lestari, D.A, Muchlissin, S.A., Mukaromah, A.H., Darmawati, S. dan Ethica, S.N. (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus megaterium* Irod3

- Dari Oncom Merah Pasca Fermentasi 72 jam. *Seminar Nasional Edusainstek FMIPA UNIMUS*, 31-39.
- Masnilah, R., Abadi, A. L., Astono, T.H., dan Aini, L. Q. (2013). Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame di Jember. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1), 10-14.
- Monod M. Secreted Proteases from Dermatophytes. *Mycopathologia*. 166(5-6), 285–294.
- Oviana, T., Aeny, T.N., dan Prasetyo, J. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Penyebab Penyakit Busuk Pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *J. Agrotek Tropika*, 3(2), 220-225.
- Palsaniya, P., Mishra, R., Beejawat, N., Sethi S., and Gupta, B.L. (2012). Optimization of Alkaline Protease Production From Bacteria Isolated From Soil. *J. Microbiol and Biotechnol Res*, 2(6), 858-865.
- Paskandani, R., Ustadi, dan Husni, A. (2014). Isolasi dan Pemanfaatan Bakteri Proteolitik Untuk Memperbaiki Kualitas Limbah Cair Pengolahan bandeng presto. *J. Manusia dan Lingkungan*, 21(3), 310-316.
- Pertiwiningrum, A., Anggraini, F. D., Fitriantol, N. A., and Rochijan. (2017). Isolation and Identification of Bacterial Protease Enzyme of Leather Waste. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 42(1), 33-41.
- Rahayu, F., Sudjindro dan Budi U. S., (2010). Seleksi dan Pengujian Potensi Bakteri *Indigenous* Air Rendaman Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Sebagai Bakteri Selulolitik, Pektinolitik dan Lignolitik. *Bulletin Tanaman Tembakau, Serat, & Minyak Industri*, 2(2), 81-87.
- Rahmi, Y., Darmawi, Abrar, M., Jamin, F., Fakhurrazi, and Fahrimal, Y. (2015). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Preputium dan Vagina Kuda (*Equus caballus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2), 154-158.
- Rizaldi, R., Setyantini, W. H., dan Sudarno. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik Yang Berasosiasi Dengan Lamun (*Enhalus acoroides*) di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur. *Jurnal ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 10(1), 8-14.
- Samad N. S., Amid, A., Jimat, D. N., and Shukor, N. A. (2017). Isolation and Identification of Halophilic Bacteria Producing Halotolerant Protease. *Science Heritage Journal / Galeri Warisan Sains (GWS)*, 1(1), 07-09.
- Supriadi, Nildar, I., dan Taryono. (2002). Karakterisasi *Erwinia chrysanthemi* Penyebab Penyakit Busuk Bakteri Pada Daun Lidah Buaya (*Aloe vera*). *Jurnal LITTRI (Penelitian Tanaman Industri)*, 8(2), 45-48.
- Supriyanti, T. F. M , Kadarohman, R. A., dan Munawaro, M. (2013). Liquid Waste of Tofu as an Alternatives Medium in *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* Protease Production. *Proceeding International Seminar on Mathematics, Science, and Computer Science Education*, 14-21.
- Suryanto, D., Asril, M., Munir, E. and Kardhinata, E.H. (2014). Assay of Antagonistic Bacteria of Single Isolates and Combination to Control

- Seedling-off in Chili Seed Caused by *Fusarium oxysporium*. *J. of Pure & Applied Microbiology*, 8 (Spl. Edn. 2), 645-650.
- Vázquez, S.C., Hernández, E. and Cormack, W.P.M. (2008). Extracellular Proteases From the Antarctic Marine *Pseudoalteromonas sp.* P96-47 Strain. *Rev. Argent. Microbiol*, 40, 63-71.
- Vermelho, A.B., Meirelles, M. N., Lopes, A., Petinate, S.D., Chaia, A.A., and Branguinha, M.H. (1996). Detection of Extracellular Proteases From Microorganisms on Agar Plates. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 91(6), 755–760/
- Ward, O. P., Rao, M. B., and Kulkarni, A. (2009). Proteases production. *Appli.Microbiol. Industrial*, 495-511.
- Wardani, A.K., dan Nindita, L.O. (2012). Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Hasil Isolasi dari *Whey* tahu. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(3), 149-156.