



## ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM $\beta$ -GALAKTOSIDASE BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DARI FERMENTASI BUAH SIRSAK (*Annona muricata* L.)

### ISOLATION AND ACTIVITY TEST OF $\beta$ -GALACTOSIDASE ENZYME OF LACTIC ACID BACTERIA FROM FERMENTATION OF SOURSOP FRUIT (*Annona muricata* L.)

Fitri Yuniarti\*, Wahyu Hidayati, Septi Setiawati, Khansa Nabilah

Universitas Muhammadiyah Prof DR Hamka, Jl Delima Raya II/IV Perumnas Klender, Jakarta Timur.13460

\*Corresponding author: [fitriyuniarti42@yahoo.com](mailto:fitriyuniarti42@yahoo.com)

Naskah Diterima: 3 Mei 2020; Direvisi: 13 September 2020; Disetujui: 7 April 2021

#### Abstrak

Enzim  $\beta$ -galaktosidase yang berasal dari bakteri asam laktat memiliki kemampuan dalam mengatasi masalah pencernaan pada penderita intoleransi laktosa. Buah sirsak (*Annona muricata* L.) adalah salah satu sumber isolat BAL. Kandungan glukosa pada buah sirsak hasil fermentasi berguna untuk pertumbuhan BAL. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan BAL yang mengandung enzim  $\beta$ -galaktosidase yang berasal dari buah sirsak hasil fermentasi. Kemampuan enzim  $\beta$ -galaktosidase dalam menghidrolisis laktosa menjadi monosakarida digunakan sebagai acuan dalam pengukuran aktivitas enzim. Tahap awal dari penelitian ini adalah mengisolasi BAL dari buah sirsak yang difermentasi, selanjutnya dilakukan identifikasi BAL baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Spektrofotometer Visible dengan substrat *o*-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) digunakan dalam pengukuran aktivitas enzim dari isolat BAL terpilih. Kadar protein ditentukan dengan menggunakan metode Bradford. Pada penelitian ini didapatkan enam isolat BAL yang mencirikan morfologi terbaik. Isolat SM6 memiliki aktivitas enzim tertinggi yaitu 0,292 U/mL dan kadar protein 0,8092 mg/mL. Berdasarkan hal tersebut, disimpulkan fermentasi buah sirsak menjadi sumber potensial penghasil BAL yang mengandung enzim  $\beta$ -galaktosidase. Dari hasil penelitian diharapkan isolat BAL penghasil enzim  $\beta$ -galaktosidase yang berasal dari fermentasi buah sirsak dapat dijadikan sumber alternatif alami dalam mengatasi masalah kesehatan terutama pada penderita intoleransi laktosa.

**Kata kunci:** Enzim  $\beta$ -galaktosidase, Fermentasi, Bakteri asam laktat, Buah sirsak (*Annona muricata* L.)

#### Abstract

$\beta$ -galactosidase enzyme derived from lactic acid bacteria has the ability to overcome digestive problems in people with lactose intolerance. Soursop fruit (*Annona muricata* L.) is a source of LAB isolates. Glucose content in fermented soursop fruit is useful for the growth of LAB. The purpose of this study was to obtain LAB containing the enzyme  $\beta$ -galactosidase derived from fermented soursop fruit. The ability of  $\beta$ -galactosidase enzyme to hydrolyze lactose into monosaccharides is used as a reference in measuring enzyme activity. The initial stage of this research was to isolate LAB from fermented soursop fruit, then identify LAB both macroscopically and microscopically. A visible spectrophotometer with *o*-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) as substrate was used to measure the enzyme activity of selected LAB isolates. Protein content was determined using the Bradford method. In this study, six LAB isolates were found that characterized the best morphology. SM6 isolate had the highest enzyme activity of 0.292 U/mL and protein content of 0.8092 mg/mL. Based on this, it is concluded that soursop fruit fermentation is a potential source of LAB production containing the  $\beta$ -galactosidase enzyme. From the results of the study, it is hoped that LAB isolates that produce the enzyme  $\beta$ -galactosidase derived from soursop fruit fermentation can be used as a natural alternative source in overcoming health problems, especially in people with lactose intolerance.

**Keywords:**  $\beta$ -galactosidase enzyme, Fermentation, Lactic acid bacteria, Soursop fruit (*Annona muricata* L.).

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v15i1.15523>

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil komoditas pertanian terbesar di dunia salah satunya adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Tingginya kandungan karbohidrat terutama gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) yang terkandung dalam buah sirsak menjadi sumber karbon utama bagi kehidupan mikroorganisme, terutama pada proses fermentasi. Gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) merupakan salah satu jenis karbohidrat pada buah sirsak, yang menjadi sumber karbon utama bagi mikroorganisme selama proses fermentasi. Berdasarkan hal tersebut, buah sirsak hasil fermentasi berpotensi sebagai sumber untuk mendapatkan isolat bakteri asam laktat (BAL) (Diniyah et al., 2013).

Sekresi asam laktat sebagai produk akhir fermentasi merupakan salah satu aktivitas yang dilakukan oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) yang termasuk golongan bakteri gram positif (Schnurer & Magnusson, 2005). Selama proses fermentasi asam laktat aktivitas BAL akan menyebabkan perubahan glukosa menjadi asam laktat, hal ini menyebabkan pH menurun dan sekaligus dapat meningkatkan jumlah BAL (Buckle et al., 1985). Banyak enzim yang dihasilkan oleh BAL ini, diantaranya  $\beta$ -galaktosidase dan laktat dehidrogenase (Surono, 2004), dimana enzim  $\beta$ -galaktosidase dapat menguraikan laktosa menjadi glukosa dan galaktosa dengan cara memutus ikatan  $\beta$ -galaktosida pada ujung nonreduksi  $\beta$ -D galaktosa.

Secara alamiah enzim  $\beta$ -galaktosidase (laktase) terdapat pada usus halus manusia (Campbell et al., 2005). Kerusakan lapisan usus disaat kadar  $\beta$ -galaktosidase normal dapat menyebabkan kekurangan laktase pada manusia, infeksi virus atau bakteri merupakan penyebab dari hal ini bisa terjadi. Alergi atau autoimun, kemoterapi, dan penurunan  $\beta$ -galaktosidase yang terkait dengan penuaan, merupakan faktor lainnya yang juga dapat menyebabkan kekurangan laktase (Sinuhaji, 2006).

Masalah intoleransi terhadap laktosa pada manusia yang mengalami kekurangan laktase dapat diatasi dengan menggunakan enzim  $\beta$ -galaktosidase ini dalam proses hidrolisis susu laktosa. Karena kandungan enzim  $\beta$ -galaktosidase yang rendah pada manusia, dapat mengakibatkan intoleransi laktosa yang merupakan ketidakmampuan menguraikan laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Agar laktosa mudah diserap maka harus dihidrolisis terlebih dahulu oleh laktase ( $\beta$ -galaktosidase) menjadi monosakarida. Ketidakmampuan dalam menguraikan laktosa oleh  $\beta$ -galaktosidase, berdampak pada munculnya gejala sakit perut, diare, mulas, pengeluaran gas, dan kejang perut (Winarno, 1999). Mengonsumsi suplemen  $\beta$ -galaktosidase atau susu rendah laktosa dapat menjadi solusi dalam mengurangi masalah tersebut. Jumlah penderita intoleransi laktosa yang meningkat saat ini, mengakibatkan pentingnya dilakukan penelitian lebih lanjut dan penemuan sumber-sumber baru di alam yang dapat menghasilkan enzim  $\beta$ -galaktosidase dan nantinya bisa dijadikan suplemen atau produk kesehatan bagi penderita intoleransi laktosa.

Mikroorganisme, tanaman, dan hewan merupakan beberapa sumber dari enzim  $\beta$ -galaktosidase. Kelompok *Kluyveromyces* sp. (ragi) dan kelompok *Aspergillus* sp. (fungi) juga dapat menghasilkan enzim ini (Harti, 2012). Enzim yang diisolasi dari mikroorganisme lebih mudah dipisahkan dan dimurnikan setelah disekresikan ke dalam media pertumbuhan mikroorganisme, dibandingkan enzim yang diisolasi dari sumber tanaman dan hewan (Radji, 2009). Publikasi mengenai isolasi BAL yang berasal dari fermentasi buah-buahan dan sayuran telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah bakteri asam laktat yang diisolasi dari fermentasi buah sirsak (*Annona muricata* L.) serta penentuan aktivitas antimikrobanya (Yulia, 2014) dengan 7 isolat BAL yang berhasil diisolasi. BAL berpotensi menghasilkan enzim  $\beta$ -galaktosidase yang diisolasi dari fermentasi buah sirsak (*Annona muricata* L.) belum pernah dilakukan. Sehingga penelitian lanjutan mengenai BAL dari fermentasi buah sirsak (*Annona muricata* L.) penghasil enzim  $\beta$ -galaktosidase perlu dilakukan, karena banyaknya manfaat enzim ini terhadap kesehatan. BAL yang berhasil diisolasi diharapkan mampu menjadi sumber baru penghasil enzim  $\beta$ -galaktosidase dan dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan, utamanya oleh penderita intoleransi laktosa. Dampak positif di bidang industri dan kesehatan dari buah sirsak hasil fermentasi yaitu dapat menghasilkan buah sirsak probiotik yang baik bagi usus pengkonsumsinya.

## MATERIAL DAN METODE

### Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Buah Sirsak

Pada penelitian ini sampel utamanya adalah buah sirsak lokal (*Annona muricata* L.) dan sudah matang yang di beli dari Pasar Klender. Tahap awal isolasi yaitu melakukan fermentasi buah sirsak dengan cara membungkus daging buah sirsak dengan daun pisang yang sudah disterilkan, lalu dimasukkan ke dalam wadah fermentasi dalam kondisi anaerob. Proses fermentasi dilakukan selama 3 hari pada suhu 25 °C, metode ini sesuai dengan yang dilakukan oleh Sari et al. (2013). Isolasi BAL diperoleh dengan mengisolasi koloni tunggal BAL yang tumbuh pada media MRS agar yang telah diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C, isolat tersebut diperoleh dari hasil pengenceran  $10^{-9}$  produk fermentasi yang sudah melalui proses pengkayaan (*enrich*). Proses *enrich* dilakukan, selama 24 jam suhu 37 °C pada media MRSB. Pemurnian koloni dilakukan dengan memilih koloni tunggal (*single colony*) BAL, yang dicirikan dengan koloni berwarna putih, bulat, dan licin yang kemudian ditanam dengan metode *streak* ke media MRS agar baru. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Sari et al., 2013).

### Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Karakterisasi bakteri asam laktat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis, yaitu identifikasi secara morfologi dan pewarnaan Gram.

### Produksi Enzim $\beta$ -galaktosidase

Biakan BAL dari MRSA *slant* sebanyak 1 ose dipindahkan ke dalam media produksi yang steril (MRSB dengan laktosa 1% dan pH medium 8). Lalu diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37 °C. Sentrifugasi dilakukan dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C yang bertujuan untuk panen sel. Bufer fosfat 0,1 M pH 7 digunakan untuk pencucian pelet yang dilakukan sebanyak 2 kali. Sonikator digunakan untuk pemecahan sel pada suhu 4 °C selama 5 menit. Dilakukan sentrifugasi pada suspensi sel dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Enzim  $\beta$ -galaktosidase kasar merupakan supernatan yang dihasilkan (Fazriyani, 2015).

### Uji Aktivitas Enzim $\beta$ -Galaktosidase

Metode Lu et al. (2009), digunakan dalam pengujian aktivitas  $\beta$ -galaktosidase. Sebanyak 1.000  $\mu$ L bufer fosfat 0,1 M pH 7 dan 100  $\mu$ L enzim direaksikan dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Kemudian 200  $\mu$ L o-nitrofenil- $\beta$ -D-galaktopiranosida (oNPGal) 4 mg/mL ditambahkan dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Pada menit ke-15 dilakukan penambahan 1.000  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 M. Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 420 nm digunakan untuk melakukan analisis terhadap larutan yang dihasilkan (Lu et al., 2009).

### Penentuan Kadar Protein

Metode Bradford digunakan untuk penentuan kadar protein. Enam isolat bakteri asam laktat dan bakteri pembanding dilakukan uji kadar protein secara triplo. Sebanyak 1 mL larutan Bradford ditambahkan ke dalam 20  $\mu$ L enzim  $\beta$ -galaktosidase. Kemudian larutan diaduk sampai homogen dan didiamkan selama 5 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 595 nm. Selanjutnya dilakukan pengkonversian absorbansi yang diperoleh terhadap persamaan garis dari kurva standar BSA, sehingga didapatkan kadar protein dari enzim  $\beta$ -galaktosidase (Fazriyani, 2015).

## HASIL

### Fermentasi Buah Sirsak

Hasil fermentasi 72 jam menghasilkan perubahan pH dari pH 5 sebelum fermentasi menjadi pH 4 setelah fermentasi. Proses fermentasi juga memberikan perubahan warna buah sirsak dari

putih bersih menjadi putih keruh dan bau asam khas fermentasi dengan rasa lebih asam dibandingkan sebelum fermentasi.

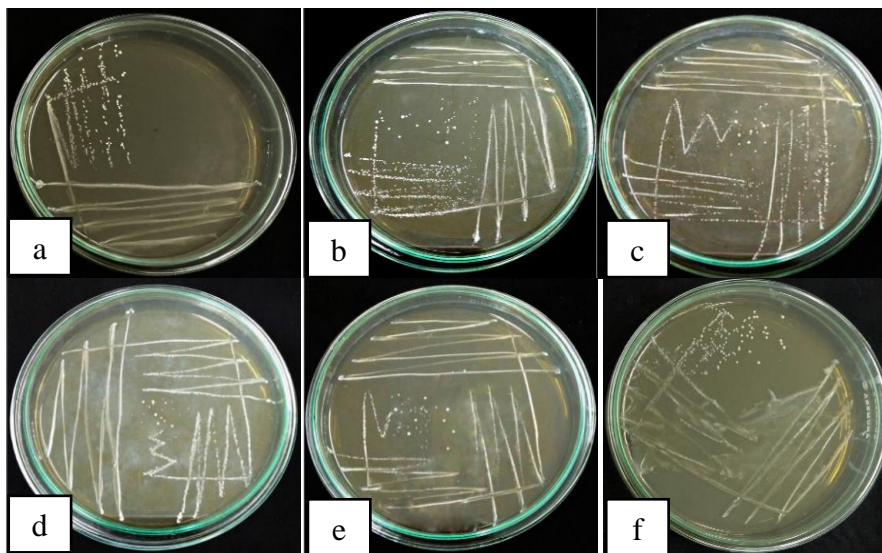
### Isolasi Bakteri Asam Laktat

Hasil isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) mendapatkan kultur murni isolat BAL. Hasil isolasi BAL dengan pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-9}$  diperoleh jumlah koloni tunggal seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Pada tabel terlihat jumlah koloni tunggal BAL diperoleh dari hasil pengenceran buah sirsak terfermentasi dengan pengenceran  $10^{-7}$ – $10^{-9}$ . Jumlah koloni tunggal BAL tertinggi ditemukan pada pengenceran  $10^{-7}$ , yaitu 52 koloni dengan total koloni sebanyak 59 koloni.

Penelitian ini tidak mengisolasi semua koloni tunggal. Koloni tunggal yang dipilih berdasarkan morfologi yang memiliki ciri koloni BAL terbaik, yaitu koloni yang berbentuk licin, bulat, berwarna putih susu, dan cembung. Jumlah isolat yang dipilih disajikan pada Tabel 1. Selanjutnya, isolat BAL ini dimurnikan dan disimpan sebagai kultur stok dalam medium MRS Agar *slant* pada tabung reaksi. Pemberian kode kultur stok dibuat berdasarkan asal pengenceran isolat, yaitu kode SM1 untuk kultur stok dari isolat dengan pengenceran  $10^{-7}$ , kode SM2, SM3, dan SM4 untuk kultur stok yang berasal dari isolat pengenceran  $10^{-8}$  dan kode SM5 dan SM6 untuk kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-9}$ . Kultur stok BAL disimpan untuk pengujian selanjutnya. Hasil pemurnian isolat BAL disajikan pada Gambar 1.

**Tabel 1.** Hasil isolasi bakteri asam laktat pada fermentasi buah sirsak pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ , dan  $10^{-9}$

Pengenceran ke-	Jumlah koloni tunggal	Jumlah koloni tunggal yang diambil
$10^{-7}$	52	1
$10^{-8}$	5	3
$10^{-9}$	2	2



**Gambar 1.** Hasil pemurnian bakteri asam laktat dari pengenceran  $10^{-7}$ = SM1 (a);  $10^{-8}$ = SM2 (b), SM3 (c), SM4 (d);  $10^{-9}$ = SM5 (e) dan SM6 (f) pada media MRS yang diinkubasi selama 2 hari

### Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL)

Isolat BAL hasil isolasi dari buah sirsak yang difermentasi memiliki karakteristik makroskopik dan mikroskopik, secara umum mencirikan bentuk yang sama untuk bakteri asam laktat (Tabel 2). Secara makroskopik hasil identifikasi menunjukkan bahwa koloni isolat berwarna putih susu dengan bentuk koloni bulat dan tepian koloni yang licin serta elevasi cembung. Sementara hasil identifikasi mikroskopik menggunakan pewarnaan Gram, menunjukkan bahwa semua isolat adalah bakteri Gram positif dengan sel bakteri berwarna ungu. Bentuk semua sel isolat adalah berbentuk basil (Tabel 2).

### Produksi Enzim $\beta$ -Galaktosidase

Bakteri asam laktat merupakan enzim intraseluler, sehingga pada proses produksi enzim diawali dengan pemecahan dinding sel dengan metode sonikasi. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memperoleh enzim kasar dengan mengambil bagian supernatannya.

### Uji Aktivitas Enzim $\beta$ -galaktosidase

Kurva standar ONP digunakan untuk penentuan aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase. Rentang nilai konsentrasi adalah 0–2,5 mM dengan tujuan menentukan kadar enzim  $\beta$ -galaktosidase pada isolat bakteri asam laktat yang akan diuji. Dari hasil pengujian, nilai aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase yang didapat dari isolat bakteri asam laktat lebih kecil dibandingkan aktivitas bakteri pembanding yaitu 0,776 U/mL. Isolat SM6 (0,292 U/mL) menghasilkan nilai aktivitas tertinggi enzim  $\beta$ -galaktosidase, sedangkan isolat SM3 (0,232 U/mL) menghasilkan nilai aktivitas terendah enzim  $\beta$ -galaktosidase. *Lactobacillus plantarum* digunakan sebagai bakteri pembanding dalam penelitian ini.

**Tabel 2.** Hasil karakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari fermentasi buah sirsak

Kode isolat	Warna	Bentuk	Tepian	Elevasi	Jenis bakteri	Bentuk sel
SM1	Putih susu	Bulat	Licin dan mengkilat	Cembung	Gram positif	Basil
SM2	Putih susu	Bulat	Licin dan mengkilat	Cembung	Gram positif	Basil
SM3	Putih susu	Bulat	Licin dan mengkilat	Cembung	Gram positif	Basil
SM4	Putih susu	Bulat	Licin dan mengkilat	Cembung	Gram positif	Basil
SM5	Putih susu	Bulat	Licin dan mengkilat	Cembung	Gram positif	Basil
SM6	Putih susu	Bulat	Licin dan mengkilat	Cembung	Gram positif	Basil

Keterangan: SM1= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-7}$ ;

SM2, SM3, dan SM4= kultur stok yang berasal dari isolat dari pengenceran  $10^{-8}$ ; SM5 dan SM6= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-9}$

**Tabel 3.** Hasil produksi enzim  $\beta$ -galaktosidase dari isolat BAL dan bakteri *Lactobacillus plantarum*

Kode isolat	Volume enzim $\beta$ -galaktosidase (mL)			
	1	2	3	Rerata
SM1	4,80	4,80	4,80	4,80
SM2	4,90	4,70	4,80	4,80
SM3	4,70	4,70	4,90	4,76
SM4	4,70	4,80	4,70	4,73
SM5	4,80	4,80	4,80	4,80
SM6	4,80	4,80	4,70	4,76
<i>Lactobacillus plantarum</i>	4,70	4,70	4,70	4,70

Keterangan: SM1= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-7}$ ;

SM2, SM3, dan SM4= kultur stok yang berasal dari isolat dari pengenceran  $10^{-8}$ ; SM5 dan SM6= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-9}$

**Tabel 4.** Rerata aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase isolat bakteri asam laktat buah sirsak dan bakteri *Lactobacillus plantarum*

Kode isolat	Rerata aktivitas enzim (U/mL)
SM1	0,256 $\pm$ 0,0038
SM2	0,234 $\pm$ 0,0030
SM3	0,232 $\pm$ 0,0031
SM4	0,259 $\pm$ 0,0015
SM5	0,286 $\pm$ 0,0015
SM6	0,292 $\pm$ 0,0021
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,776 $\pm$ 0,0036

Keterangan: SM1= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-7}$ ;  
SM2, SM3, dan SM4= kultur stok yang berasal dari isolat dari pengenceran  $10^{-8}$ ; SM5  
dan SM6= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-9}$

**Tabel 5.** Rerata kadar protein enzim  $\beta$ -galaktosidase isolat bakteri asam laktat fermentasi buah sirsak dan bakteri *Lactobacillus plantarum*

Kode isolat	Rerata kadar protein (mg/mL)
SM1	$0,7197 \pm 0,0104$
SM2	$0,6807 \pm 0,0063$
SM3	$0,6690 \pm 0,0043$
SM4	$0,7457 \pm 0,0035$
SM5	$0,7895 \pm 0,0049$
SM6	$0,8092 \pm 0,0035$
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$1,8922 \pm 0,0073$

Keterangan: SM1= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-7}$ ; SM2, SM3, dan SM4= kultur stok yang berasal dari isolat dari pengenceran  $10^{-8}$ ; SM5 dan SM6= kultur stok yang berasal dari isolat dengan pengenceran  $10^{-9}$

### Uji Kadar Protein Enzim $\beta$ -Galaktosidase

Isolat bakteri SM6 menunjukkan konsentrasi protein tertinggi dengan nilai rata-rata kadar protein yaitu 0,8092 mg/mL, sementara isolat bakteri SM3 menunjukkan nilai kadar protein paling rendah yaitu 0,6690 mg/mL. Nilai kadar protein keenam isolat lebih rendah apabila dibandingkan dengan kadar protein *L. plantarum* (Tabel 5).

## PEMBAHASAN

Keuntungan dari fermentasi pada penelitian ini salah satunya, yaitu terjadinya peningkatan jumlah dari bakteri asam laktat yang dihasilkan. Peningkatan jumlah bakteri asam laktat ini salah satu faktor penyebabnya karena kandungan nutrisi yang terdapat dalam buah sirsak terutama senyawa karbohidrat, merupakan nutrisi yang bagus untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Asam asetat, asam laktat, asam propionat, dan etil alkohol, merupakan senyawa-senyawa sederhana yang dihasilkan dari penguraian karbohidrat pada saat fermentasi (Sari et al., 2013). dilakukan pengenceran bertingkat untuk mengawali proses isolasi bakteri asam laktat. Pengenceran bertingkat ini dilakukan untuk memperkecil jumlah bakteri yang tersuspensi dalam larutan sehingga bakteri yang akan ditanam kepadatannya akan berkurang. *Peptone water* digunakan sebagai larutan pengenceran yang berfungsi sebagai sumber vitamin, nitrogen, dan karbon bagi bakteri asam laktat dalam pertumbuhan dan perkembangannya untuk menghasilkan enzim yang diinginkan (Prihantini et al., 2013). Hasil dari pengenceran yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1.

MRSB yang telah ditambahkan laktosa 1% digunakan sebagai medium pada proses produksi enzim  $\beta$ -galaktosidase ini. Laktosa yang ditambahkan merupakan sumber karbon, energi, dan inducer enzim  $\beta$ -galaktosidase (Kilara & Shahani, 1976). Menurut Prihantini et al. (2013), inkubasi selama 24 jam pada proses produksi merupakan waktu terbaik dalam menghasilkan enzim  $\beta$ -galaktosidase. Hal ini disebabkan karena terjadinya pembelahan sel dengan laju yang konstan, pada laju yang sama jumlah masa yang dihasilkan menjadi dua kali lipat, aktivitas metabolit konstan dan dapat menghasilkan enzim untuk pertumbuhan (Pelczar & Chan, 1986). Untuk mendapatkan enzim  $\beta$ -galaktosidase pada bakteri asam laktat ini perlu dilakukan pemecahan dinding sel terlebih dahulu sebelum diisolasi, karena enzim ini termasuk enzim intraseluler (Huang et al., 1995). Metode sonikasi digunakan dalam melakukan pemecahan dinding sel, metode ini merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan untuk gangguan dinding sel bakteri dan telah terbukti efektif dalam memisahkan enzim  $\beta$ -galaktosidase (Toba et al., 1990).

*O-Nitrophenyl- $\beta$ -D-Galactoside* (ONPG) merupakan substrat kromogenik yang digunakan untuk pengujian aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase. Berdasarkan hasil uji, nilai aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase paling tinggi pada isolat SM6 (0,292 U/mL) sedangkan nilai aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase terendah adalah SM3 (0,232 U/mL). Hasil aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase yang

berbeda pada setiap isolat, dapat dipengaruhi oleh perbedaan jenis dan spesies bakteri yang merupakan sumber enzim  $\beta$ -galaktosidase. Telah dilaporkan bahwa perbedaan jenis dan spesies bakteri penghasil  $\beta$ -galaktosidase dapat mengakibatkan perbedaan aktivitas  $\beta$ -galaktosidase yang dihasilkan (Hsu et al., 2005; Lu et al., 2009).

Zat warna *Coomassie Brilliant Blue* (CBBG) G250 digunakan dalam pengujian Bradford. Pewarna ini apabila mengikat protein dalam larutan yang bersifat asam, maka akan menyebabkan warna larutan berubah menjadi warna (kebiruan) pada pengukuran panjang gelombang 595 nm. Dengan adanya gaya van der Waals, maka dapat terjadi ikatan antara zat warna CBBG dan protein. Gaya ini terjadi karena adanya bagian hidrofobik protein mengikat bagian non polar dari zat warna CBBG, sehingga menyebabkan terjadinya pelepasan elektron dari bagian non polar zat warna ke bagian hidrofobik protein (Bradford, 1976). Larutan yang diberi reagen Bradford akan menghasilkan kompleks warna biru dengan cepat dan memiliki sifat yang lebih stabil. Kestabilan ini disebabkan karena adanya kekuatan ionik yang memperkuat ikatan antara protein dan zat warna tersebut. Reagen Bradford akan bereaksi dengan asam-asam amino yang mungkin terdapat di dalam ekstrak enzim  $\beta$ -galaktosidase diantaranya dengan residu arginin, triptofan, histidin, lisin, fenilalanin, dan residu tirosin (Bintang, 2010). Dari hasil uji kadar protein enzim  $\beta$ -galaktosidase, nilai kadar protein enzim ke-6 isolat lebih rendah dibandingkan dengan kadar protein *L. plantarum* (Tabel 5). Hal ini karena tingginya produksi enzim  $\beta$ -galaktosidase pada *L. plantarum*. Telah dilaporkan bahwa *L. plantarum* merupakan BAL terbaik dalam menghasilkan enzim  $\beta$ -galaktosidase dibandingkan BAL lainnya (Khusniati et al., 2013).

Dari hasil uji pada penelitian ini, diperoleh 6 isolat bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan enzim  $\beta$ -galaktosidase. Hal ini dapat disimpulkan bahwa enzim  $\beta$ -galaktosidase dapat dihasilkan secara alami dari bakteri asam laktat yang berasal dari fermentasi buah sirsak, dan nantinya dapat dimanfaatkan dalam dunia kesehatan terutama penderita intoleransi laktosa.

## SIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah enzim  $\beta$ -galaktosidase dapat diisolasi dari bakteri asam laktat yang berasal dari fermentasi buah sirsak. Dari 6 isolat bakteri asam laktat yang didapatkan, semuanya mampu memproduksi enzim  $\beta$ -galaktosidase. Aktivitas paling tinggi adalah 0,292 U/mL dengan kadar protein 0,8092 mg/mL dihasilkan oleh isolat SM6. Pada penelitian selanjutnya, perlu dilakukan pemurnian enzim untuk mendapatkan aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase yang lebih tinggi. Selain itu, uji lanjutan mengenai kondisi optimum juga perlu dilakukan untuk produksi enzim  $\beta$ -galaktosidase lebih maksimal.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengembangan UHAMKA Tahun Anggaran 2019–2020 yang sudah membiayai penelitian ini.

## REFERENSI

- Bintang, M. (2010). *Biokimia teknik penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing a principle of protein-dye binding. *Journal Analytical Biochemistry*, 1(72), 248-254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., & Wootton, M. (1985). *Ilmu pangan* (H. Purnomo, & Adiono, Terjemahan). Jakarta: Food Science.
- Campbell, A. K., Waud, J. P., & Matthews, S. B. (2005). The molecular basis of lactose intolerance. *Journal Science Progress*, 88(3), 157-202. doi: 10.3184/003685005783238408.
- Diniyah, N., Subagio, A., & Fauzi, M., (2013). Produksi minuman fungsional sirsak (*Annona muricata* L.) dengan fermentasi bakteri asam laktat. *Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember*, 7(2), 1007-1012.
- Fazriyani, R. (2015). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat penghasil enzim  $\beta$ -galaktosidase dari buah durian (Skripsi sarjana). Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka, Jakarta, Indonesia.

- Harti, A. S. (2012). *Dasar-dasar mikrobiologi kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Huang, D. Q., Prevost, H., & Divies, C. (1995). Principal characteristics of  $\beta$ -galactosidase from *Leuconostoc* spp. *Journal International Dairy*, 1(5), 29-43. doi: 10.1016/0958-6946(94)P1597-7.
- Hsu, C. A., Yu, R. C., & Chou, C. C. (2005). Production of  $\beta$ -galactosidase by *Bifidobacteria* as influenced by various culture conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 104(2), 197-206. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.02.010.
- Kilara, A., & Shahani, K. M. (1976). Lactase activity of cultured and acidified dairy products. *Journal Dairy Science*, 59(12), 2031-2035. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(76)84484-0.
- Khusniati, T., Aditya, A. T., Choliq, A., Sulistiani. (2013). Characterization and identification of the best screened indigenous lactic acid bacteria producing  $\beta$ -galactosidase. *Handbook of The 3rd International Conference on Biological Science*. 439-445. doi: 10.18502/kl.v2i1.189.
- Lu, L. L., Xiao, M., Li, Z. Y., Li, Y. M., & Wang, F. S. (2009). A novel transglycosylating  $\beta$ -galactosidase from *Lactobacillus* indigen B5. *Process Biochemistry*, 2(44), 232-236. doi: 10.1016/j.procbio.2008.10.010.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1986). *Dasar-dasar mikrobiologi* (R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo, & S. L. Angka, Terjemahan). UI Press, Jakarta. Elements of Microbiology.
- Prihantini, N. N., Khusniati, T., Bintang, M., Choliq, A., & Sulistiani. (2013). Purifikasi parsial dan karakterisasi  $\beta$ -galaktosidase dari *Lactobacillus plantarum* strain D-210. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 21(1), 014-026. doi: 10.33476/jky.v21i1.
- Radji, M. (2009). *Buku ajar mikrobiologi: Panduan mahasiswa farmasi dan kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Sari, Y. N. M., Syukur, S., & Jamsari. (2013). Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi DNA bakteri asam laktat (BAL) yang berpotensi sebagai antimikroba dari fermentasi markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*). *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Andalas*, 2(84).
- Schnurer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Journal Trends Food Science and technology*, 16(1), 70-78. doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.014.
- Sinuhaji, A. B. (2006). Intoleransi laktosa. *Majalah Kedokteran Nusantara*, 39(4), 424-429.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik: Susu fermentasi dan kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya.
- Toba, T., Hayasaka, I., Taguchi, S., Adachi, S. (1990). A new method for manufacture of lactose-hydrolysed fermented milk. *Journal of Science Food Agriculture*, 52(3), 403-407. doi:10.1002/JSFA.2740520313.
- Yulia, F. (2014). Isolasi bakteri asam laktat dari fermentasi buah sirsak (*Annona muricata* L.) dan penentuan aktivitas antimikrobanya (Skripsi sarjana). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Indonesia.
- Winarno, F. G. (1999). *Enzim pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.