

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BAKTERI
SIMBION USUS LARVA KUMBANG TANDUK (*Oryctes rhinoceros* L.)
SERTA APLIKASINYA DALAM MENGHIDROLISIS PATI UMBI TALAS
(*Colocasia esculenta* (L.) Schott) MENJADI MALTODEKSTRIN**

ISOLATION AND CHARACTERIZATION THE AMYLASE ENZYMES
FROM LARVA SYMBIONE OF THE GUT LONG-HORNED BEETLES
(*Oryctes rhinoceros* L.) AND APPLICATION IN HYDROLYSIS TARO
STARCH (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) TO MALTODEXTRIN

**SAHRANI U
H012202005**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BAKTERI
SIMBION USUS LARVA KUMBANG TANDUK (*Oryctes rhinoceros* L.)
SERTA APLIKASINYA DALAM MENGHIDROLISIS PATI UMBI TALAS
(*Colocasia esculenta* (L.) Schott) MENJADI MALTODEKSTRIN**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

SAHRANI U

H012202005

Kepada

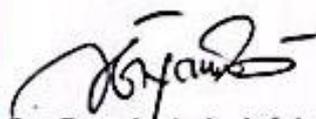
**PROGRAM MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

TESIS

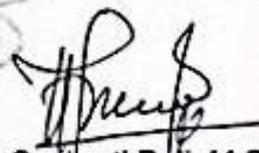
**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BAKTERI
SIMBION USUS LARVA KUMBANG TANDUK (*Oryctes rhinoceros*
L.) SERTA APLIKASINYA DALAM MENGHIDROLISIS PATI UMBI
TALAS (*Colocasia esculenta* (L). Schott) MENJADI
MALTODEKSTRIN**

SAHRANI U**NIM: H012202005**

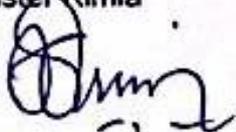
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Kimia Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
pada tanggal 14 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui**Pembimbing Utama**

Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si
NIP. 196112311987022002

Pembimbing Pendamping

Dr. Seniwati Dali, M.Si
NIP. 196812311988032003

**Ketua Program Studi
Magister Kimia**

Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 196203201987112001

**Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin**

Dr. Eng. Amiruddin, M.Si
NIP. 197205151997021002

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN KELIMPAHAN HAK CIPTA**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sahrani U
Nim : H012202005
Program Studi : Kimia

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri Simbion Usus Larva Kumbang Tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) serta Aplikasinya dalam Menghidrolisis Pati Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Menjadi Maltodekstrin" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Seniwati Dali, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal Molekul sebagai aritkel dengan judul "Isolation and Phenotypic Identification of Amylolytic Bacteria from *Oryctes rhinoceros* L. Larvae Decomposing Empty Palm Oil Fruit Bunches".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 14 Agustus 2023


Sahrani
NIM: H012202005



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM AMILASE DARI BAKTERI SIMBION USUS LARVA KUMBANG TANDUK (*Oryctes rhinoceros* L.) SERTA APLIKASINYA DALAM MENGHIDROLISIS PATI UMBI TALAS (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) MENJADI MALTODEKSTRIN”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains. Shalawat dan salam kepada Nabi besar Muhammad S.A.W.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu dalam proses penyelesaian tesis ini, terutama kepada ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si.** selaku penasehat utama dan ibu **Dr. Seniwati Dali, M.Si.** selaku penasehat pertama, yang menjadi orang tua di kampus dan senantiasa meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing dan memberikan arahan yang baik, terutama dalam menyelesaikan tesis ini.

Penulis juga tak lupa mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

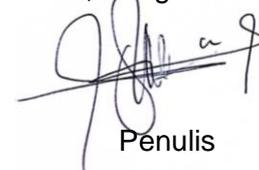
1. Bapak **Dr. Eng. Amiruddin, S.Si, M.Si.** selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta semua staf pegawai.
2. Ibu **Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si.** selaku ketua program studi S2 Ilmu Kimia Universitas Hasanuddin, beserta dosen dan staf yang telah membantu penulis dalam perjalanan menyelesaikan pendidikan ini.
3. Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, M.S.**, Bapak **Dr. Syarifuddin Liong, M.Si.**, dan Bapak **Dr. Sci. Muhammad Zakir, M.Si.**, selaku komisi penilai, terima kasih atas masukan berupa kritik dan saran yang telah diberikan demi penyempurnaan penulisan tesis.
4. Seluruh **Analisis Laboratorium** di Departemen Kimia, terkhusus untuk **Ibu Fitriani S.Si.** selaku analisis Laboratorium Biokimia UIN Alauddin Makassar, atas bantuan serta arahnya selama penelitian berlangsung. Terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.

5. Bapak Irsan dan Ibu Riski Mahira, S.Si. selaku staf Program Studi S2 Kimia yang selalu membantu dan memberikan masukannya dalam penyelesaian administrasi.
6. Rekan partner peneliti Biokimia Riskawati. Terima kasih atas semangat, penghibur dikala suka dan duka.
7. **Ketua Yayasan, Partner kerja dan Siswa di Sekolah Islam Impian dan Yayasan Smart Home** serta teman-teman **Angkatan Pascasarjana Kimia 2020-2 Genap**, terima kasih atas semangat, penghibur dikala suka dan duka.
8. Ucapan terima kasih kepada analis Laboratorium Penelitian RS Universitas Hasanuddin yang telah membimbing dan memberi arahan selama penelitian berlangsung serta semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama menyelesaikan penelitian ini, terima kasih.

Kepada kedua orang tua tercinta, ayahanda **Bapak Uto** dan Ibu **Sahorih**, atas segala do'a serta motivasi yang tidak mengenal kata lelah. Saudariku **Sahrina, Syahrini Sri Ramadhani, Syaira Tungga Dewi** serta adik tercinta alm. **Arzhaka Firendra Safwan** yang senantiasa memberi semangat, semoga Allah senantiasa meridhoi, melimpahkan rahmat-Nya berupa kasih sayang, keteguhan hati di atas agama Allah, dan kemuliaan bukan hanya di dunia tapi juga di akhirat Insya Allah.

Penulis sadar bahwa laporan tesis ini tidak sempurna dan banyak kekurangan baik materi maupun teknik penulisannya, karena sejatinya kesempurnaan hanyalah milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis berharap saran dan kritikan yang bersifat membangun dari pembaca, dan semoga dapat memberikan manfaat bagi siapa saja dalam pengembangan ilmu pengetahuan kimia khususnya bidang biokimia.

Makassar, 14 Agustus 2023



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Umbi Talas (<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott).....	6
2.2. Pati Atau Amilum.....	8
2.3. Maltodekstrin.....	11
2.4. Isolasi Mikroorganisme.....	13
2.5. Bakteri Amilolitik.....	14
2.6. Enzim Amilase.....	15
2.7. Pemurnian Enzim.....	16
2.8. Larva Kumbang Tanduk (<i>Oryctes rhinoceros</i> L.).....	20
2.9. Kerangka Pikir dan Hipotesis.....	22

BAB III METODE PENELITIAN

3.1.	Waktu Dan Tempat Penelitian	25
3.2.	Alat dan Bahan.....	25
3.2.1.	Alat Penelitian.....	25
3.2.2.	Bahan Penelitian	26
3.3.	Prosedur Kerja.....	26
3.3.1.	Pengambilan Sampel Larva Kumbang Tanduk.....	26
3.3.2.	Persiapan Substrat, Persiapan Pati Umbi Talas, Pembuatan Reagen dan Media.....	26
3.3.3.	Isolasi dan Skinning Bakteri Simbion Penghasil Enzim Amilase.....	29
3.3.4.	Isolasi Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Simbion	30
	Larva Kumbang Tanduk Terpilih (EA1, EA2, EA3, EA4 dan EA5)	
3.3.5.	Penentuan Aktivitas Enzim Amilase	31
3.3.6.	Pengukuran Kadar Protein.....	32
3.3.7.	Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Enzim Amilase Secara Makroskopik.....	33
3.3.8.	Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Amilase Secara Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram.....	32
3.3.9.	Uji Biokimia Isolat Bakteri Simbion Larva Kumbang Tanduk Terpilih (EA1, EA2, EA3, EA4, EA5).....	33
3.3.10.	Identifikasi Molekuler Bakteri Simbion Larva Kumbang Tanduk EA1 dan EA2.....	35
3.3.11.	Produksi Enzim Amilase.....	36
3.3.12.	Pemurnian Enzim Amilase.....	37
3.3.13.	Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri Simbion Larva Kumbang Tanduk.....	38
3.3.14.	Aplikasi Enzim Amilase dalam Pembuatan Maltodekstrin.....	40

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1.	Hasil Isolasi dan Skinning Bakteri Amilolitik Penghasil Amilase dari Usus Larva Kumbang Tanduk.....	44
------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

4.2.	Karakteristik Morfologi dan Biokimia Isolat Bakteri Terpilih.....	47
4.3.	Analisis Gen 16S rRNA Bakteri Amilolitik Isolat EA1 dan EA2.....	51
4.4.	Produksi dan Aktivitas Enzim Amilase.....	55
4.5.	Pemurnian Enzim Amilase.....	56
4.6.	Karakterisasi Enzim Amilase.....	56
4.7.	Aplikasi pada Pembuatan Maltodekstrin.....	68
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1.	Kesimpulan.....	72
5.2.	Saran	72
DAFTAR PUSTAKA.....		73
LAMPIRAN.....		79

DAFTAR TABEL

nomor		halaman
1.	Kandungan Kimia pada Beberapa Jenis Pati	6
2.	Karakterisasi maltodekstrin dari hidrolisis pati	12
	sagu dengan menggunakan enzim α -amilase	
3.	Indeks amilolitik dari isolat bakteri larva kumbang tanduk.....	45
4.	Aktivitas enzim amilase dan kadar protein dari kelima isolat terpilih.	46
5.	Karakter morfologi isolat bakteri terpilih.....	47
6.	Analisis homologi terbaik urutan gen 16S rRNA bakteri	53
	amilolitik dari isolat EA1 menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) NCBI	
7.	Analisis homologi urutan gen 16S rRNA terbaik bakteri	53
	amilolitik dari isolat EA2 menggunakan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) NCBI	
8.	Aktivitas spesifik enzim dari bakteri simbion larva	58
	kumbang tanduk hasil fraksinasi dengan menggunakan amonium sulfat	
9.	Karakteristik maltodekstrin pati umbi talas terhadap	65
	berbagai konsentrasi penambahan enzim amilase	
10.	Karakteristik Maltodekstrin Pati Umbi Talas Terhadap.....	67
	Pengaruh Waktu (Lama) Hidrolisis	

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Umbi Talas (<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott)	7
2. Struktur (A) Amilosa dan (B) Amilopektin	8
3. Reaksi pada Proses Likuifikasi	10
4. Reaksi Proses Sakarifikasi	11
5. Struktur Primer Protein	16
6. Struktur Sekunder Protein	17
7. Struktur Tersier Protein	17
8. Struktur Kuartener Protein	18
9. Kumbang tanduk <i>Oryctes rhinoceros</i> L.	21
10. Kerangka Pikir Penelitian	24
11. Isolat bakteri setelah ditetesi Larutan Iodium yang mengandung 2% amilum pada pH 7, suhu 37°C. Zona bening di sekitar bakteri menunjukkan degradasi amilum oleh amilase	45
12. Reaksi DNS dengan gula pereduksi pada uji aktivitas enzim amilase	46
13. Pewarnaan Gram larva kumbang tanduk menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x (a) Kode Isolat Bakteri EA1 (b) Kode Isolat Bakteri EA2 (c) Kode Isolasi Bakteri EA3 (d) Kode Isolasi Bakteri EA4 (e) Kode Isolat Bakteri EA5	48
14. Hasil Amplifikasi PCR isolat bakteri EA1 dan EA2	52
15. Konstruksi pohon filogenetik isolat bakteri EA1 dari larva kumbang tanduk	54
16. Konstruksi pohon filogenetik isolat bakteri EA2 dari larva kumbang tanduk	54
17. Aktivitas enzim amilase isolat bakteri terpilih dari larva kumbang tanduk terpilih pada pH 7, suhu 37°C dan lama dan lama waktu inkubasi 30 menit	56
18. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim amilase hasil dialisis dan ekstrak kasar dari isolat bakteri EA1 menggunakan pati 2%, suhu 37°C dan lama waktu inkubasi 30 menit	59
19. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim amilase hasil dialisis dan ekstrak kasar dari isolat bakteri EA1 menggunakan pati 2%, pH 8 dan lama waktu inkubasi 30 menit	61
20. Pengaruh konsentrasi pati terhadap aktivitas enzim	62

amilase hasil dialisis dan ekstrak kasar dari isolat bakteri
EA1 menggunakan pH larutan penyangga 8 dan suhu 65°C

21. Stabilitas enzim amilase terhadap pH optimum
(pH 7 dan pH 8) pada suhu 65°C 62
22. Stabilitas enzim amilase terhadap suhu optimum
(suhu 60°C dan suhu 65°C) pada pH 7 63
23. Produk maltodekstrin pati umbi talas pada konsentrasi
penambahan enzim 0,09% dan lama waktu hidrolisis 120 menit 67
24. Mekanisme reaksi hidrolisis amilase terhadap substrat pati 70

DAFTAR ARTI SINGKATAN

SIMBOL/SINGKATAN	ARTI/KETERANGAN
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
DNS	Dinitrosalysilic Acid
DE	Dekstrosa Ekuivalen
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetat
Fp	Faktor pengenceran
Opt	Optimum
SNI	Standar Nasional Indonesia
U	Unit
BLAST	<i>Basic Local Aligmnet Search Tool</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
Opt	Optimum
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
mU	Mili Unit
MR-VP	Methyl red- Voges proskaeur
rRNA	ribosome-Ribonucleic Acid
TE	Tris-EDTA
TSIA	Triple Sugar Iron Agar
SCA	Simon Citrate Agar

ABSTRAK

SAHRANI U. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri Simbion Usus Larva Kumbang Tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) serta Aplikasinya dalam Menghidrolisis Pati Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Menjadi Maltodekstrin* (dibimbing oleh Rugaiya A. Arfah dan Seniwati Dali)

Isolasi dan karakterisasi bakteri amilolitik penghasil enzim amilase telah dilakukan dengan menggunakan usus larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan spesies, mengisolasi, mengidentifikasi bakteri simbion dari larva kumbang tanduk, dan mengkarakterisasi enzim amilase serta mengaplikasikan dalam pembuatan maltodekstrin yang diperoleh dari pati umbi talas. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan meliputi (i) isolasi dan skrining bakteri simbion, (ii) karakterisasi isolat bakteri secara makroskopik dan mikroskopik, (iii) uji biokimia isolat bakteri terpilih, (iv) pengukuran kadar protein, (v) pemurnian, (vi) karakterisasi enzim amilase dan aplikasi enzim amilase dalam pembuatan maltodekstrin pati umbi talas. Hasil isolasi dan skrining bakteri dari usus larva kumbang tanduk diperoleh 5 isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim amilase. Bakteri simbion terpilih isolat EA1 dan EA2 termasuk spesies *Ochrobactrum* sp. dan *Pseudomonas mendocina*. Enzim amilase (hasil dialisis dan ekstrak kasar) yang diperoleh optimum pada pH 8, suhu 65°C dengan konsentrasi pati 4%. Enzim amilase yang paling stabil diperoleh pada suhu 65°C pada pH 8 dengan aktivitas enzim berkisar 2,2521-2,5270 mU/mL. Berdasarkan karakteristik maltodekstrin yang diperoleh yaitu nilai DE berkisar 15,22-19,41, kadar air 13,91%-15,01%, warna putih kecoklatan dan kekuningan, pH 7,01-7,18, densitas 0,562-0,698 g/mL dan rendamen 48,65%-84,6%.

Kata kunci: Bakteri Amilolitik, Bakteri Simbion Larva Kumbang Tanduk, Enzim Amilase, Maltodekstrin, Pati Umbi Talas

ABSTRACT

SAHRANI U. *Isolation and Characterization The Amylase Enzymes from Larva Symbione of The Gut Long-Horned Beetles (Oryctes rhinoceros L.) and Application In Hydrolysis Taro Starch (Colocasia Esculenta (L.) Schott) To Maltodextrin* (Supervised by Rugaiya A. Arfah and Seniwati Dali)

Isolation and characterization of amyolytic bacteria that produce amylase enzymes have been carried out using the intestines of horn beetle larvae (*Oryctes rhinoceros* L.). This study aims to determine the species, isolate, identify symbiont bacteria from horn beetle larvae, and characterize the amylase enzyme and apply it in the manufacture of maltodextrin obtained from taro tuber starch. This research was conducted in several stages including (i) isolation and screening of symbiont bacteria, (ii) macroscopic and microscopic characterization of bacterial isolates, (iii) biochemical tests of selected bacterial isolates, (iv) measurement of protein content, (v) purification, (vi) characterization of amylase enzymes and application of amylase enzymes in the manufacture of taro tuber starch maltodektsrin. The results of the isolation and screening of bacteria from the intestines of horn beetle larvae obtained 5 isolates of bacteria capable of producing amylyse enzymes. The selected symbiont bacteria isolates EA1 and EA2 include *Ochrobactrum* sp. and *Pseudomonas mendocina*. Amylase enzymes (dialysis results and crude extracts) obtained were optimum at pH 8, temperature 65°C with a starch concentration of 4%. The most stable amylase enzyme was obtained at 65°C at pH 8 with enzyme activities ranging from 2.2521-2.5270 mU/mL. Based on the maltodextrin characteristics obtained, the DE values ranged from 15.22-19.41, water content 13.91%-15.01%, brownish white and yellowish color, pH 7.01-7.18, density 0.562-0.698 g/mL and 48.65%-84.6% yield.

Keywords: Amyolytic Bacteria, Amylase Enzyme, Maltodextrin, Symbion Bacteria of Horn Beetle Larvae, Taro Tuber Starch

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk negara *megabiodiversity* terbesar kedua yang berfungsi sebagai lumbung energi hayati. Salah satu hasil alam berupa produk pangan lokal yang sering dijumpai dalam masyarakat yaitu umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). Umbi talas termasuk tumbuhan herba yang mengandung pati cukup tinggi yaitu sekitar 67,42% per 100 g talas kering, dengan serat 0,8% dan kadar abu 1,2% serta beberapa residu seperti riboflavin dan vitamin C (Shudakar, dkk., 2020). Menurut Pujisiswanto, dkk. (2022), tanaman umbi-umbian seperti talas sangat potensial untuk dapat dimanfaatkan dalam bidang industri karena mempunyai potensi produksi yang cukup besar yaitu mencapai 30 ton/ha. Namun, selama ini penggunaan umbi talas masih terbatas sebagai bahan pangan dalam pembuatan kue dan kripik talas dalam skala kecil. Oleh karena itu, perlu dilakukan diversifikasi produk berbasis pati umbi talas termodifikasi yang memiliki nilai ekonomis yang lebih tinggi dan banyak dibutuhkan pada industri, salah satunya yaitu pembuatan maltodekstrin.

Maltodekstrin merupakan salah satu produk turunan pati yang dihasilkan dari proses hidrolisis parsial oleh enzim amilase yang memiliki nilai Dekstrosa Ekuivalen (DE) kurang dari 20 (Arfah, dkk., 2018). Menurut Sao, dkk. (2019) bahwa maltodekstrin termasuk campuran glukosa, maltosa, oligosakarida dan dekstrin yang memiliki nilai DE kurang dari 20. Maltodekstrin banyak dimanfaatkan dalam bidang industri, seperti pembuatan minuman, makanan, serta obat-obatan (Derosya dan Kasim, 2017). Maltodekstrin juga digunakan sebagai bahan pengisi, pengental, dan pengemulsi pada produk dan dapat berfungsi sebagai penyalut proses sistim mikro enkapsulasi dengan bantuan pengering semprot, juga sebagai bahan tambahan pada pengolahan produk yang dapat meningkatkan kualitas baik dari penampakan secara fisik, rasa, konsistensi, warna, zat gizi serta proses pengolahan yang lebih mudah dan cepat (Umar, 2020). Beberapa peneliti sebelumnya telah melakukan penelitian terkait pembuatan maltodekstrin dari

berbagai jenis sumber pati, seperti yang telah dilakukan oleh Rayhani, dkk. (2018) yang meneliti tentang pembuatan maltodekstrin dari pati biji nangka dengan memperoleh nilai DE 13,4 pada waktu hidrolisis 120 menit, suhu 90°C dan konsentrasi enzim 0,2%. Penelitian lainnya dilakukan oleh Sunari, dkk. (2016) dari tepung sagu dengan nilai DE 11,835 pada waktu hidrolisis 90 menit dengan konsentrasi enzim 0,1% pada suhu 90°C. Penelitian Kunarto dan Sani (2017), yang memproduksi maltodekstrin dari pati biji durian dengan memperoleh nilai DE 13,88 pada waktu hidrolisis 125 menit, pada suhu 80°C.

Penggunaan enzim dalam proses hidrolisis pati pada produksi maltodekstrin lebih banyak digunakan dibandingkan dengan menggunakan asam, karena lebih ramah lingkungan, lebih murni, serta tanpa produk samping yang berbahaya (Rayhani, dkk., 2019), selain itu, penggunaan enzim dapat menghasilkan rendemen dan mutu larutan glukosa yang lebih tinggi (Chafid dan Galuh, 2010). Enzim yang digunakan dalam hidrolisis parsial pati adalah enzim amilase.

Enzim amilase merupakan biokatalisator yang mampu mengkatalisis pemutusan ikatan α -D-(1,4)-glukosidik pada pati, glikogen dan oligosakarida menghasilkan maltosa, dekstrin, oligosakarida serta D-glukosa (Ramadhan dan Wikandari, 2021). Enzim amilase termasuk salah satu jenis enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri dan menguasai 25% dari pasar enzim dunia. Amilase telah dieksploitasi oleh industri pengolahan pati sebagai pengganti hidrolisis asam dalam produksi hidrolisat pati. Enzim ini juga banyak dimanfaatkan pada berbagai bidang industri seperti kertas, industri makanan, deterjen, industri biodiesel dan tekstil (Tazkiah, dkk., 2017). Sampai saat ini, Indonesia masih mengimpor enzim amilase dari beberapa negara, hal ini dikarenakan masih kurangnya industri lokal yang memproduksi enzim tersebut. Padahal Indonesia memiliki biodiversitas mikroba yang tinggi dan sangat potensial untuk menghasilkan enzim amilase. Salah satu sumber bakteri yang dapat diisolasi yaitu mikroba simbion dari larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.).

Kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) merupakan hama utama pada berbagai tanaman perkebunan, terutama pada famili *Arecaceae*, seperti kelapa sawit, sagu, kelapa, serta tanaman *Arecaceae* lainnya. *Oryctes rhinoceros* L. banyak dijumpai pada batang pohon mati atau lapuk yang dapat dijadikan sarang sekaligus sumber makanan larva. Batang kelapa sawit dan kelapa sangat disukai oleh *Oryctes rhinoceros* L. karena mengandung bahan organik yang dibutuhkan.

Senyawa fenol dan fenil fenol yang dikeluarkan tandan kosong sawit yang terdekomposisi mampu memikat larva sehingga mendatangi bahan organik tersebut. Oleh karena itu, batang pohon yang mati dapat dijadikan sarang larva kumbang tanduk untuk berkembang biak (Fauzana, dkk., 2019).

Larva memiliki mikroorganisme non patogenik pada ususnya yang mampu menyimpan 105-109 sel prokariotik. Pada usus larva, terdapat sekitar 65% bakteri simbiotik yang digunakan dalam proses degradasi makanan dalam sistem pencernaannya. Bakteri simbiosis larva kumbang tanduk termasuk dalam golongan bakteri termofilik yaitu bakteri yang memiliki kemampuan bertahan hidup pada suhu tinggi yaitu 45-70°C (Sijabat, dkk., 2018). Keunggulan bakteri termofilik yaitu mampu menghasilkan enzim yang tahan akan suhu ekstrim. Enzim termofilik mampu bertahan dan aktif pada temperatur yang cukup tinggi. Karakter ini sangat digemari oleh industri-industri yang berbasis enzim salah satunya pada industri pembuatan maltodekstrin yang membutuhkan suhu tinggi pada proses produksinya. Penggunaan enzim yang mampu bertahan pada suhu ekstrim dapat menekan biaya operasi dan meningkatkan kecepatan reaksi (Nadila, 2019).

Beberapa peneliti terdahulu telah melakukan penelitian terkait isolasi bakteri dari berbagai jenis larva seperti yang telah dilakukan oleh Kresnawaty, dkk. (2019), mengisolasi bakteri dari larva *Black Soldier Fly* (BSF) yang memperoleh hasil berupa isolat bakteri amilolitik yang dikelompokkan dalam genus *Proteus* sp. Mastuti, dkk. (2019), mengisolasi bakteri dari larva ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) yang memperoleh hasil isolat bakteri yang identik dengan *Bacillus cereus*, *B. methylotrophicus*, *B. amyloliquefaciens*, *Pseudomonas plecoglossicida*, *P. putida* dan *Vibrio* sp. Penelitian yang dilakukan oleh Nasution (2018), mengisolasi bakteri dari larva nyamuk *Aedes aegypti*, memperoleh dua isolat yang memiliki kemiripan dengan *B. thuringiensis*. Menurut Supriyatna dan Ukit (2016), bahwa salah satu jenis bakteri yang terdapat pada usus larva yaitu bakteri amilolitik.

Bakteri amilolitik termasuk salah satu jenis mikroorganisme yang sering dipakai untuk memperoleh enzim amilase. Dalam proses fermentasi, bakteri amilolitik lebih berperan pada proses fermentasi untuk bahan yang mengandung pati. Kemampuan bakteri amilolitik ini dapat dilihat dari isolat bakteri yang mampu menghasilkan amilase (Sijabat, 2018). Hasil penelitian terkait isolasi enzim amilase dari bakteri amilolitik telah dilaporkan oleh Muliani (2021), memperoleh aktivitas enzim amilase dari mikroba simbiosis larva kumbang sagu pada pH 7, konsentrasi substrat 1% dan pada suhu 37°C dengan aktivitas amilase sebesar

0,066 U/mL. Hasil penelitian lainnya dilaporkan oleh Arfah, dkk. (2015) yang mengisolasi enzim amilase dari bakteri amilolitik sumber air panas yang memperoleh aktivitas paling optimum pada pH 6, suhu 55-60°C serta konsentrasi substrat 2,5% dengan aktivitas amilase yaitu 0.165U/mL. Penelitian yang dilakukan oleh Purnawan, dkk. (2015), mampu mengisolasi enzim amilase dari bakteri laut Jakarta pada kondisi optimum pH 7, suhu 30°C dan substrat 1%, dengan nilai aktivitas enzim amilase 2,7 U/mL.

Berdasarkan uraian dari latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari bakteri simbiosis larva kumbang tanduk dalam pembuatan maltodekstrin pati umbi talas.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. berapa isolat bakteri simbiosis penghasil enzim amilase dari larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) serta apakah bakteri simbiosis dari larva kumbang tanduk yang potensial menghasilkan enzim amilase dapat diidentifikasi spesiesnya?
2. berapa aktivitas dan bagaimana karakteristik sifat biokimia enzim amilase dari bakteri simbiosis larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) terpilih?
3. bagaimana karakteristik fisik dan kimia maltodekstrin pati umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dengan menggunakan enzim amilase dari bakteri simbiosis larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) terpilih?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. mengisolasi dan mengidentifikasi spesies bakteri simbiosis penghasil enzim amilase dari larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.),
2. menentukan aktivitas dan mengkarakterisasi sifat biokimia enzim amilase dari bakteri simbiosis larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) terpilih,
3. mengkarakterisasi sifat fisik dan kimia maltodekstrin yang diperoleh dari pati umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dengan menggunakan enzim amilase dari bakteri simbiosis larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) terpilih.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. memperoleh isolat bakteri simbion penghasil enzim amilase dari larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) yang telah diketahui spesiesnya,
2. menambah informasi terkait bakteri simbion larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) penghasil amilase yang dapat diketahui melalui karakteristik enzim dari mikroba simbion larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.),
3. memberikan informasi terkait sifat fisik dan kimia maltodekstrin yang diperoleh dari pati umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dengan menggunakan enzim amilase dari bakteri simbion larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

Talas merupakan tanaman yang mengandung kadar pati tinggi yaitu 80%. Talas merupakan tanaman yang telah lama dibudidayakan dan dimanfaatkan sebagai sumber pangan tambahan di Indonesia. Sekitar 10% penduduk dunia mengonsumsi talas sebagai pangan. Umbi dimasak dengan cara dibakar, direbus atau digoreng (Sao, dkk., 2019).

Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) (Gambar 1) termasuk tumbuhan herba dengan umbi batang yang bonggolnya tumbuh di bawah tanah. Menurut Tjahjani, dkk. (2013), karbohidrat umbi talas cukup tinggi yaitu 23,7% tiap 100 gram talas. Karbohidrat yang cukup tinggi dibanding tanaman lain seperti kentang (19,1% tiap 100 g) menjadikan talas berpotensi untuk dapat dimanfaatkan pada bidang industri (Febby, dkk., 2019). Kandungan kimia dari beberapa jenis sumber pati dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan kimia pada beberapa jenis pati (Rahmawati, dkk., 2012).

No.	Jenis Pati	Kadar Air (%)	Kadar Pati (%)	Kadar Amilosa (%)
1	Pati dari umbi talas	13.18	80	5.55
2	Pati tepung talas	9.4	75	3.75
3	Pati modifikasi	5.3	65	4.12
4	Pati jagung	6.06-8.74	-	7.45-8.09
5	Pati singkong	10.4±0.08	84.5±0.48	19.5 ±0.07
6	Pati beras	8.77-10.62	-	4.90-6.33

Colocasia esculenta (L.) Schott biasa disebut *taro* atau *cocoyam* (Keluarga: *Araceae*) adalah tanaman herba, dengan umbi berbentuk bulat besar dengan daun yang berbentuk hati serta tangkai daun yang memiliki panjang mencapai ketinggian 1-2 m. *Peduncle* daun lebih pendek dari tangkai daun, panjang 15 hingga 35 cm dengan bentuk tabung kehijauan, lonjong; laminanya adalah sempit

lanset, berbelit-belit, runcing dan sedikit melengkung mundur dalam bunga. Bunga betina pendek tapi perbungaan jantan panjang, silindris, dan biasanya diselingi netral di antara keduanya. Bunga jantan 3-6 androus, Betina bunga 3-4 *gynous* dengan ovarium berbentuk lonjong atau lonjong. Batangnya adalah agak bengkak di pangkal pelepah daun (Sudhakar, dkk., 2020). Gambar Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Umbi Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) (Sudhakar, dkk., 2020).

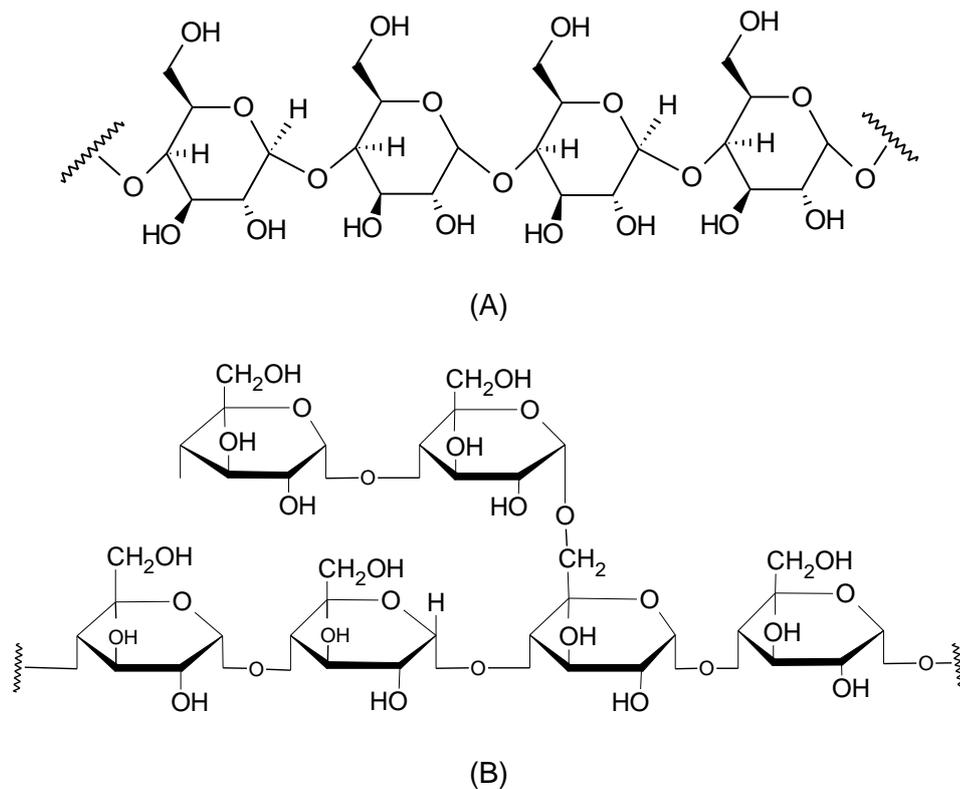
Menurut Sudhakar, dkk. (2020), klasifikasi umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivision	: Spermatophytes
Division	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Subclass	: Arecidae
Order	: Alismatales
Family	: Araceae-Arums
Genus	: <i>Colocasia schott</i>
Species	: <i>Colocasia esculenta</i> (L)

2.2 Pati atau Amilum

Pati atau amilum merupakan polimer karbohidrat yang memiliki rumus molekul yaitu $(C_6H_{10}O_5)_n$. Polimer pati dibentuk dengan terbentuknya ikatan glukosida yaitu ikatan molekul antara glukosa melalui oksigen pada atom karbon

pertama. Karbohidrat golongan polisakarida ini banyak terdapat di alam, terutama pada sebagian besar tumbuhan, pati jenis ini banyak terdapat pada umbi, daun, batang dan biji-bijian. Pati dapat dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu amilosa dan amilopektin. Amilosa merupakan jenis polimer rantai lurus yang terdiri dari ribuan glukosa dengan ikatan α -1,4 glukosida. Amilopektin merupakan polimer glukosa yang mengandung percabangan rantai karena terdapat ikatan pada α -1,6 glukosida di beberapa bagiannya (Nangin dan Sutrisno, 2015). Adapun struktur amilosa dan amilopektin digambarkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur (A) Amilosa dan (B) Amilopektin (Nangin dan Sutrisno, 2015).

Amilosa dan amilopektin memiliki monomer yang sama yaitu molekul glukopiranososa. Untuk setiap molekul amilosa biasanya terdiri dari 100-10.000 unit D-glukopiranososa, dengan tiap unitnya berikatan lewat ikatan 1,4- α -glikosidik. Setiap rantai polimer molekul terdapat satu ujung gula tereduksi dengan satu ujungnya lagi gula non reduksi sehingga molekul amilosa termasuk rantai terbuka. Amilopektin memiliki rantai molekul polisakarida yang banyak percabangannya. D-glukopiranososa berikatan melalui ikatan 1,4- α -glikosidik seperti pada amilosa yang membentuk rantai lurus serta ikatan 1,6- α -glikosidik yang membentuk percabangan pada rantai amilopektin tersebut (Ramadhan dan Wikandari, 2021).

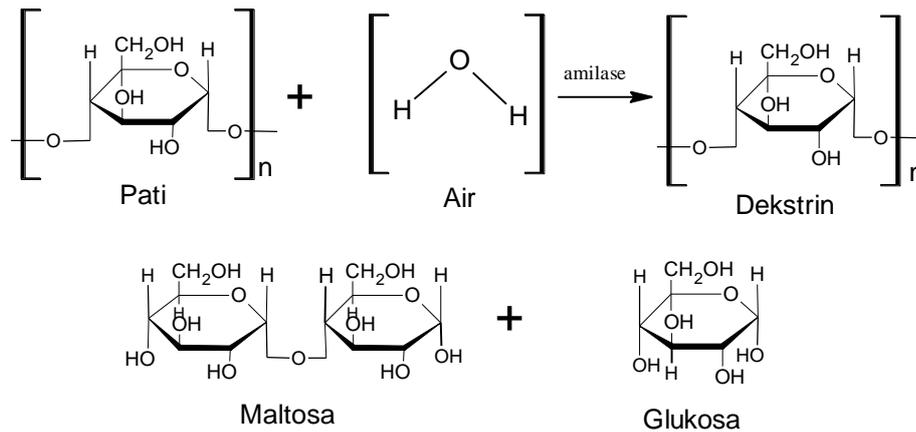
Salah satu peran utama pati yaitu sebagai sumber makanan penghasil energi utama dari golongan karbohidrat. Pati juga berperan sebagai bahan aditif dalam proses pengolahan makanan, seperti penstabil pada proses pembuatan pudding, pemanis buatan (sakarín), pembuatan sirup. Pati dapat dihidrolisis dengan memutuskan ikatan glikosidik pada rantai polimernya oleh suatu reaktan yang dibantu oleh air. Perlakuan ini banyak digunakan di industri untuk memproduksi molekul yang lebih sederhana. Ikatan glikosidik yang terdapat pada pati cenderung stabil pada kondisi basa, akan tetapi kurang stabil dalam kondisi asam. Ikatan ini juga mampu diputuskan dengan proses enzimatik. Hasil dari hidrolisis ini akan menghasilkan berupa gugus aldehid yang dikenal sebagai gugus ujung reduksi. Banyaknya gugus ujung reduksi berbanding lurus dengan derajat hidrolisis pati (Nangin dan Sutrisno, 2015).

Hidrolisis pati dapat terjadi antar suatu reaktan pati dengan reaktan air. Hidrolisis pati bertujuan untuk memutuskan ikatan polimer sakarida pada pati dengan bantuan suatu katalis. Katalis merupakan zat yang dapat mempercepat laju reaksi tanpa ikut bereaksi pada prosesnya secara keseluruhan. Pada proses hidrolisis pati, salah satu katalis yang dapat digunakan yaitu enzim. Proses hidrolisis secara enzimatik dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu enzim, suhu, pH, ukuran partikel, waktu hidrolisis, perbandingan cairan terhadap bahan baku (volume substrat), dan lama pengadukan. Enzim yang biasa digunakan dalam proses pembuatan maltodekstrin yaitu enzim α -amilase (Angraini, 2017).

Menurut Chafid dan Galuh (2010), terdapat beberapa tahapan dalam proses konversi pati yaitu tahap gelatinisasi, likuifikasi dan sakarifikasi. Tahap gelatinisasi merupakan tahap pembentukan suspensi kental dari granula pati.

1. Likuifikasi

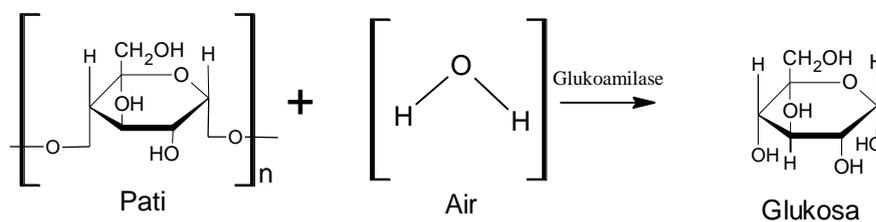
Tahap likuifikasi yaitu hidrolisis pati parsial yang ditandai dengan menurunnya viskositas (Chafid dan Galuh, 2010). Pada proses likuifikasi, α -amilase akan memutus ikatan 1,4 glikosidik secara acak baik pada amilosa maupun amilopektin pada rantai lurus. Enzim amilase tidak dapat memecah ikatan pati secara sempurna sehingga selama proses likuifikasi ini dihasilkan dekstrin dengan rantai sepanjang 6-10 unit glukosa (Saraswati, dkk., 2004). Reaksi dari proses likuifikasi terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi pada Proses Likuifikasi (Wahidah, 2017).

2. Sakarifikasi

Sakarifikasi merupakan proses lebih lanjut dari hidrolisis untuk menghasilkan glukosa (Chafid dan Galuh, 2010). Pada proses sakarifikasi digunakan enzim glukoamilase yang akan memecah ikatan 1,4 dan 1,6 glikosidik sehingga dihasilkan glukosa tunggal. Konsentrasi substrat berpengaruh pada kecepatan reaksi enzimatik. Efek dari konsentrasi substrat dari kecepatan awal dari reaksi amat penting dimana pada kecepatan tersebut merupakan fungsi dari konsentrasi substrat. Kondisi optimum untuk enzim glukoamilase terjadi pada suhu 60°C dan pH 4-4,5 (Saraswati, dkk., 2004). Reaksi sakarifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Proses Sakarifikasi (Wahidah, 2017).

Maltodekstrin merupakan produk hidrolisis parsial, sehingga proses hidrolisisnya berhenti hanya sampai likuifikasi. Pada tahap likuifikasi terjadi pemecahan ikatan α-1,4 glikosidik oleh enzim α-amylase pada bagian dalam rantai polisakarida secara acak sehingga dihasilkan glukosa, maltosa, maltodekstrin dan α-limit dekstrin. Enzim. α-amylase merupakan enzim yang menghidrolisis secara khas melalui bagian dalam dengan memproduksi oligosakarida dari konfigurasi

alfa yang memutus ikatan α -(1,4) glikosidik pada amilosa, amilopektin, dan glikogen. Ikatan α -(1,6) glikosidik tidak dapat diputus oleh α -amylase, tetapi dapat dibuat menjadi cabang-cabang yang lebih pendek.

2.3 Maltodekstrin

Maltodekstrin merupakan senyawa turunan karbohidrat dengan rumus molekul $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$ yang memiliki nilai DE kurang dari 20. Maltodekstrin memiliki kelarutan yang baik, higroskopisitas rendah, dapat membentuk film, menghambat kristalisasi, memiliki daya ikat kuat serta dapat menjadi pendispersi. Secara nasional, maltodekstrin memiliki nilai ekonomis yang lebih baik dibandingkan dengan harga tepung tanpa modifikasi. Maltodekstrin dapat dibuat dari suatu bahan yang kaya akan kandungan pati seperti tepung ketela, jagung, kentang, atau dari beras (Sunari, dkk., 2016).

Maltodekstrin dapat diproduksi melalui proses hidrolisis pati, proses ini merupakan reaksi pemecahan struktur komponen pati menjadi gula yang lebih sederhana. Hidrolisis pati umumnya menggunakan katalis asam atau enzim. Penggunaan katalis asam biasanya menghasilkan produk dengan warna yang tidak sesuai dengan keinginan sehingga produk hidrolisis dengan katalis asam ini harus dinetralkan terlebih dahulu dengan basa agar sifat asamnya hilang. Penggunaan enzim lebih banyak diminati karena produk yang dihasilkan lebih murni, serta tidak menghasilkan produk samping yang berbahaya (Rayhani, dkk., 2018).

Proses hidrolisis pati dengan reaksi enzimatik membutuhkan suatu enzim yang dapat menghidrolisis pati menjadi suatu senyawa yang lebih sederhana seperti disakarida ataupun monosakarida. Enzim yang dapat digunakan yaitu enzim amilase, enzim ini akan bekerja dengan cara bereaksi dengan molekul substrat (pati), sehingga akan diperoleh senyawa glukosa, maltosa, oligosakarida, dan dekstrin, senyawa tersebut merupakan campuran pembentuk maltodekstrin. Enzim amilase ini akan memecah substrat (pati) melalui tiga tahapan utama yaitu gelatinisasi, likuifikasi, dan sakarifikasi. Pada tahapan gelatinisasi terjadi pembentukan suspensi kental dari butir pati, selanjutnya tahap likuifikasi akan terjadi proses hidrolisis pati parsial yang ditandai dengan menurunnya viskositas, terakhir sakarifikasi merupakan proses lebih lanjut dari hidrolisis untuk menghasilkan gula sederhana (Rayhani, dkk., 2018). Karakterisasi maltodekstrin

dari hidrolisis pati sagu dengan menggunakan enzim α -amilase dapat dilihat dari Tabel 2.

Tabel 2. Karakterisasi maltodekstrin dari hidrolisis pati sagu dengan menggunakan enzim α -amilase (Arfah, dkk., 2018).

Karakteristik	Maltodextrin dari Sagu	Syarat mutu SNI 7599:2010 (18)
Dextrose Equivalent (DE)	12,31	Max 20
Gula reduksi (%)	11,14	11-14
Kadar air (%)	10,92	Max 11
pH	4,85	Max 7
Warna	Putih krem	Putih kekuningan
Kelarutan (g/L)	153,2	-
Densitas (g/mL)	0,3	-
Viskositas maltodextrin 10% (cps)	240	-
Glukosa (%)	2,82	-
Maltosa (%)	5,54	-
Total Plate Count (TPC) (koloni/g)	380	Max 10^{-6}

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arfah, dkk. (2018), memperoleh nilai Dextrosa Equivalen (DE) sebesar 12.31 dengan waktu hidrolisis 60-180 menit. Variasi konsentrasi enzim yang diberlakukan pada penelitian ini diperoleh bahwa semakin banyak konsentrasi enzim yang diberikan, maka nilai dekstrosa equivalen (DE) yang dihasilkan akan semakin tinggi. Sesuai dengan spesifisitas Pharmacopeial standar USPNF XVII untuk produk maltodekstrin yang mempunyai kisaran DE 5-20 (Husniati 2009; Jufri, 2004).

Nilai dekstrosa equivalen (DE) merupakan pengukuran derajat hidrolisis molekul pati yang berhubungan dengan jumlah produksi gula reduksi, apabila nilai DE semakin tinggi maka kualitas dari produk maltodekstrin yang dihasilkan akan semakin baik. Semakin tinggi nilai DE yang diperoleh ini menandakan bahwa enzim mampu bereaksi menghidrolisis substrat pati dengan baik, sehingga diperoleh senyawa glukosa. Selain itu, harga DE tinggi maka harga *sweeteness*, *plasticity*, *hygroscopicity*, dan *solubility* juga tinggi. Namun jika harga DE turun, yang akan meningkat adalah berat molekul, *viscosity*, *cohesiveness*, dan *film-forming properties*. Selain itu, harga DE rendah mengakibatkan pembentukan kristal gula yang besar dapat dicegah (Chafid dan Kusumawardhani, 2010; Kuntz, 1997). Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh suhu, enzim tidak dapat beraktivitas

dengan optimal pada suhu proses yang rendah. Hal ini terjadi karena reaksi yang melibatkan enzim membutuhkan suatu pemanasan terkontrol yang akan menyediakan energi aktivasi yang cukup untuk memulai reaksi, sehingga diperoleh hasil yang baik (Sunari, dkk., 2016).

Tingkat kelarutan maltodekstrin berbeda-beda, semakin pendek rantai sakaridanya maka tingkat kelarutannya di dalam air akan semakin tinggi. Semakin lama proses hidrolisis pati maka kelarutan juga semakin tinggi. Hal ini terjadi karena semakin lama dihidrolisis maka pati akan pecah menjadi molekul yang lebih kecil sehingga komponen zat terlarut semakin besar. Suhu hidrolisis yang meningkat juga akan memperbesar pemutusan rantai polisakarida pada pati menjadi sakarida yang lebih sederhana, sehingga nilai DE pada maltodekstrin akan semakin meningkat. Meningkatnya nilai DE tersebut mengindikasikan terjadinya peningkatan sakarida-sakarida sederhana, sehingga tingkat kelarutan maltodekstrin di dalam air juga semakin meningkat (Santoso, dkk., 2019).

2.4 Isolasi Mikroorganisme

Isolasi adalah teknik memisahkan mikroorganisme dari medium ke medium lain yang dilakukan untuk mendapatkan biakan murni yang tidak tercampur oleh mikroorganisme lain (Purnomo, 2008). Teknik untuk mendapatkan biakan murni bakteri disebut dengan teknik kultur murni. Kultur murni tersebut merupakan langkah agar dapat mengidentifikasi bakteri dan memperoleh isolat dengan baik. Metode yang digunakan untuk mendapatkan isolat yang murni adalah dengan cara melakukan penumbuhan bakteri didalam media agar dengan menggunakan teknik gores atau dengan cawan tebar (Jaka, 2012).

Beberapa langkah yang dapat dilakukan untuk mendapatkan biakan yang diinginkan. Salah satunya seperti menambahkan nutrisi pada media yang digunakan untuk membantu menstimulasi pertumbuhan bakteri yang diinginkan, mengurangi atau menghilangkan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri yang tidak diinginkan, menambahkan material-material selektif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan (Jaka, 2012).

Selain hal tersebut untuk memperoleh isolat murni dari bakteri, yang harus diperhatikan lainnya yaitu memperhatikan jenis-jenis nutrisi yang disyaratkan untuk bakteri. Hal ini karena bakteri sangat beragam, sehingga tiap-tiap jenis bakteri memiliki persyaratan nutrisi yang berbeda-beda pula. Beberapa bakteri syarat

nutrien yang dibutuhkan adalah sederhana namun adapula bakteri yang membutuhkan nutrien yang rumit. Syarat dari kebutuhan nutrien atau nutrisi dari bakteri tersebut juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Beberapa dari spesies bakteri hidup dan berkembangbiak pada daerah bersuhu rendah dan ada bakteri yang hidup dan berkembangbiak pada daerah bersuhu tinggi sampai 75°C. Oleh karena itu penyesuaian nutrient yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri perlu diperhatikan (Jaka, 2012).

2.5 Bakteri Amilolitik

Bakteri amilolitik merupakan kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase dan dapat memecahkan ikatan α -1,4 glukosida. Enzim ini dapat diperoleh dengan melakukan isolasi terhadap jenis bakteri yang dianggap memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim amilase (Asadullah, 2014). Pemanfaatan bakteri sebagai sumber penghasil enzim memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan menggunakan bahan alam seperti tumbuhan, hewan ataupun jenis mikroorganisme lainnya.

Bakteri dapat ditumbuhkan dengan waktu yang relatif cepat dan dapat diperbanyak untuk menghasilkan jumlah enzim yang lebih banyak pula (Yuliar, 2008). Organisme yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan bakteri amilolitik yaitu *Black Soldier Fly* (BSF). Bakteri ini memiliki kemampuan untuk melakukan pendegradasian dengan cepat terhadap bahan-bahan organik (Kresnawati, 2019). Bakteri amilolitik hidup pada bagian pencernaan dari BSF (Ng, dkk., 2019). Oleh karena itu untuk melakukan pengambilan bakteri amilolitik dilakukan pada bagian usus karena pada dengan adanya bakteri tersebut maka bakteri BSF dapat melakukan perubahan dari bahan organik menjadi senyawa makromolekul.

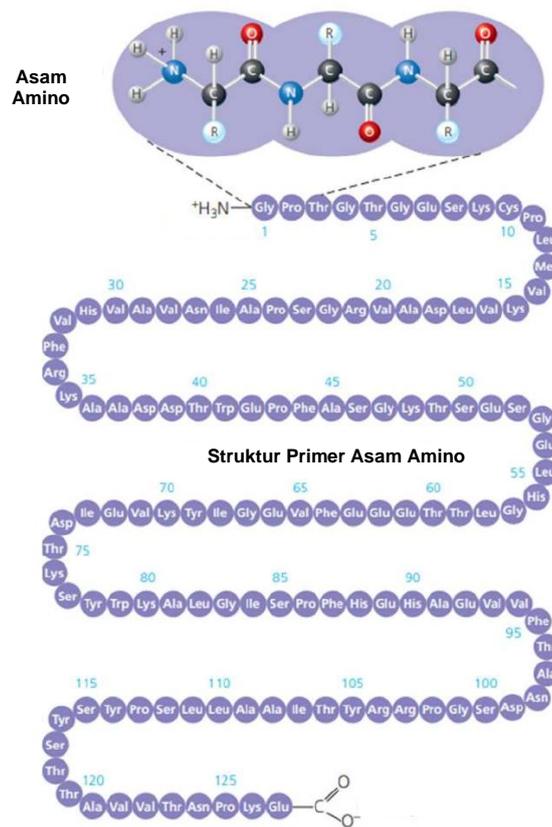
Beberapa bakteri yang digunakan dalam memproduksi enzim amilase seperti bakteri genus *Bacteriodes*, *Lactobacillus* (Silaban, 2018), genus *Bacillus* (Sundari, dkk., 2019), seperti *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus amyloliquefaciens* (Souza, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Al-Asna, dkk. (2017), menyatakan bahwa dari batang bakau yang diambil dari kalimantan terdapat 4 jenis bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase yaitu *Vibrio parahemoliticus*, *Providencia stuarti*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Listeria monocytogenes*, dan *Bacillus cereus*.

2.6 Enzim Amilase

Enzim merupakan biokatalisator yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi kimia. Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi serta kendali pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Suatu enzim mampu mempercepat laju reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan dengan suatu reaksi yang tidak menggunakan enzim sebagai katalis. Dalam suatu reaksi, enzim mampu mengubah substrat menjadi suatu senyawa yang baru yaitu produk, namun enzim tidak ikut berubah dalam reaksi tersebut (Ateng, 2015).

Amilase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu mendegradasi ikatan 1,4- α -glikosidik pada polimer pati menjadi gula yang lebih sederhana seperti maltosa, dekstrin serta glukosa. Amilase diklasifikasi menjadi 3 bagian yaitu alfa amilase (α -amilase), beta amilase (β -amilase) dan gamma amilase (γ -amilase). α -amilase berfungsi untuk memutus ikatan 1,4- α -glikosidik yang terdapat pada bagian dalam pati secara acak (Pertiwi, 2019). Hasil hidrolisis dari enzim α -amilase berupa oligosakarida yang memiliki panjang rantai yang berbeda-beda. β -amilase bekerja dengan memutus ikatan 1,4-glikosidik pada bagian luar pati menjadi glukosa, dekstrin serta amilopektin. Penggunaan α -amilase lebih baik karena sifatnya mampu memutus ikatan 1,4- α -glikosidik secara acak pada bagian dalam pati sehingga bekerja lebih cepat dibanding amilase lainnya terutama β -amilase (Muliani, 2020).

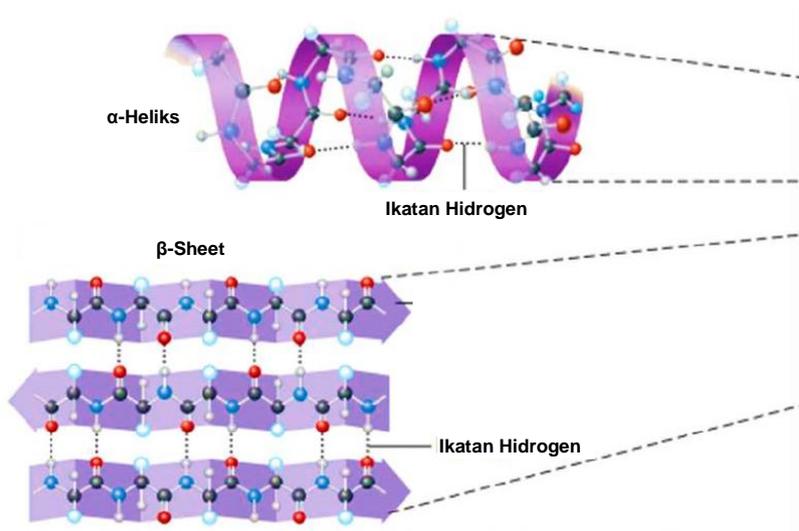
Tidak semua enzim merupakan protein, tetapi sebagian besar enzim merupakan protein yang tersusun atas asam amino. Protein merupakan makromolekul dengan struktur kompleks. Satu rantai polipeptida mengandung ratusan sampai jutaan ikatan kovalen dengan berbagai struktur tiga dimensi atau struktur ruang. Dalam tataran molekular, struktur protein dibagi ke dalam empat level yaitu struktur primer, sekunder, tersier, dan kuarterner. Struktur primer digambarkan sebagai struktur asam amino di dalam protein. Susunan tersebut merupakan serangkaian asam amino yang khas, yang akan menentukan sifat dasar dari berbagai protein, dan secara umum akan menentukan struktur sekunder dan tersier. Apabila protein mengandung banyak asam amino yang mempunyai gugus hidrofobik, maka kelarutannya dalam air kurang baik dibandingkan dengan protein yang mengandung asam amino dengan gugus hidrofilik (Khan dan Salahuddin, 2017).



Gambar 5. Struktur Primer Protein (Khan dan Salahuddin, 2017).

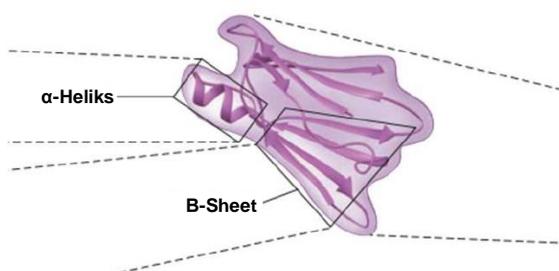
Struktur sekunder adalah konformasi teratur dari rantai polipeptida. Ada dua jenis keteraturan dalam struktur sekunder protein yaitu α -heliks dan β -sheet. Struktur α -heliks distabilisasi oleh ikatan hidrogen antar asam amino. Ikatan hidrogen dalam struktur α -heliks terjadi setiap 3-6 residu asam amino. Struktur α -heliks bersifat ampifilik yaitu satu sisi dari permukaan heliks ditempati oleh rantai samping asam amino yang hidrofobik dan sisi lain ditempati oleh residu asam amino hidrofilik (Khan dan Salahuddin, 2017).

Struktur β -sheet merupakan struktur yang terbentuk akibat gugus C-O dan N-H berorientasi secara tegak lurus terhadap rantai, sehingga ikatan hidrogen hanya mungkin terbentuk antar segmen, bukan di dalam segmen. Untai β -sheet biasanya terdiri dari 5-15 residu asam amino. Struktur β -sheet secara umum lebih stabil dibandingkan α -heliks. Umumnya, protein yang mengandung fraksi β -sheet dalam jumlah besar menunjukkan suhu denaturasi yang tinggi (Khan dan Salahuddin, 2017).



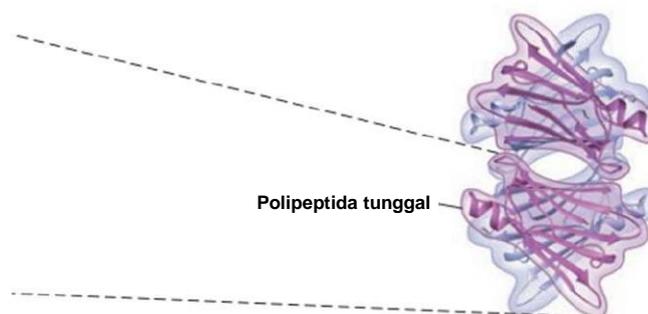
Gambar 6. Struktur Sekunder Protein (Khan dan Salahuddin, 2017).

Struktur tersier Struktur tersier protein menunjukkan struktur tiga dimensi dari rantai polipeptida yang berlipat. Struktur tersier terbentuk akibat berbagai interaksi di dalam rantai polipeptida yang menghasilkan energi terendah. Struktur tersier protein merupakan pengaturan ruang dari rantai polipeptida linear dengan struktur sekundernya yang berlipat dan membentuk struktur tiga dimensi (Khan dan Salahuddin, 2017).



Gambar 7. Struktur Tersier Protein (Khan dan Salahuddin, 2017).

Struktur kuarterner protein merupakan pengaturan ruang protein yang terdiri dari beberapa rantai polipeptida. Sejumlah protein yang secara biologis penting tersedia dalam bentuk dimer, trimer, tetramer, dan seterusnya. Kompleks kuarterner protein ini dapat terdiri dari protein dengan sub unit (monomer) yang sama (homogen) atau berbeda (heterogen) (Khan dan Salahuddin, 2017).



Gambar 8. Struktur Kuartener Protein (Khan dan Salahuddin, 2017).

Enzim amilase secara umum dapat ditemukan pada berbagai makhluk hidup seperti mikroorganisme. Beberapa jenis mikroorganisme jenis fungi penghasil enzim amilase seperti *Aspergillus* sp. dan *Penicillium* sp. α -amilase juga dapat diproduksi dari *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus amyloliquefaciens*. Masing-masing mikroorganisme tersebut memiliki potensi untuk dapat dimanfaatkan pada berbagai industri seperti industri makanan, tekstil, fermentasi, dan kertas (Setyahadi, dkk., 2014). Aktivitas enzim amilase biasanya dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kondisi lingkungan meliputi pH, substrat, suhu, serta waktu inkubasi (Simmamora, dkk., 2018).

2.7 Pemurnian Enzim

Purifikasi enzim merupakan suatu upaya yang dilakukan untuk menghasilkan enzim dengan aktivitas spesifik lebih baik daripada ekstrak kasarnya dan menghasilkan *yield* enzim yang tinggi. Proses purifikasi enzim melalui 2 tahapan besar, yakni pemurnian dalam jumlah besar dan pemurnian dalam jumlah kecil. Beberapa teknik yang umumnya digunakan antara lain dengan memanfaatkan pH atau suhu ekstrim, partisi fase dengan pelarut organik, penambahan bubuk resin ion *exchange*, maupun dengan teknik *salting out*. Metode pemurnian enzim dapat dipilih berdasarkan sifat enzim tersebut sebagai protein yang memiliki perbedaan dari segi kelarutan, muatan, serta ukurannya (Lehninger, 2004). Hasil yang diharapkan dari proses purifikasi enzim ini ialah didapatkan *yield* maksimal dari enzim yang diisolasi, dan kenaikan aktivitas spesifik serta *purification factor*-nya.

Metode yang umum digunakan untuk pemurnian enzim yakni dengan prinsip *salting out* menggunakan amonium sulfat yang biasa digunakan untuk

purifikasi protein. Garam amonium sulfat sering digunakan dalam proses pemurnian karena sifatnya yang sangat larut, murah, dan memiliki tingkat pemurnian tertinggi serta tidak mengubah pH larutan protein sampel menjadi ekstrim yang dapat mengakibatkan denaturasi protein. Proses ini menggunakan kadar garam tinggi untuk mengendapkan protein, kelarutan protein akan menurun apabila berada pada kondisi tersebut (Ningrum, 2012).

Prinsip *salting out* didasari oleh kompetisi antara ion garam dan molekul protein untuk berikatan dengan air. Oleh sebab itu, pada konsentrasi garam yang tinggi, air akan cenderung terikat dengan garam dibandingkan dengan molekul protein. Konsentrasi garam yang ditambahkan ke dalam ekstrak kasar enzim dibuat variatif dan dilakukan pada suhu rendah (Suhito, 2016). Kondisi suhu rendah mampu meningkatkan presipitasi protein saat penambahan garam kadar tinggi.

Beberapa keuntungan apabila menggunakan metode pengendapan menggunakan amonium sulfat yaitu dapat mengendapkan hampir seluruh protein karena amonium sulfat memiliki molaritas yang besar, memiliki densitas rendah yakni $1,235 \text{ g.cm}^{-3}$ sehingga tidak akan ikut terendapkan saat sentrifugasi protein, serta pada proses pelarutan akan menghasilkan panas pelarutan yang rendah sehingga protein tidak terdenaturasi (Scopes, 1994; Suhito, 2016).

Pengendapan dengan menggunakan amonium sulfat biasanya meninggalkan sisa-sisa garam pada enzim. Oleh karena itu perlu dilakukan dialisis untuk meningkatkan kemurnian suatu molekul dalam tahap purifikasi. Dialisis adalah proses perpindahan molekul terlarut dari suatu campuran larutan yang terjadi akibat difusi pada membran semi-permeabel. Molekul terlarut yang berukuran lebih kecil dari pori-pori membran akan keluar, sedangkan molekul lainnya yang lebih besar akan tertahan di dalam selubung membran. Pemisahan ini perlu dilakukan agar garam-garam anorganik tidak mengganggu tahap pemurnian enzim selanjutnya (Suhito, 2016).

Dialisis dapat dilakukan dengan menggunakan tabung selofan yang memiliki ukuran pori-pori lebih kecil dari ukuran protein sehingga protein tidak dapat keluar dari tabung selofan. Pemanfaatan tabung selofan memiliki beberapa keuntungan antara lain mudah digunakan, harganya relatif murah dan mudah diperoleh. Laju difusi ditentukan oleh beberapa kondisi antara lain yaitu konsentrasi molekul pelarut yang akan keluar dari membran dialisis, luas permukaan membran dialisis, dan volume pelarut yang digunakan. Buffer

digunakan saat dialisis untuk melarutkan senyawa non protein, selain itu buffer berfungsi menjaga kestabilan pH enzim, karena perubahan pH dapat memengaruhi aktivitas enzim dan pH yang ekstrim dapat merusak enzim. Efektivitas buffer dipengaruhi oleh konsentrasi dan bahan penyusun buffer (Suhito, 2016).

2.8 Kumbang Tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.)

Larva kumbang tanduk *Oryctes rhinoceros* L. merupakan jenis larva dengan famili *Scarabaeidae* dan ordo *Coleoptera*. Kumbang tanduk termasuk hama utama pada tanaman kelapa sawit dan kelapa yang juga disebut sebagai hama penggerek pucuk kelapa. Hama jenis ini banyak ditemukan di setiap daerah Indonesia. Kumbang tanduk pada stadium dewasa biasanya menyerang titik tumbuh sehingga menyebabkan kerusakan pada daun muda kelapa. Larva kumbang tanduk pada fase telur, larva dan pupa berada di tanah, hidup pada media yang memiliki banyak sisa-sisa bahan organik di sekitar pohon kelapa sawit (Athifa, dkk., 2019).

Umumnya larva kumbang tanduk berukuran 40-50 cm, memiliki warna coklat kehitaman serta pada bagian kepala terdapat tanduk kecil. Setiap kumbang betina memiliki bulu-bulu halus pada ujung perutnya, sedangkan pada jantan tidak ada. Kumbang jenis ini biasanya menggerek pupus yang belum terbuka mulai dari pangkal pelepah, terutama pada tanaman muda di areal peremajaan (Nurfadillah, 2017).

Siklus hidup larva kumbang tanduk pada kelapa atau kelapa sawit dimulai pada awal musim penghujan yang merupakan masa penerbangan kumbang secara serentak. Selanjutnya telur hingga larva instar ke tiga biasanya berlangsung selama 6-9 bulan. Perkembangan telur sampai fase dewasa membutuhkan waktu 385 hari. Larva stadia instar ke-2 dan ke-3 merupakan fase yang dapat merusak akar tebu. Biasanya pengrusakan ini terjadi pada bulan Januari-April. Kerusakan akibat dari serangan serangga ini menyebabkan gejala layu permanen dan dapat mengakibatkan kematian pada tanaman. Kerusakan pada rumpun tanaman tebu yang terserang ketika digoyangkan terasa ringan dan mudah dicabut, karena banyak akar yang berkurang dan pangkal batang rusak akibat serangan hama (Athifa, dkk., 2019).

Menurut Sijabat, dkk. (2018), saluran pencernaan pada larva merupakan penghubung antara lingkungan dengan fisiologis hewan, sehingga kemungkinan secara permanen mengandung mikroba yang berasal dari lingkungan. Bakteri tersebut kemungkinan bersifat patogen ataupun menguntungkan. Larva yang mencerna komponen kayu sebagai nutrisi sering dibantu oleh mikroorganisme dengan berbagai cara diantaranya akuisisi enzim yang dihasilkan mikroba pada substrat yang dicerna, pencernaan pendahuluan substrat oleh mikroorganisme sebelum dicerna, kemudian pengayaan bahan nutrisi dalam bentuk sel mikrobial dan metabolit, selanjutnya pengeluaran dan detoksifikasi zat ekstraktif kayu, mikroba yang hidup diusus menghasilkan dan melepaskan enzim dan mikroorganisme yang bekerja sebagai pengurai yang melepaskan sumber karbon utama untuk asimilasi serangga. Adanya mikroba yang terdapat pada saluran pencernaan larva, menjadikan larva dapat dijadikan sebagai sumber penghasil bakteri.

Bakteri simbiosis larva kumbang tanduk termasuk dalam golongan bakteri termofilik (Sijabat, dkk., 2018). Bakteri termofilik merupakan kelompok bakteri yang memiliki kondisi pertumbuhan optimum pada suhu tinggi. Bakteri termofilik berbeda dengan sel-sel eukariotik, karena kemampuannya untuk beradaptasi dan tumbuh pada suhu tinggi serta kondisi yang sangat ekstrim seperti salinitas tinggi (NaCl jenuh), pH ekstrim (kurang dari 2,0 dan lebih dari 10,0), dan tekanan substrat. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya, bakteri termofilik terdiri atas tiga golongan termofilik 45-65°C dan hipertermofilik 85-110°C, mikroorganisme termofilik tumbuh baik pada suhu antara 55°C hingga 85°C. Pertumbuhan minimum mikroorganisme ini sekitar 45 dan pertumbuhan optimum antara 55°C dan 60°C (Nadila, 2019).



Gambar 9. Kumbang tanduk *Oryctes rhinoceros* L. (Nurfadillah, 2017).

Menurut (Nurfadillah, 2017; Zaini, 1991), klasifikasi hama *Oryctes rhinoceros* L. adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Class	: Insecta
Ordo	: Coleoptera
Family	: Scarabaeidae
Genus	: <i>Oryctes</i>
Species	: <i>Oryctes rhinoceros</i> L.

2.9 Kerangka Pikir dan Hipotesis

2.9.1 Kerangka Pikir

Enzim amilase merupakan salah satu jenis enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri dan menguasai 25% dari pasar enzim dunia. Enzim ini juga banyak dimanfaatkan pada berbagai bidang industri seperti kertas, industri makanan, deterjen, industri biodiesel dan tekstil. Namun, sampai saat ini Indonesia masih mengimpor enzim amilase dari beberapa negara, hal ini dikarenakan masih kurangnya industri lokal yang memproduksi enzim tersebut. Padahal Indonesia memiliki biodiversitas mikroba yang tinggi dan sangat potensial untuk menghasilkan enzim amilase. Salah satu sumber bakteri yang dapat diisolasi yaitu mikroba simbiosis dari larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.).

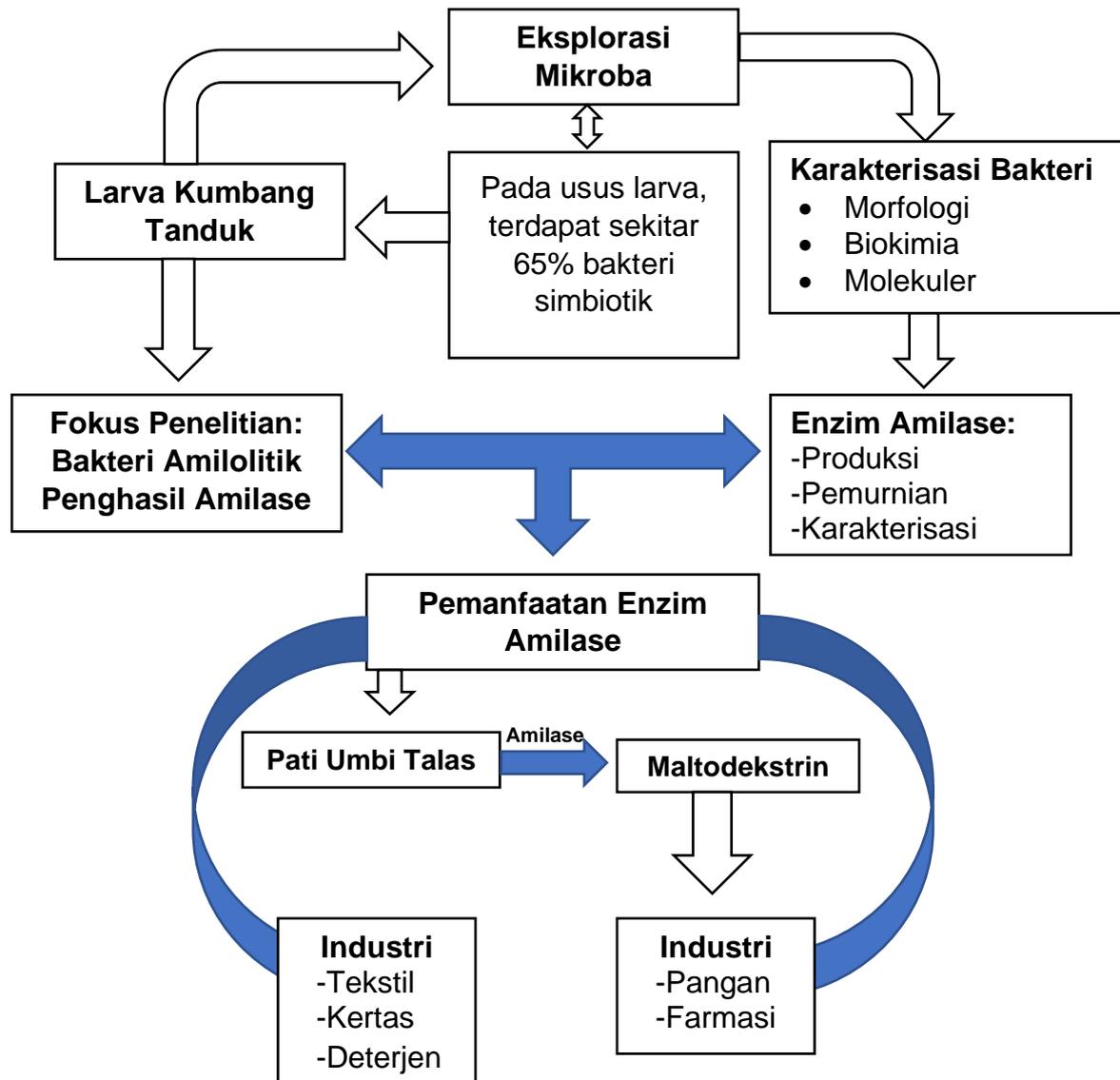
Larva kumbang tanduk *Oryctes rhinoceros* L. merupakan jenis larva dengan famili *Scarabaeidae* dan ordo *Coleoptera*. Kumbang tanduk termasuk hama utama pada tanaman kelapa sawit dan kelapa yang juga disebut sebagai hama penggerek pucuk kelapa. Menurut Sijabat, dkk. (2018), saluran pencernaan pada larva merupakan penghubung antara lingkungan dengan fisiologi hewan, sehingga kemungkinan secara permanen mengandung mikroba yang berasal dari lingkungan. Pada usus larva, terdapat sekitar 65% bakteri simbiotik yang digunakan dalam proses degradasi makanan dalam sistem pencernaannya, sehingga memiliki potensi yang besar untuk dijadikan sebagai sumber penghasil enzim amilase. Salah satu pemanfaatan enzim amilase yang dapat dilakukan adalah dalam pembuatan maltodekstrin.

Maltodekstrin merupakan salah satu produk turunan pati yang dihasilkan dari proses hidrolisis parsial oleh enzim amilase yang memiliki nilai Dekstrosa Ekuivalen (DE) kurang dari 20. Maltodekstrin banyak dimanfaatkan dalam bidang

industri, seperti pembuatan minuman, makanan, serta obat-obatan. Maltodekstrin juga digunakan sebagai bahan pengisi, pengental, dan pengemulsi pada produk dan dapat berfungsi sebagai penyalut proses sistim mikro enkapsulasi. Maltodekstrin dapat diperoleh dari pati umbi talas yang kemudian dihidrolisis dengan menggunakan bantuan katalis.

Menurut Pujiswanto, dkk. (2022), tanaman umbi-umbian seperti talas sangat potensial untuk dapat dimanfaatkan dalam bidang industri karena mempunyai potensi produksi yang cukup besar yaitu mencapai 30 ton/ha. Namun, selama ini penggunaan umbi talas masih terbatas sebagai bahan pangan dalam pembuatan kue dan kripik talas dalam skala kecil. Oleh karena itu, perlu dilakukan diversifikasi produk berbasis pati umbi talas termodifikasi yang memiliki nilai ekonomis yang lebih tinggi dan banyak dibutuhkan pada industri, salah satunya yaitu pembuatan maltodekstrin.

Pendekatan yang dapat dilakukan terkait isolasi dan karakterisasi enzim amilase dari mikroba simbiosis larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) serta aplikasinya dalam pembuatan maltodekstrin pati umbi talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) yaitu: isolasi mikroba simbiosis larva kumbang tanduk, skrining mikroba simbiosis penghasil enzim amilase, produksi enzim amilase, penentuan aktivitas dan karakterisasi serta pembuatan maltodekstrin yang dapat dilakukan dengan menggunakan proses enzimatik. Kerangka pikir penelitian disajikan dalam Gambar 10.



Gambar 10. Kerangka Pikir Penelitian

2.9.2 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Isolat bakteri simbion dari larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) dapat diisolasi dan diidentifikasi spesiesnya.
2. Enzim amilase dari bakteri simbion larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) mempunyai nilai aktivitas dan karakteristik tertentu.
3. Maltodekstrin hasil hidrolisis enzim amilase pada pati umbi talas memiliki karakteristik fisik dan kimia tertentu.