

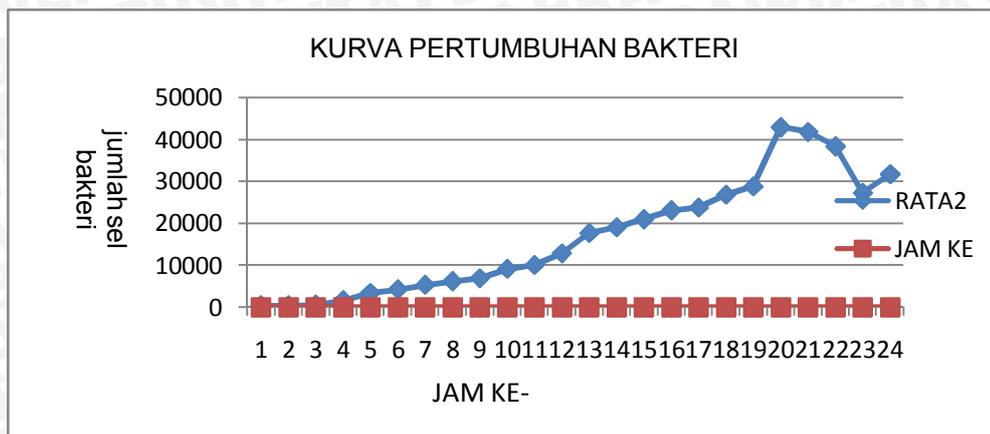
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri *Acinetobacter sp* dapat dipanen pada jam ke 20 yakni pada fase eksponensial. Fase eksponensial dipilih karena pada fase ini merupakan fase pertumbuhan tertinggi dari bakteri itu sendiri. Kurva pertumbuhan bakteri *Acinetobacter sp*. dapat dilihat pada Gambar 6. Menurut Nurwantoro (2003), populasi total bakteri cenderung meningkat seiring dengan penambahan lama waktu penyimpanan. Hal ini dapat diakibatkan bakteri sedang berada dalam fase eksponensial. Semakin banyak bakteri yang dihasilkan maka akan semakin banyak pula metabolit yang dapat dipanen dari bakteri tersebut dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Tabel Pertumbuhan Bakteri *Acinetobacter sp*

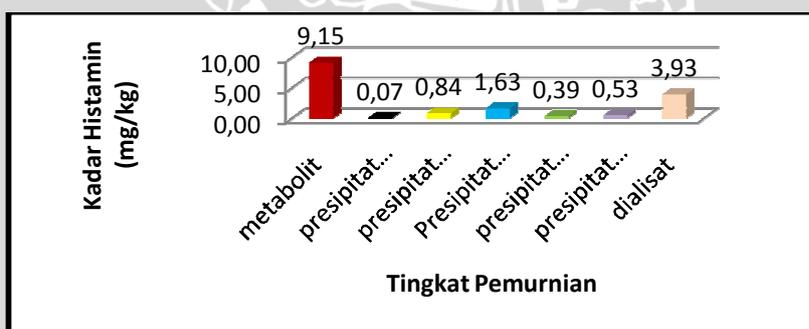
JAM KE	X1	X2	RATA2
1	368	399	383.5
2	448	342	395
3	590	613	601.5
4	1698	1593	1645.5
5	3040	3720	3380
6	4640	3850	4245
7	4870	5690	5280
8	6080	6240	6160
9	6740	7030	6885
10	8350	9880	9115
11	9880	10210	10045
12	13760	11920	12840
13	17540	17740	17640
14	18830	19280	19055
15	21010	20950	20980
16	23230	22970	23100
17	24250	23260	23755
18	27710	25940	26825
19	28430	29150	28790
20	42870	43010	42940
21	41920	41760	41840
22	37750	39010	38380
23	28018	26450	27234
24	26350	37120	31735



Gambar 6. Kurva Pertumbuhan Bakteri *Acinetobacter sp.*

4.2 Hasil Analisa Uji Histamin Dengan Metode Spektrofluorometri

Hasil analisa kadar histamin menggunakan metode spektrofluorometri sesuai dengan SNI 01-2354.10-2009 panjang gelombang exitasi : 350 nm dan emisi : 444 nm pada larutan histidin murni yang telah diberi metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* yang diaerasi selama 24 jam. Tujuannya untuk mencari konsentrasi yang optimum dari histidin murni terhadap kadar histamin dengan menggunakan konsentrasi bertingkat (40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%)



Gambar 7. Grafik perbandingan hasil kadar histamin metabolit, presipitat dan dialisat.

Berdasarkan data pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan tingkat kemampuan sampel dalam menghambat penguraian histidin murni menjadi histamin. Hal ini dikarenakan yang semula metabolit dilakukan proses pemurnian menjadi crude enzim melalui proses presipitasi dan dialisis. Pada sampel metabolit ini mampu menghasilkan kadar histamin sebesar $9,15 \pm 0,60$,

tetapi terjadi penurunan pada sampel presipitat yang hanya mampu menghasilkan kadar histamin sebesar $1,63 \pm 0,28$ dan pada sampel dialisis terjadi kenaikan yang mampu menghasilkan kadar histamin sebesar $3,93 \pm 0,22$, dapat disimpulkan bahwa sampel metabolit bakteri *Acinetobacter* sp mampu menghambat penguraian histidin dengan baik. Menurut buku pedoman mikrobiologi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology-Ninth Editio*, (1994), bahwa bakteri jenis *Acinetobacter* sp dapat menginhibitor senyawa L-Histidin sehingga dapat menghambat penguraian histamin.

4.3 Karakteristik Dialisis

4.3.1 Pengendapan Dengan Amonium Sulfat

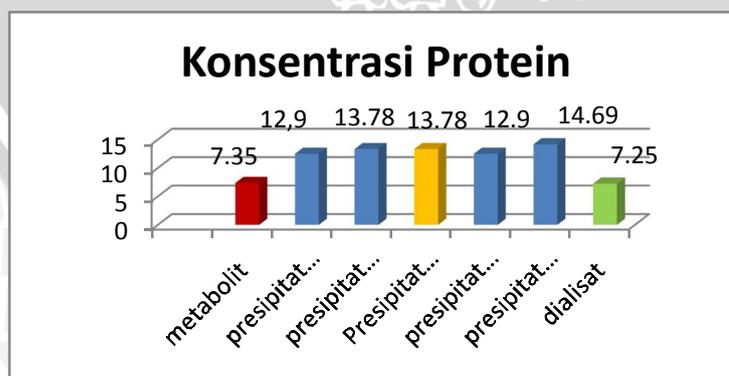
Metabolit bakteri *Acinetobacter* sp hasil pengendapan konsentrasi 60% amonium sulfat digunakan untuk pemurnian tahap selanjutnya. Pada konsentrasi presipitasi 60%, endapan coklat yang diduga merupakan protein kemudian disentrifugasi dan dikumpulkan untuk didialisis. Menurut Farrell & Ranallo (2000), endapan ini merupakan sisa-sisa inti sel yang berbobot molekul besar. Namun ternyata supernatan coklat jernih itu diduga masih mengandung pengotor. Pengotor yang terdapat pada supernatan diperkirakan adalah hancuran mitokondria, peroksisom, lisosom, mikrosom, dan molekul-molekul yang terlarut dalam sitosol. Maka, perlu dilakukan langkah pemurnian selanjutnya untuk membebaskan protein dari pengotor tersebut.

Sampel yang memiliki kandungan garam tinggi harus didialisis, karena berpotensi mengganggu hasil analisis selanjutnya, menggunakan kantung dialisis yang memiliki pori-pori berukuran 10 kD yang dimasukkan ke dalam wadah berisi pelarut akuades yang digunakan untuk menciptakan lingkungan hipotonik di luar membran dialisis. Pori-pori ini menyebabkan molekul garam dan air yang kecil dapat bertukar dengan lingkungan, sementara protein yang

berbobot molekul besar tidak dapat melewatinya (Nelson & Cox 2005 dalam Angky, 2011).

4.3.2 Hasil Pengujian Konsentrasi Protein Dengan Metode BSA

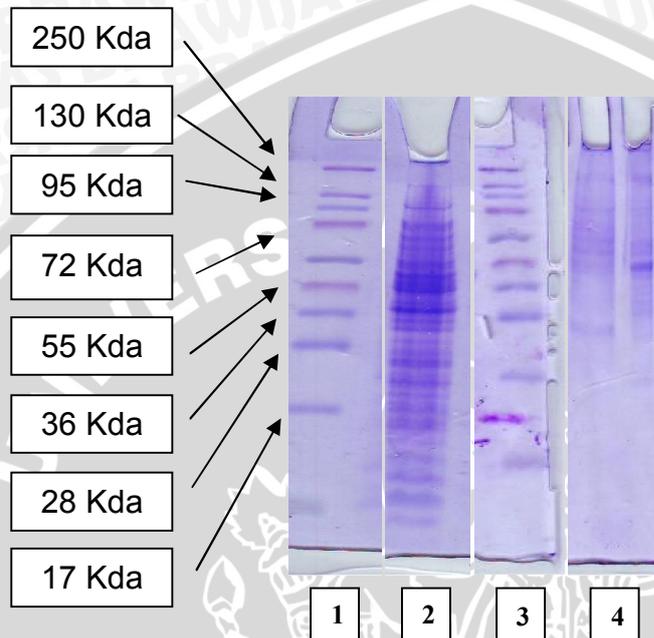
Hasil konsentrasi protein dari metabolit, presipitat dan dialisat dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa konsentrasi protein dialisat adalah 7,246 mg/ml, nilai ini lebih rendah dibanding nilai konsentrasi ekstrak kasar metabolit *Acinetobacter sp.* yang mempunyai nilai sebesar 7,351 mg/ml. Hal ini dimungkinkan karena dalam sampel metabolit bakteri masih terdapat protein yang masih banyak, sedangkan pada sampel dialisat kadar albuminnya sudah hilang sehingga hasil yang didapat lebih rendah dari sampel metabolit. Menurut Angky (2011), konsentrasi protein yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan sampel-sampel sebelumnya, hal ini mungkin disebabkan proses pemisahan protein yang menyebabkan protein sampel terbagi dalam beberapa kelompok sesuai dengan kelarutannya dalam buffer. Menurut Schimidt *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa kantung selofan dengan *molecular weight cutoff* (MWCO) 10 kDa dapat digunakan untuk menghilangkan ion nitrogen, asam amino, atau peptida yang berukuran kecil. Untuk perhitungan konsentrasi protein dapat dilihat pada Lampiran 8 sedangkan grafik perbandingan konsentrasi protein metabolit, presipitat dan dialisat dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik perbandingan perbandingan konsentrasi protein metabolit, presipitat dan dialisat

4.3.3 Hasil Pengujian Berat Molekul Dengan Metode SDS-PAGE

Hasil pengujian berat molekul dengan menggunakan metode SDS-PAGE dapat dilihat pada Gambar 9. Prinsip dari pengujian SDS-PAGE ini adalah pemisahan protein yang berdasarkan pada ukuran molekul.



Gambar 9. Profil pita protein, 1. Marker, 2. Metabolit kasar, 3. Marker, 4. Sebelum dialisat dan Sesudah dialisat.

Pada Gambar 9 memperlihatkan bahwa sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp* tampak menebal karena kadar protein masih banyak. Pita pada sampel presipitat tampak semakin banyak sedangkan pada sampel dialisat terlihat semakin sedikit pita-pita peptidanya. Hal ini diduga karena telah terjadi proses pemurnian dari sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp* sampai sampel dialisat, sehingga mengeluarkan ikatan protein yang mempunyai berat molekul kecil. Menurut Dewi (2006), prinsip analisa SDS-PAGE adalah pemisahan protein berdasarkan berat molekul.

Tabel 3. Berat molekul (kDa) pita peptida metabolit *Acinetobacter sp.*, presipitat dan dialisat 60%

No.	Metabolit (<i>Acinetobacter sp.</i>)	Presipitat	Dialisat
1.	123,5054	125.40007	-
2.	-	-	118.5537
3.	-	94.43153	-
4.	-	-	87.69058
5.	72,20809	-	-
6.	62,2065	61.70814	-
7.	56,88343	57.48396	55.78403
8.	53,59024	-	-
9.	47,5648	-	-
10.	47,21683	-	46.55139
11.	42,21683	-	-
12.	39,77275	-	-
13.	39,77275	-	-
14.	37,47016	-	-
15.	35,0088	-	34.43266
16.	27,809	21.3013	28.73382
Jumlah	13 asam amino	5 asam amino	6 asam amino

Berat Molekul pita peptida pada sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* presipitat 60% dan dialisat dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3 memperlihatkan bahwa berat molekul pita peptida metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* ke dialisat semakin sedikit yakni yang semula terdapat 13 asam amino menjadi 6 asam amino. Hal ini diduga karena keluarnya struktur molekul asam amino akibat perlakuan pemurnian enzim. Pita-pita protein yang hilang kemungkinan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek (Riyanto, 2006). Menurut Prozorovski dan Hal (1973), melaporkan bahwa enzim histidin dekarboksilase memiliki berat molekul 29 kDa dan 110 kDa, menurut Tran dan Snyder (1980), melaporkan bahwa enzim histidin dekarboksilase memiliki berat molekul 210 kDa; 145 kDa dan 66 kDa, Sedangkan menurut Wada et al., (1983), melaporkan bahwa enzim histidin dekarboksilase memiliki berat molekul 110 kDa dan 54 kDa.

Tebalnya pita peptida (banyaknya asam amino) pada sampel dialisat menunjukkan rendahnya kemampuan sampel dalam menghambat penguraian

histidin menjadi histamin. Hal ini lah yang menyebabkan pada sampel dialisat lebih sedikit terdapat asam amino bila dibandingkan dengan sampel metabolit bakteri *Acinetobacter sp.* Dan hasil perhitunnga pengujian SDS-PAGE dapat dilihat pada Lampiran 9.

4.4 Hasil Komulatif Dari 3 Pengujian

Hasil Komulatif dari 3 pengujian pada crude metabolit *Acinetobacter sp.*, amonium sulfat 60% dan dialisat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengujian Dari Sampel Metabolit, Amonium Sulfat 60% dan Dialisat

No.	Sampel	Kadar Histamin	Kadar Protein	SDS-PAGE
1.	Metabolit <i>Acinetobacter sp</i>	9,15 ± 0,60	7,351	13 asam amio
2.	Amonium Sulfat 60%	1,63 ± 0,28	13,778	5 asam amino
3.	Dialisat	3,93 ± 0,22	7,246	6 asam amino

Dari hasil data komulatif 3 pengujian diatas, dapat disimpulkan bahwa metabolit bakteri jenis *Acinetobacter sp* dapat menginhibitor senyawa L-Histidin sehingga dapat menghambat penguraian histidin menjadi histamin.