Uji Potensi Aktivitas Enzim Ektraseluler Amilase, Selulase, Protease dan Gelatinase dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*

Chindy Achika Rori1\*, Febby Ester Fany Kandou2\*, Agustina Monalisa Tangapo3\*

\*Jurusan Biologi FMIPA UNSRAT

E-mail: 1rorichindy99@gmail.com, 2febbykandou@unsrat.ac.id 3agustina.tangapo@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Bakteri endofit merupakan salah satu sumber penghasil senyawa ekstraseluler yaitu enzim. Enzim dari bakteri endofit lebih menguntungkan dan produksinya lebih cepat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan aktivitas enzim ekstraseluler dari bakteri endofit tumbuhan mangrove *Avicennia marina.* Metode penelitian yang digunakan yaitu eksploratif eksperimental, melakukan isolasi bakteri dari tumbuhan mangrove *A. marina* dan selanjutnya dilakukan uji potensi aktivitas enzim ekstraseluler dari isolat bakteri endofit. Hasil isolasi memperoleh tujuh isolat bakteri endofit dari tumbuhan *A. Marina*, isolat endofit tersebut mampu menghasilkan aktivitas enzim ekstraseluler yaitu empat isolat menghasilkan enzim amilase, enam isolat menghasilkan protease, satu isolat menghasilkan selulase dan dua isolat menghasilkan gelatinase. Sebanyak tujuh isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tumbuhan *A. marina* dengan enam isolat mampu menghasilkan aktivitas enzim ekstraseluler.

Kata kunci: Bakteri endofit, Enzim ekstraseluler, *Avicennia marina*

ABSTRACT

Endophytic bacteria ara one source that can produce extracellular compounds, namely enzymes. Enzymes from endophytic bacteria ara more profitable and can produce faster. This study aims to analyze the ability of extracellular enzyme activity from endophytic bacteria in mangrove plants *Avicennia marina*. This research used experimental explorative method, isolating bacteria from mangrove plant *A. marina* and then testing the potential of enzyme extracellular activity from endophytic bacteria isolated. Isolating result obtained seven endophytic bacterial isolates from *A. marina* plants,this endophytic isolates are able to produce extracellular enzyme activity is four isolates can produced amylase enzyme, six isolated can produced protease, one isolated can produced cellulase and two isolated can produce gelatinase. Seven endophytic bacterial isolates were succesfully isolated from *A. marina* plants and six isolates able to produce extracellular enzyme activity.

Keywords: Endophytic bacteria, Extracellular enzyme, *Avicennia marina*

**Pendahuluan**

Endofit merupakan mikroorganisme yang menghabiskan seluruh atau sebagian dari siklus hidupnya di dalam tanaman dan tidak menyebabkan gejala tertentu pada tanaman inangnya tersebut (Hallman *et al*., 1997). Komunitas endofit memberikan keuntungan terhadap tanaman inangnya seperti melindungi tanaman melawan herbivora, serangga, atau patogen, serta mampu menstimulasi pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit dapat diisolasi dari jaringan tanaman yang sehat. Asosiasi bakteri endofit dengan tanaman dapat mempengaruhi produktivitas tanaman secara langsung maupun tidak langsung. Interaksi endofit dengan tanaman inangnya membentuk asosiasi yang saling menguntungkan.

Berbagai penelitian tentang komunitas bakteri yang berasosiasi dengan tanaman sebagai endofit telah berkembang cukup pesat mengingat pentingnya kontribusi komunitas bakteri tersebut. Salah satunya kontribusi dari bakteri endofit yaitu sebagai penghasil enzim. Enzim dari mikroorganisme lebih menguntungkan dan produksinya lebih cepat dibandingkan enzim yang berasal dari tanaman dan hewan. Mikroorganisme yang memproduksi enzim paling banyak digunakan karena pertumbuhannya yang cepat, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik. Robi’a (2012) berhasil memperoleh tiga isolat bakteri endofit penghasil amilase dari tanaman umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). Melliawati *et al.* (2012) memperoleh 86 isolat bakteri endofit penghasil protease yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun. Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang unggul dalam usaha produksi enzim (Pricilia *et al*., 2018).

Berdasarkan kemampuan bakteri endofit yang sangat besar dan keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia ini menjadikan prospek penelitian tentang bakteri endofit dari tumbuhan yang ada di Indonesia sangat besar. Kawasan mangrove merupakan ekosistem utama pendukung kehidupan yang penting di wilayah pesisir dan lautan. Banyak manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan mangrove (Saprudin dan Halida, 2012). Salah satunya yaitu mikroorganisme yang berasosiasi dengan mangrove.

Mangrove memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. *Avicennia marina* merupakan salah satu spesies mangrove yang sangat penting. Sampai saat ini, belum ada laporan penelitian tentang bakteri endofit *A. marina* yang ada di sekitar Kota Manado. Mengingat potensinya sebagai tanaman mangrove yang hidup di daerah tropis sangat besar, maka penelitian tentang bakteri endofit *A. marina* sebagai penghasil enzim ekstraseluler penting untuk dilakukan.Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dan mengeksplorasi kemampuan aktivitas enzim ekstraseluler dari bakteri endofit tumbuhan mangrove *A. marina.*

**Metode**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu deskriptif eksploratif yaitu dengan melakukan isolasi bakteri dari tumbuhan mangrove *A. marina* dan melakukan pengujian potensi aktivitas enzim ekstraseluler dari isolat bakteri endofit. Hasil penelitian dipaparkan secara deskriptif eksploratif berdasarkan tahapan-tahapan penelitian yang dilakukan.

**Pengambilan Sampel**

Sampel daun diambil dari tumbuhan mangrove *A. marina* di Kelurahan Molas, Kecamatan Bunaken, Kota Manado*,* kemudian dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan dalam *cool box*. Selanjutnya sampel langsung dibawa ke Laboratoriun Biologi Lanjut (Mikrobiologi) Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado.

**Isolasi Bakteri Endofit**

Daun yang digunakan sebagai sampel dicuci bersih dengan air mengalir dan disterilisasi permukaan menggunakan natrium hipoklorit selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit, dan dibilas dengan air laut steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran, maupun organisme epifit yang menempel pada permukaannya. Sampel kemudian dikeringkan di atas tisu steril. Sebanyak 10 gr daun dipotong-potong sampai halus, kemudian dimasukkan ke dalam 90 mL NaCl 0,9%, dilakukan secara aseptik. Isolasi bakteri endofit diawali dengan pengenceran berseri dan dilanjutkan dengan metode *spread plate* (metode cawan sebar) pada media TSA. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Selanjutnya diambil koloni-koloni bakteri yang menampakkan morfologi yang berbeda. Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan dengan metode *streak* *plate* pada media NA untuk didapatkan biakan murni atau isolat tunggal.

**Skrinning Bakteri Endofit Penghasil Enzim Ektraseluler**

Uji aktivitas enzim amilase ekstraseluler dilakukan dengan prosedur menurut Bairagi *et al.* (2002). Kultur cair solat-isolat yang diperoleh dari hasil isolasi diinokulasikan ke *paper disc blank* yang telah diletakan pada media yang berisi pepton 5 gr/L, beef extract 3 gr/L, amilum 2 gr/L, dan agar 15 gr/L. Inkubasi pada C selama 48 jam. Larutan lugol’s 1% dituang ke atas kultur, adanya aktivitas enzim amilase ditunjukan oleh terbentuknya zona jernih di sekitar *paper disc* dengan latar belakang biru gelap.

Uji aktivitas enzim protease dilakukan dengan prosedur Bairagi *et al*. (2002). Kultur cair isolat-isolat yang diperoleh dari hasil isolasi diinokulasikan ke *paper disc blank* yang telah diletakan pada media Zobell 2216 E (pepton, beef extract, agar, dan air laut steril) yang diperkaya dengan skim milk (1%) dan di inkubasi pada 32°C selama 15 jam. Aktivitas proteolitik ditunjukkan oleh terbentuknya zona jernih di sekitar *paper disc* dengan latar belakang putih.

Uji aktivitas gelatinase dilakukan dengan cara menyiapkan bahan media gelatin yaitu beef ekstrak 3 gr/L, pepton 5 gr/L, gelatin 120 gr/L. Bakteri yang sudah diinokulasi ke media gelatin disimpan pada suhu ruang selama ± 3 hari. Setelah ditunggu selama ± 3-7 hari amati dengan cara tabung reaksi yang berisi isolat bakteri di simpan ke dalam lemari es dengan suhu C (± 30 menit). Adanya aktivitas enzim gelatinase ditunjukan dengan masih encernya media yang telah diinokulasi setelah dilakukan proses pembekuan pada C.

Uji aktivitas selulase dilakukan dengan medium agar diperkaya CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*). Kultur isolat-isolat yang diperoleh dari hasil isolasi diinokulasikan ke *paper disc blank* yang telah diletakan pada media Zobell 2216 E diperkaya CMC 1%. Larutan Congo Red dituang ke atas kultur untuk mengetahui adanya aktivitas selulase, selanjutnya dibilas dengan NaCl 1M selama ±15 menit. Adanya aktivitas enzim selulase ditunjukan terbentuknya zona bening di sekitar *paper disc*.

**Hasil dan Pembahasan**

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat bakteri endofit berasal dari tumbuhan mangrove *A. marina* di Kelurahan Molas, Kecamatan Bunaken, Kota Manado. Bagian tumbuhan yang digunakan yaitu daun. Daun yang dipilih dalam kondisi segar, berwarna hijau, tidak layu dan tidak ada kerusakan pada daun. Pada penelitian ini sampel daun *A. marina* terlebih dahulu disterilisasi permukaan. Sterilisasi permukaan sampel daun *A. marina* dilakukandengan tujuan agar tidak ada bakteri kontaminan. Berdasarkan penelitian dari Sagita *et al.* (2017), menyatakan sterilisasi permukaan sangat penting dalam mencari bakteri endofit daun agar tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lain yang bukan endofit. Habibah *et al.* (2013) menyatakan sterilisasi permukaan harus dilakukan agar mendapatkan hasil yang baik karena jika tidak steril maka kultur *in vitro* tidak dapat diperoleh. Hasil isolasi memperoleh tujuh isolat murni bakteri endofit.

Hasil uji aktivitas enzim ekstraseluler menunjukan empat isolat positif memiliki potensi menghasilkan enzim amilase, satu isolat positif menghasilkan enzim selulase, enam isolat menghasilkan enzim protease, dan dua isolat memiliki potensi menghasilkan enzim gelatinase. Zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disc* atau isolat menunjukkan isolat bakteri endofit mampu menghasilkan enzim (Gambar 1).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| A | b | c |

Gambar 1. Hasil uji aktivitas enzim ekstraseluler yang menunjukkan zona bening (a) amilase (b) selulase (c) protease

Ketujuh isolat bakteri endofit yang telah dimurnikan dan telah dikarakterisasi berdasarkan morfologi isolat, pewarnaan Gram, dan pengujian secara biokimia kemudian diuji aktivitas enzim ekstraseluler. Enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme lalu disekresikan ke dalam media ada sering disebut enzim ekstraseluler (Choi et al. 2005). Uji aktivitas enzim ekstraseluler yang dilakukan yaitu uji aktivitas enzim amilase, protease, selulase, dan gelatinase. Metode yang umum digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas enzim ekstraseluler pada mikroba adalah metode *plate assay*. Pada uji ini menggunakan medium yang mengandung substrat tertentu dan zat pewarna kromogenik. Analisis kualitatif aktivitas enzim amilase, selulase dan protease dilakukan dengan pengukuran zona bening yang terbentuk di sekitar koloni, sedangkan untuk gelatinase dilihat dengan terurainya substrat pada medium yang tetap cair pada suhu 4ºC.

Berdasarkan zona bening yang terbentuk menunjukkan masing-masing isolat memiliki kemampuan yang bervariasi dilihat dari perbedaan nilai indeks rasio aktivitas enzim. Nilai indeks rasio dihitung dari diameter zona bening dibagi diameter kertas atau diameter isolat (Choi et al. 2005). Indeks rasio aktivitas enzim bertujuan untuk melihat atau menentukan besarnya kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan enzim. Kurniawan (2017) menyatakan bakteri yang membentuk zona bening dan diameter isolat diukur dengan menggunakan nilai indeks sehingga dapat mengetahui isolat dengan indeks rasio tertinggi merupakan isolat yang potensial untuk dioptimasi lebih lanjut. Menurut Choi et al. (2005), reaksi enzim ekstraseluler menunjukkan reaksi kuat jika rasio enzim ekstraseluler lebih dari sama dengan dua; jika rasio enzim ekstraseluler memiliki nilai antara satu dan dua maka reaksi sedang; dan apabila rasio enzim ekstraseluler kurang dari sama dengan satu maka reaksi lemah.

**Aktivitas Enzim Amilase**

Hasil uji aktivitas enzim amilase dari ketujuh isolat bakteri endofit, terdapat empat isolat yaitu isolat B, I, J dan K yang menunjukkan hasil positif dengan ditandai adanya zona bening disekitar *paper disc* pada media agar selektif amilum. Dari keempat isolat bakteri endofit, perbedaan ukuran zona bening menunjukkan adanya perbedaan kemampuan menghasilkan enzim amilase (Tabel 1). Hasil yang diperoleh menunjukkan nilai indeks rasio dari keempat isolat yang positif bervariasi.

Tabel 1. Diameter Isolat dan Zona Bening pada Uji Aktivitas Enzim Amilase dari Isolat Bakteri Endofit

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Kode Isolat | Rataan ± Standar Deviasi | | | | Rasio indeks |
| Diameter Isolat | | Diameter Zona Bening | |
| A | 0,92±0,08 | - | | - | |
| B | 0,75±0,05 | 1,08±0,13 | | 1,44 | |
| C | - | - | | - | |
| I | 0,78±0,04 | 1,12±0,08 | | 1,44 | |
| J | 0,79±0,02 | 1,76±0,09 | | 2,23 | |
| K | 1,16±0,09 | 2,1±0,34 | | 1,81 | |
| O | 0,72±0,04 | - | | - | |

Hasil penelitian yang telah diperoleh menunjukkan aktivitas enzim yang di ukur berdasarkan nilai indeks rasio yang tertinggi dihasilkan oleh isolat J dengan nilai rasio 2,23 (Gambar 1a) yang terendah pada isolat B. Hasil pengukuran menunjukkan potensi isolat kode J termasuk kategori kuat. Semakin tinggi indeks rasio maka semakin besar pula potensi isolat bakteri endofit dalam menghasilkan aktivitas enzim amilase pada media. Isolat bakteri endofit yang memiliki nilai indeks rasio tertinggi merupakan isolat yang potensial untuk di optimasi lebih lanjut. Zona bening yang terbentuk disekitar isolat menunjukkan adanya aktivitas isolat amilolitik, yaitu kemampuan isolat dalam menghidrolisis media selektif yang terdapat pada medium pertumbuhan dengan menghasilkan amilase (Asadullah, 2014). Enzim amilase bekerja dengan memecah amilum menjadi senyawa sederhana. Seperti pernyataan Pricilia *et al.* (2018), besarnya zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc* yang telah terkandung isolat endofit menandakan banyaknya glukosa yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis pati oleh amilase.

**Uji Aktivitas Enzim Selulase**

Uji aktivitas enzim selulase dari ketujuh isolat bakteri endofit, berhasil memperoleh satu isolat yang menunjukkan hasil positif (Tabel 2) dengan ditandai adanya zona bening disekitar paper disc pada media agar selektif CMC 1%. Substrat CMC merupakan substrat murni yang mudah dihidrolisis oleh enzim. Bakteri yang mampu memproduksi selulase dapat dilihat dengan menambahkan larutan reagen Congo Red.

Tabel 2. Diameter isolat dan zona bening pada uji aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri endofit

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Kode Isolat | Rataan ± Standar Deviasi | | Rasio indeks |
| Diameter Isolat | Diameter Zona Bening |
| A | 0,98±0,09 | - | - |
| B | 0,72±0,04 | - | - |
| C | - | - | - |
| I | 0,92±0,11 | - | - |
| J | 0,74±0,05 | 1,42 ± 0,08 | 1,92 |
| K | 1,5±0,46 | - | - |
| O | 1,06±0,11 | - | - |

Menurut Anand et al. (2009) Congo Red akan berikatan secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan β-1,4 glikosida, polisakarida yang terkandung dalam media uji adalah CMC. Warna merah menunjukkan sisa selulosa yang tidak terhidrolisis sehingga terjadi pembentukan selulosa Congo Red. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat dengan jelas melalui pencucian menggunakan NaCl 1 M. Zona bening yang terbentuk menunjukkan enzim selulase sangat aktif memecah selulosa seperti CMC menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa. Fatichah (2011) menyatakan perombakan CMC oleh enzim selulase memutuskan turunan selulosa seperti CMC menghasilkan selodekstrin, selobiosa, dan glukosa.

Pada penelitian ini, rasio zona bening yang dihasilkan dari ketujuh isolat hanya satu isolat yang berhasil menghidrolisis media CMC atau positif, yaitu kode isolat J (Gambar 1b). Perbedaan indeks rasio aktivitas enzim selulase ini karena masing-masing isolat mempunyai potensi yang berbeda dalam menguraikan substrat dalam media tersebut. Saraswati *et al* (2006) aktivitas enzim secara kuantitatif dinilai dari rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni bakteri. Zona bening yang terbentuk di sekitar isolat disebabkan oleh isolat mampu menghasilkan enzim selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi glukosa.

Pengamatan kuantitatif dilakukan dengan melihat nilai indeks rasio. Semakin besar indeks selulase pada isolat maka semakin besar pula aktivitas enzim selulase yang dihasilkan (Apun et al. 2000). Menurut Fatichah (2011), besarnya nilai aktivitas enzim yang diperoleh bervariasi dan semakin besar indeks selulase yang dihasilkan oleh bakteri endofit maka semakin besar pula zona hidrolitik enzim selulase pada media CMC-agar. Kemampuan dari bakteri dalam menghasilkan enzim sangat bervariasi. Penelitian dari Meryandini et al. (2009) menyatakan zona bening yang dihasilkan oleh setiap bakteri berbeda-beda karena setiap bakteri menghasilkan kompleks enzim selulase yang bervariasi, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui besarnya nilai indeks rasio bervariasi. Razie, et al. (2011), memperoleh kisaran nilai indeks rasio dengan kategori sedang hingga kuat yaitu dengan nilai 1,84 – 2,29.

Dalam industri penggunaan selulase untuk memproduksi glukosa yang erat kaitannya dengan industri alkohol, sirup glukosa, sirup frukstosa dan dekstrosa. Penelitian dari Alam et al. (2004) menyatakan bahwa bakteri lebih sering digunakan karena pertumbuhannya lebih cepat bila dibandingkan dengan mikroorganisme lain sehingga proses pendegradasiannya dapat lebih singkat.

**Uji Aktivitas Enzim Protease**

Hasil uji aktivitas enzim protease yaitu dari ketujuh isolat bakteri endofit menunjukkan hanya satu isolat yang negatif atau tidak berpotensi menghasilkan enzim protease. Dari hasil yang diperoleh isolat bakteri endofit yang menghasilkan enzim protease lebih banyak dibandingkan enzim yang lain. Diameter zona bening pada uji aktivitas enzim protease berkisar antara 1,41 – 2,5 cm, dengan kisaran rasio indeks antara 1,47 sampai 1,81 (Tabel 3). Perbedaan nilai indeks rasio dari zona bening yang ada menunjukkan variasi kemampuan menghidrolisis substrat dari masing-masing isolat bakteri endofit.

Tabel 3. Diameter isolat dan zona bening pada uji aktivitas enzim protease dari isolat bakteri endofit

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Kode Isolat | Rataan ± Standar Deviasi | | | | Rasio indeks | |
| Diameter Isolat | | Diameter Zona Bening | |
| A | 1,68±0,31 | 2,5 ± 0,354 | | 1,49 | |
| B | 0,78±0,04 | 1,41 ± 0,055 | | 1,81 | |
| C | - | - | | - | |
| I | 0,89±0,11 | 1,54 ± 0,152 | | 1,73 | |
| J | 1,36±0,13 | 2,04 ± 0,18 | | 1,50 | |
| K | 1,17±0,08 | 1,72 ± 0,084 | | 1,47 | |
| O | 1,36±0,36 | 2,14 ± 0,371 | | 1,57 | |

Isolat bakteri endofit yang positif ditandai dengan adanya zona bening di sekitar isolat pada media skim milk. Zona bening terbentuk di sekitar koloni menandakan bahwa bakteri mampu menghidrolisis substrat (Gambar 1c). Perbedaan kemampuan yang dihasilkan oleh isolat endofit dalam melakukan aktivitas enzim dilihat dari besarnya indeks rasio enzim. Indeks rasio enzim protease yang dihasilkan jika semakin tinggi maka semakin kuat kemampuannya dalam menghasilkan enzim. Soeka dan Sulistiani (2014) menyatakan bahwa terbentuknya zona bening yang dihasilkan oleh bakteri uji berarti bakteri mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler. Berdasarkan perbedaan nilai indeks rasio yang dihasilkan oleh isolat-isolat bakteri endofit menunjukkan variasi kemampuan dari ketujuh isolat dalam menghidrolisis substrat yang ada.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas enzim protease tertinggi yaitu isolat B dengan nilai indeks rasio yaitu 1,81. Semakin tinggi nilai rasio, semakin besar kemampuan bakteri menghasilkan atau melakukan aktivitas enzim protease. Produksi enzim protease dipengaruhi oleh faktor waktu produksi enzim. Semakin cepat pertumbuhan bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim amilase, maka akan semakin besar zona bening terbentuk. Pertumbuhan bakteri yang sangat cepat mempengaruhi besarnya zona bening. Berdasarkan penelitian Pricillia et al. (2018), menyatakan besarnya zona bening yang terbentuk di sekitar isolat menunjukkan banyaknya produk yang dihasilkan dari hidrolisis protein oleh protease dan terjadinya pemutusan ikatan peptida pada protein oleh protease menjadi unit peptida yang lebih kecil, hidrolisis sempurna dari protein akan menghasilkan asam amino. Abdul (2009), enzim protease mampu memecah protein kasein yang terdapat pada susu skim menjadi peptida-peptida yang lebih sederhana dan asam amino.

**Uji Aktivitas Enzim Gelatinase**

Hasil uji aktivitas enzim gelatinase dari isolat bakteri endofit menunjukkan dua isolat mampu menghasilkan enzim gelatinase atau positif melakukan aktivitas enzim gelatinase (Tabel 4). Uji gelatinase dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri endofit pada media skrining gelatinase yang mengandung substrat. Media ini berfungsi untuk skrining bakteri yang dapat menghasilkan enzim gelatinase. Apabila isolat bakteri endofit positif gelatinase maka media gelatin akan tetap cair pada suhu 4°C selama 30 menit. Menurut Nursyam dan Prihanto (2018), penghasil gelatin terbaik yaitu ditandai dengan semakin encernya media setelah didinginkan.

Tabel 4. Uji aktivitas enzim gelatinase dari isolat bakteri endofit

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kode Isolat | Aktivitas Enzim Gelatinase | |
| Keruh | Cair (4°C selama 30 menit) |
| A | + | + |
| B | - | - |
| C | - | - |
| I | - | - |
| J | + | + |
| K | - | - |
| O | - | - |

Keterangan: Tanda (+) positif berpotensi memiliki aktivitas enzim gelatinase

Tanda (-) negatif berpotensi memiliki aktivitas enzim gelatinase

Berdasarkan hasil yang tertera pada tabel 6, menunjukkan hanya dua isolat yang berhasil melakukan atau menghasilkan hidrolisis gelatin yaitu isolat endofit kode A dan J (Gambar 9). Penghasil gelatinase ditandai dengan perubahan warna media dan cairnya media walaupun dibekukan. Perubahan warna media yang menjadi keruh karena adanya pertumbuhan isolat bakteri pada media, serta cairnya media menunjukkan aktivitas bakteri yang merombak gelatin yang menjadi substrat di medium (Prihanto et al., 2018). Penelitian dari Nursyam dan Prihanto (2018) memperoleh hasil aktivitas enzim gelatinase pada isolat bakteri endofit yang terdapat pada daun memiliki kategori tinggi ditandai dengan cairnya media gelatin.

|  |  |
| --- | --- |
| a | b |

Gambar 2. Hasil uji aktivitas enzim gelatinase menghidrolisis media gelatin ditandai dengan keruh dan cairnya media pada suhu 4°C (a) isolat A, (b) isolat J.

Enzim gelatinase merupakan enzim yang berperan penting pada sektor indutri pangan dan non pangan. Gelatin pada pangan berfungsi sebagai pengatur keseimbangan, pengembang, pembentuk gel, pengental, dan sebagainya. Menurut Smith dan Goodner (1958), bakteri penghasil gelatinase dapat menghidrolisis gelatin menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti asam amino. Sejalan dengan Foox dan Zilberman (2015) menyatakan enzim gelatinase pada saat ini mendapat banyak perhatian sebagai target pengembangan obat karena potensinya sebagai penghantar obat-obatan dan bioaktif. Potensi gelatinase untuk menghasilkan produk hidrolisat gelatin, meningkatkan permintaan enzim ini.

**Kesimpulan**

Hasil penelitian memperoleh tujuh isolat bakteri endofit tumbuhan *A. marina,* sebanyak empat isolat menghasilkan enzim amilase, enam isolat menghasilkan protease, satu isolat menghasilkan selulase dan dua isolat menghasilkan gelatinase.

**Daftar Pustaka**

Abdul (2009) Karakterisasi Sifat Biokimia Hasil Penapisan Isolat Bakteri Kitinolitik. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fmipa Universitas Haluoleo. Haluoleo.

Alam, M.Z., Manchulur, M.A., dan Anwar, M.N (2004) Isolation Purification, Cellulolytic Characterization of by Enzyme Produced the Isolate Streptomyces omiyaensis. *Pakistan Journal Biology Science*. 7(10):1647-1653.

Anand, Vennison, Sankar, Prabhu, Vasan, Raghuraman, Geoffrey, dan Vendan (2009) Isolation and Characterization of Bacteria from the Gut Of *Bombyx Mori* that Degrade Cellulose, Xylan, Pectin and Starch and Their Impact on Digestion. *J of Insect Science*. 10(107): 1-20.

Asadullah, M (2014) Isolasi Bakteri Amilolitik dari Bekatul dan Uji Kemampuan Untuk Produksi Enzim Amilase Kasar Pada Berbagai Jenis Media Produksi. *Skripsi.* Fakultas Sains dan Teknologi UIN. Malang.

Apun, K., Jong, B.C, dan Salleh, M.A (2000) Screening and Isolation of A Cellulolytic and Amylolitic *Bacillus* from Sago Pith Waste. *J of Gen. Appl. Microbiol.* 46: 263 -267.

Bairagi, A., Ghosh, K.S., dan Sen, S.K (2002) Enzyme Producing Bacterial Flora from Fish Digestive Tracts. *Aquaculture International* 10(2): 109-121.

Cappuccino, J.G. dan Sherman, N (2005) *Microbiology A Laboratory Manual* *sevent edition.* State University, Rockland Community College, New York.

Choi, Y.W., Hodgkiss, I.J. dan Hyde, K.D (2005) Enzyme Production By Endophyte Of Brucea Javanica. *Jurnal Of Agriculture Teknologi* 1: 55-66.

De Carvalho, R.V., Gambacorta, A., dan Silva, J (2008) Properties of an amylase from thermophillic *Bacillus* sp. *Brazillian Journal of Microbiology* 39: 102-107.

Fatichah, N.F.Y (2011) Potensi Bakteri Endofit Sebaai Penghasil Enzim Kitinase, Protease dan Selulase Secara *In Vitro.* *Skripsi.* Universitas Islam Negeri Malang. Malang.

Foox M, Zilberman M (2015) Drug delivery from gelatin-based systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 12(9): 1547- 1563

Habibah, N.A., Sumadi., Ambar, A (2013) Optimasi Sterilisasi Permukaan Daun dan Eliminasi Endofit pada Burahol. *Biosaintifika.* 5 (2): 95-99.

Haggag, W.M (2010) Role of endophytic microorganisms in biocontrol of plant disease. *Journal Life Science* 7: 57–62.

Kusumawati, D.E., Fachriyan, H.P., Maria, B (2014) Aktivitas antibakteri isolat endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellariodes* L. *Benth) terhadap Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.* *Jurnal Current Biochemistry* 1(1): 45-50.

Lynd L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl and I. S. Pretorius (2002) Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev* 66 (3): 506-577.

Melliawati, R., Rohmattusolihat., Nuryati., Rahmani, N., dan Yopi (2016) Seleksi Dan Identifikasi Bakteri Endofit Potensial Penghasil Enzim Protease Dari Taman Nasional Gunung Halimun. *Bioprodal Industri* 7(2): 73-82.

Nascimento, W.C, dan Martins (2006) Studies on the stability of protease from *Bacillus* sp. and its compatibility with commercial detergent. *Brazilian Journal of Microbiology* 37: 307-311.

Nursyam, H dan Prihanto, A (2018) Identifikasi Molekuler Bakteri Endofit Mangrove *Rizhopora mucronata* Penghasil Gelatinase (MMP2). *JPHPI*. 21(1) : 143-147.

Nurmalinda, A., Periadnadi, dan Nurmiati (2013) Isolasi dan Karakterisasi Parsial Bakteri Indigebous Pemfermentasi dari Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 2(1): 8-13.

Pricilia, S., Astuti, W., dan Marliana, E (2018) Skrining Bakteri Endofit Penghasil Amilase, Lipase Dan Protease Dari Daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f.*Jurnal Atomik* 3(2) : 102-105.

Prihanto, A. A., Firdaus, M., dan Nurdiani, R (2011) Endophytic Fungi Isolated from Mangrove (*Rhyzopora mucronata*) and Its Antibacterial Activity on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli. Journal of Food Science and Engineering* 1: 386-389.

Prihanto, A. A., Timur, H., Jaziri, A., Nurdiani, R., Pradarameswari, K (2018) Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Soneratia alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indoneisan Journal of Halal* 1(1) 31-42.

Robi’a (2012) Skrining Bakteri Endotifik dari Umbi Tanaman Dahlia *(Dahlia variabilis)*. *Skripsi.* FMIPA Universitas Riau. Pekan Baru.

Sagita, D., Suharti, N., dan Azizah, N (2017) Isolasi Bakteri Endofit Dari Daun Sirih (*Piper betle* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus. Jurnal Iptek Terapan* 11(1): 65-74.

Saprudin, dan Halidah (2012) Potensi dan nilai manfaat langsung hutan mangrove di Kabupaten Sinjai Sulsel. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 9(3) : 213-219.

Saran, S., Isar, J. & Saxena, R.K (2007) A modified method for the detection of microbial proteases on agar plates using tannic acid. *J. Boichem. Bioph. Meth*.. 70: 697-699.

Saraswati, dan Sumarno (2008) Pemanfaatan mikroba penyubur tanahsebagai komponen teknologi pertanian. *Iptek tanaman pangan* 3(1): 41-58.

Smith, H.L., dan Goodner, K (1958) Detection of Bacterial Gelatinases by Gelatine-Agar Plate Methods. *Journal of Bacteriology* 662-665

Soeka, Y.S, dan Sulistiani, S (2017) Karakterisasi Enzim Protease dari Bakteri *Stenotrophomonas* sp. Asal Gunung Bromo, Jawa Timur. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati* 16(2): 203-211.