

**SKRINING BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL AMILASE, LIPASE DAN PROTEASE DARI
DAUN *Syzygium myrtifolium***

**SCREENING BACTERIAL OF ENDOPHYTIC PRODUCING AMYLASE, LIPASE AND
PROTEASE FROM LEAVES OF *Syzygium myrtifolium***

Rahmaniah*, Winni Astuti, Ritbey Ruga

Program Studi S1 Kimia FMIPA Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No.4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda-Indonesia
*Corresponding Author, email: winniastuti@gmail.com

Received: 3 May 2022, Accepted: 20 May 2022

ABSTRACT

Endophytic bacteria are microorganisms that throughout or part of their life cycle inside plants and will not appear certain symptoms on the plant itself. Endophytic bacteria can produce enzymes. Enzymes produced by bacterial endophytes are more beneficial because the production time is faster. One of the plants that contain bacteria is Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*). This study aims to isolate endophytic bacteria from leaves of Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*) and to screen these endophytic bacteria as amylase, lipase and protease producers. The results of this study were obtained there are 24 isolates of endophytic bacteria from Pucuk Merah leaves. A total of 19 bacterial isolates from 24 bacterial isolates produce amylase, 1 isolate produce lipase and 24 isolates produce protease.

Keywords: *Endophytic bacteria, Syzygium myrtifolium, Amylase, Lipase, Protease.*

PENDAHULUAN

Tanaman Pucuk Merah dijadikan sebagai tanaman hias. Ciri khas yang dimiliki oleh tanaman Pucuk Merah yaitu ujung daun mudanya berwarna jingga kemerahan [6]. Pucuk merah adalah suatu tanaman perdu yang daunnya berwarna hijau, kaya akan fenol, flavonoid antioksidan, dan asam betulinic [1]

Bakteri endofit merupakan bakteri yang menghabiskan seluruh ataupun sebagian dari siklus hidupnya di dalam tanaman dan tidak mengakibatkan gejala tertentu pada tanaman inangnya. Keberadaan endofit menguntungkan inangnya karena dapat melindungi tanaman melawan serangga, atau patogen, serta mampu membantu pertumbuhan tanaman. Bakteri endofit dapat menghasilkan enzim. Enzim yang diperoleh dari bakteri endofit menguntungkan dikarenakan waktu produksinya lebih cepat [Rori]. Menurut Kusumawati [3] memanfaatkan bakteri endofit suatu tanaman merupakan cara yang efektif dibandingkan mengekstrak tanaman tersebut. Hal ini dikarenakan dapat menghemat waktu dan jumlah tanaman yang dibutuhkan sedikit.

Beberapa penelitian terkait bakteri endofit salah satunya adalah dimanfaatkan sebagai penghasil enzim ekstraseluler. Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang bakteri endofit penghasil enzim ekstraseluler

yaitu pada penelitian Ginting dkk (2020) diperoleh 19 isolat bakteri endofit tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) diantaranya 5 isolat menunjukkan adanya aktivitas amilase. yaitu penelitian yang dilakukan oleh Rori dkk 2020 diperoleh hasil yaitu dari 7 isolat bakteri endofit tumbuhan *Avicennia marina* terdapat 4 isolat bakteri endofit yang menunjukkan aktivitas enzim amilase dan sebanyak 6 isolat menunjukkan aktivitas enzim protease. Penelitian yang dilakukan oleh Pricilia 2018 diperoleh hasil yaitu sebanyak 8 isolat menunjukkan positif amilase, sebanyak 7 isolat menunjukkan positif lipase dan sebanyak 4 isolat positif menunjukkan protease.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit dari daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*) dan menskrining bakteri-bakteri endofit tersebut sebagai penghasil amilase, lipase dan protease.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan yaitu cawan petri, inkubator, freezer, tabung reaksi, pipet tetes, gelas ukur, gelas kimia 100 mL, labu Erlenmeyer, hot plate, magnetic stirrer, laminar air flow, jarum ose, neraca analitik, pipet mikro (20-200) µL, pipet mikro (100-

1000) μL , tip 100 dan 1000 μL , *autoclave*, bunsen, *shaker waterbath* dan sentrifugasi.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel isolat bakteri endofit dari daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*), alkohol 75%, wipol, tisu, aquades, kapas, kain kasa *yeast extract*, *trypton*, *Nutrient Agar*, iodium, NaCl, amilum, rhodamin B, susu skim, aluminium foil dan plastik *wrap*.

Prosedur Penelitian

Isolasi bakteri endofit

Permukaan daun Pucuk Merah dicuci menggunakan air mengalir, Bayclin (NaClO 5,2%), etanol 95% dan akuabides steril. Kemudian disinari menggunakan lampu UV selama 30 menit. Lalu, sampel daun Pucuk Merah yang disterilkan dipotong kecil-kecil dan disebar pada permukaan media padat *nutrient agar* (NA) dan diinkubasi selama 16-18 jam pada suhu 37°C . Daerah keruh di sekitar sampel menandakan adanya bakteri endofit yang tumbuh. Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari media padat *nutrient agar* (NA) dibiakkan pada media cair dengan mengambil satu ose bakteri endofit dan diinokulasi ke dalam 5 mL media cair Luria Bertani (0,5 % yeast, 1% tripton dan 1% NaCl) steril. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam hingga diperoleh kultur bakteri endofit.

Pembuatan kultur gliserol stok

Isolat bakteri endofit yang telah dimurnikan masing-masing dibuat menjadi gliserol stok. Sebanyak 800 μL dimasukkan ke dalam abung mikro dan ditambahkan isolat bakteri endofit sebanyak 200 μL . Campuran dihomogenkan dan disimpan pada suhu -20°C .

Skrining isolat bakteri endofit penghasil Amilase

Media padat *nutrient agar*-amilum dibuat dengan campuran 2,2% *nutrient agar* dan 1% amilum. Skrining dilakukan dengan cara menumbuhkan 1 ujung jarum ose dari masing-masing isolat bakteri endofit daun Pucuk Merah pada permukaan media padat *nutrient agar*-amilum dengan metode *streak* (*goresan*) kemudian ditumbuhkan selama ± 72 jam pada suhu 37°C . Uji aktivitas amilase dilakukan dengan meneteskan larutan iodin pada media padat *nutrient agar*-amilum mengandung isolat bakteri endofit.

Skrining isolat bakteri endofit penghasil Lipase

Media yang digunakan dibuat menggunakan campuran 2,2% *nutrient agar* dan 1% *olive oil*. Media yang telah disterilisasi ditambahkan dengan rhodamin

B steril secara aseptik di dalam *laminar air flow cabinet*. Skrining dilakukan dengan cara menumbuhkan 1 ujung jarum ose dari masing-masing isolat bakteri endofit daun Pucuk Merah pada permukaan media yang mengandung *olive oil* dan rhodamin B dengan metode *streak* (*goresan*) kemudian ditumbuhkan selama ± 72 jam pada suhu 37°C . Uji aktivitas lipase dilihat dengan mengamati adanya pendar pada isolat bakteri di bawah sinar UV.

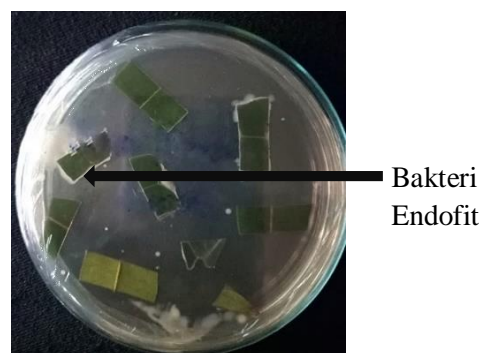
Skrining isolat bakteri endofit penghasil Protease

Media *Skim Milk Agar* (SMA) dibuat dengan campuran 2,2% *nutrient agar* dan 1% susu skim. Skrining dilakukan dengan cara menumbuhkan 1 ujung jarum ose dari masing-masing isolat bakteri endofit daun Pucuk Merah pada permukaan media SMA dengan metode *streak* (*goresan*) kemudian ditumbuhkan selama ± 72 jam pada suhu 37°C . Uji aktivitas protease dilakukan dengan mengamati zona bening yang terbentuk pada media SMA setelah waktu inkubasi

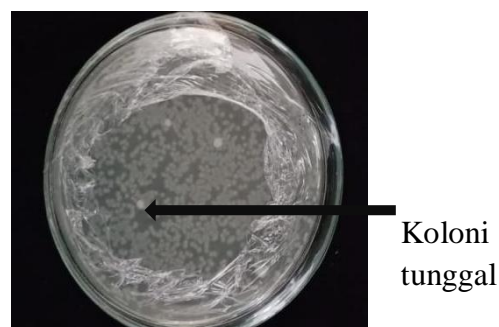
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri endofit

Hasil isolasi bakteri daun *Syzygium myrtifolium* ditandai dengan daerah keruh yang terdapat disekitar sampel seperti ditunjukkan pada gambar 1. Bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari media padat *nutrient agar* (NA) dibiakkan pada media cair LB hingga diperoleh kultur bakteri endofit. Berdasarkan hasil isolasi yang dilakukan diperoleh sebanyak 24 koloni tunggal seperti gambar 2.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri endofit



Gambar 2. Hasil pemurnian bakteri endofit Skrining Isolat Bakteri Endofit Penghasil Enzim

Hasil skrining isolate bakteri endofit daun *Syzygium myrtifolium* terhadap potensi penghasil amilase, lipase dan protease. Menunjukkan pada isolat bakteri endofit daun *Syzygium myrtifolium* sebagian besar isolat memiliki potensi sebagai penghasil amilase, lipase dan protease. Hasil skrining bakteri endofit dapat dilihat pada table 1.

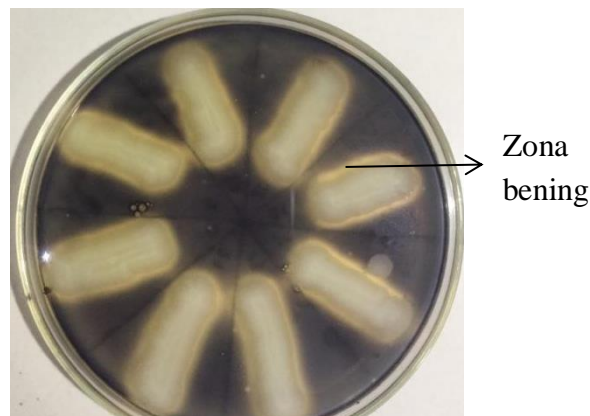
Tabel 1. Hasil skrining bakteri endofit penghasil enzim ekstraseluler

Kode Koloni	Enzim Ekstraseluler		
	Amilase	Lipase	Protease
SM1	+	-	+
SM 2	+	-	+
SM 3	-	-	+
SM 4	-	-	+
SM 5	+	-	+
SM 6	+	-	+
SM 7	-	-	+
SM 8	+	-	+
SM 9	+	-	+
SM 10	+	-	+
SM 11	+	-	+
SM 12	+	-	+
SM 13	+	-	+
SM 14	+	-	+
SM 15	+	-	+
SM 16	+	-	+
SM 17	+	-	+
SM 18	+	-	+
SM 19	+	-	+
SM 20	-	+	+
SM 21	+	-	+
SM 22	+	-	+
SM 23	-	-	+
SM 24	+	-	+

Ket : (+) positif mengandung enzim ekstraseluler
 (-) negatif mengandung enzim ekstraseluler

Pada skrining isolat bakteri penghasil amilase diperoleh hasil yaitu dari 24 isolat bakteri endofit, 19 diantaranya menunjukkan potensinya sebagai penghasil amilase. Uji aktivitas amilase ditandai dengan adanya zona bening disekitar isolat bakteri endofit. Zona bening yang terbentuk menandakan bahwa pati yang terkandung di dalam media terhidrolisis oleh enzim amilase pada isolate bakteri endofit. Zona bening dapat dilihat dengan meneteskan larutan iodine yang bertujuan mendeteksi polisakarida berupa amilosa [2]. Menurut Sumardjo [7], pada umumnya polisakarida akan membentuk rantai melingkar (heliks), sehingga mampu bereaksi dengan

iodin, sedangkan pada karbohidrat berantai pendek tidak dapat membentuk struktur heliks sehingga tidak mampu bereaksi dengan larutan iodine. Besarnya zona bening yang terbentuk menandakan banyaknya amilum yang terhidrolisis menjadi glukosa.



Gambar 3. Hasil skrining aktivitas amilase

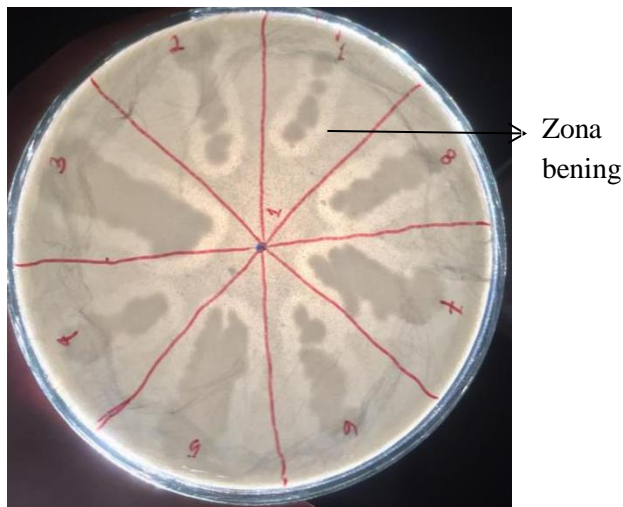
Pada skrining isolat bakteri penghasil lipase diperoleh hasil yaitu dari 24 isolat bakteri endofit, 1 diantaranya menunjukkan potensi sebagai penghasil lipase. Pendar yang dihasilkan pada isolat yang disinari UV dikarenakan lipase yang terdapat pada isolat bakteri endofit menghidrolisis *olive oil* membentuk asam lemak. Asam-asam lemak yang terbentuk akan membentuk kompleks dengan rhodamin B sehingga akan berpendar saat disinari dengan sinar UV [8].



Gambar 4. Hasil skrining aktivitas lipase

Pada skrining isolat bakteri penghasil protease diperoleh hasil yaitu dari 24 isolat bakteri endofit, 24 isolat menunjukkan potensi sebagai penghasil protease. Hal ini dikarenakan terbentuknya zona bening pada media SMA (*Skim Milk Agar*) yang menandakan protein susu pada media SMA terdegradasi menjadi unit peptide yang lebih sederhana, hidrolisis sempurna protein akan

menghasilkan asam amino sehingga terbentuk zona bening [4]. Besarnya zona bening yang terbentuk menandakan banyaknya pretein pada media SMA yang terhidrolisis menjadi unit peptide yang lebih sederhana.



Gambar 5. Hasil skrining aktivitas protease

KESIMPULAN

Bakteri endofit daun *Syzygium myrtifolium* menghasilkan sebanyak 24 isolat diantaranya sebanyak 19 isolat positif menghasilkan amilase, sebanyak 1 isolat positif menghasilkan lipase dan sebanyak 24 isolat positif menghasilkan protease.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Aisha, A. F. A., Ismail, Salah, K. M. A., Siddiqui, J. M., Ghafar, G dan Majid, A. M. S. A. (2013). *Syzygium campanulatum* Korth. Methalonic Extract Inhibits Angiogenesis and Tumor Growth In Nude Mice: *BMC*

Complementary and Aternative Medicine, 13:168.

- [2] Ginting, L., Wijanarka dan Kusdiyantini, E. (2020). Isolasi Bakteri Endofit Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) dan Uji Aktivitas Enzim Amilase: *Berkala Bioteknologi*. Vol. 3 No 2
- [3] Kusumawati, E. D., Pasaribu, F. H. dan Bintang, M. (2014). "Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit dari tanaman miana (*Coleus scutellarioides* [L.] Benth.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*". *Current Biochemistry* Vol 1 (1): 45-50
- [4] Pricilia S, Astuti W, Marliana E. (2018). "Skrining Bakteri Endofit Penghasil Amilase, Lipase Dan Protease Dari Daun Macaranga *hullettii* King ex Hook.f". *Jurnal Atomik* 3(2)
- [5] Rori, C. A., Kandou, F. E. F. dan Tangapo, A. M. (2020). "Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*". *Jurnal Bios Logos* Vol. 10 No 2, 48-55.
- [6] Sembiring, F.R., Sulaeman, R. dan Budiani E. S. (2017). "Karakteristik Minyak Atsiri Dari Daun Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum* Korth.)". *Jurnal Ilmu-ilmu Kehutanan*. Vol. 1(1)
- [7] Sumardjo, D. (2009). Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta. Jakarta: EGC
- [8] Telussa, I. (2013). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari *Coco Butter Substitute* dan Karakterisasi Lipasnya: *Jurnal FMIPA Universitas Patimura*.