

SKRINING BAKTERI DARI AIR SUNGAI KARANG MUMUS SEBAGAI PENGHASIL ENZIM PROTEASE, SELULASE DAN LIPASE

SCREENING OF BACTERIA FROM THE WATER OF THE KARANG MUMUS RIVER AS A PRODUCER OF PROTEASE, CELLULASE AND LIPASE ENZYMES

Dhita Novalia Amantha, Winni Astuti *, Eva Marliana

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok, Kampus Gn.Kelua, Samarinda 72123, Kalimantan Timur, Indonesia

*Corresponding Author : winniaastuti@fmipa.unmul.ac.id

Article History

Submitted : 25 June 2024

Accepted: 4 June 2025

ABSTRACT

Bacteria from polluted waters have the potential to produce extracellular hydrolase enzymes, namely protease enzymes, cellulase and lipase. This study was conducted to isolate bacteria from the water of the Karang Mumus River around Segiri Market, Samarinda as a producer of hydrolase enzymes. The bacteria were isolated in a nutrient-dense agar (NA) medium by the streak method. The results of bacterial isolation were obtained from 14 single colonies of bacteria. Single colonies of bacteria are selected to produce hydrolase enzymes in the form of proteases, cellulases and lipases. The results of the selection of hydrolase enzyme-producing bacteria were 3 protease-producing isolates, 10 cellulase-producing isolates, and 5 lipase-producing isolates.

Keywords: Karang Mumus River Water, Cellulase, Protease, Lipase.

1. PENDAHULUAN

Pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh pembuangan limbah merupakan permasalahan bagi kehidupan masyarakat dan juga ekosistem, baik ekosistem tanah maupun perairan. Salah satu contoh ekosistem perairan di Kota Samarinda yang memiliki potensi tercemar yakni Sungai Karang Mumus. Sungai Karang Mumus memiliki panjang aliran kurang lebih 37,65 km serta merupakan anak dari Sungai Mahakam yang membagi Kota Samarinda.¹ Sebagian kecil aliran Sungai Karang Mumus melewati daerah Pasar Segiri Samarinda dan berpotensi mengalami pencemaran air akibat limbah sisa aktivitas pasar serta limbah rumah tangga dari penduduk yang tinggal di bantaran Sungai Karang Mumus sekitar daerah Pasar Segiri, Samarinda. Sebagai upaya untuk menanggulangi pencemaran air dapat dilakukan metode bioremediasi.

Bioremediasi merupakan salah satu upaya untuk menurunkan kadar polutan dengan menggunakan mikroorganisme yang ditumbuhkan pada polutan tersebut. Polutan akan mengalami modifikasi struktur menjadi metabolit tidak beracun oleh mikroorganisme yang memproduksi enzim pada saat bioremediasi berlangsung.² Bakteri merupakan mikroorganisme yang juga salah satu jenis dari prokariota yang merupakan organisme uniseluler (bersel satu). Sel bakteri umumnya mempunyai selubung atau lapisan luar yang terdiri atas dua komponen yakni dinding sel serta terdapat plasma atau membran sitoplasma di bawahnya.³ Bakteri mampu bertahan hidup di lingkungan terkontaminasi karena memiliki sistem metabolisme untuk pertahanan tubuhnya. Salah satu mekanisme pertahanan bakteri adalah adanya enzim-enzim ataupun

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



protein selain enzim.

Enzim ialah suatu biokatalisator pada semua sistem kehidupan baik itu mikroorganisme, hewan, tanaman bahkan manusia. Tanpa mengalami perubahan, enzim dapat mempercepat suatu reaksi serta mengkatalisis semua reaksi yang berlangsung dengan spesifik, cepat dan efisien.⁴ Enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme berupa fungi dan bakteri menjadi prioritas pilihan dibandingkan dari tumbuhan dan hewan karena pertumbuhannya yang cepat.⁵ Salah satu kelompok enzim yang berperan dalam mengkatalisis reaksi pemecahan molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana dengan air yaitu enzim hidrolase.⁶

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi bakteri yang dapat menghasilkan enzim hidrolase. Setyati *et al.* telah berhasil melakukan isolasi dari bakteri simbiosis spons yang menghasilkan 15 isolat bakteri dengan 15 isolat diantaranya memiliki potensi proteolitik, 12 isolat amilolitik, 12 isolat lipolitik dan 4 isolat selulolitik.⁷ Jannah *et al.* telah melakukan isolasi dari bakteri simbiosis *Padina* sp. dan menghasilkan 6 isolat bakteri murni yang termasuk bakteri Gram negatif berbentuk basil.⁸ Isolat bakteri yang dihasilkan memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim protease, amilase, lipase dan selulase yang berbeda-beda. Rori *et al.* memperoleh 7 isolat bakteri endofit tumbuhan mangrove dimana isolat tersebut mampu untuk menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu 6 isolat menghasilkan protease, satu isolat menghasilkan selulase, 2 isolat menghasilkan gelatinase dan 4 isolat menghasilkan amilase.⁹

Hingga saat ini informasi mengenai isolasi bakteri dari sungai Karang Mumus sebagai penghasil enzim protease, selulase, dan lipase masih kurang. Oleh karena itu maka dilakukan penelitian isolasi bakteri dari sungai Karang Mumus, Samarinda Kalimantan Timur, yang dilanjutkan dengan identifikasi jenis bakteri yang diisolasi.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow*, tabung reaksi, tabung mikro, cawan petri, pipet mikro ukuran 0,5 – 10 µL, pipet mikro 10-100 µL, tip pipet mikro, wadah sampel, gelas ukur, *beaker glass*, *hotplate*, neraca digital, lampu bunsen, jarum ose, spatula, kaca arloji, batang pengaduk, labu Erlenmeyer, *freezer*, *incubator*, hoki stik, *shaker waterbath* Memmert WNE 14 serta Tomy Seiko *autoclave*.

2.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel air dari Sungai Karang Mumus sekitar Pasar Segiri, Samarinda, akuades, etanol, nutrisi agar (NA), NaCl, ekstrak *yeast*, tripton, gliserol, *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC), *congo red*, susu skim Anlene dan Rhodamin B.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air dilakukan di Sungai Karang Mumus, Jln. Dr. Sutomo, Sidodadi, Kec. Samarinda Ulu, Kota Samarinda pada 3 titik berbeda, yaitu titik pertama (-0.481132,117.149529), titik kedua (-0.480549,117.149753) dan titik ketiga (-0.480281,117.148880). Sampel air diambil sebanyak 1500 mL dimasukkan ke dalam wadah plastik. Lalu wadah ditutup dengan rapat dan diberi label. Selanjutnya sampel air dibawa ke Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman.

2.2.2. Isolasi Bakteri dari Sampel Air Sungai Karang Mumus

Sampel air Sungai Karang Mumus sebelum diisolasi dilakukan pengenceran hingga 1000x pengenceran menggunakan akuades steril. Setelah itu, sebanyak 0,1 mL sampel air Sungai Karang Mumus yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam permukaan media Nutrien Agar (NA) 2,5% dan disebar menggunakan hoki stik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2.2.3. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Hidrolase

Tiap isolat murni diregenerasi 5 mL media Luria Bertani cair (*yeast* 0,5%, NaCl 1% dan tripton 1%) pada tabung reaksi yang berbeda. Bakteri yang telah diinkubasi masing-masing dibuat menjadi stok gliserol. Bakteri-bakteri hasil regenerasi diseleksi kemampuannya untuk menghasilkan enzim hidrolase.

2.2.4. Seleksi *Protease*

Seleksi bakteri penghasil enzim protease dilakukan dengan prosedur menurut Setyati dan Subagiyo.¹⁰ Media uji yang digunakan adalah media NA 2,5% yang telah diperkaya susu skim 1%. Tiap kultur cair diambil satu ose dan digoreskan pada permukaan NA susu skim yang telah memadat. Selanjutnya bakteri diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Identifikasi aktivitas proteolitik dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar goresan.

2.2.5. Seleksi *Selulase*

Seleksi bakteri penghasil enzim selulase dilakukan dengan prosedur menurut Kasana *et al.*¹¹ Media uji yang digunakan adalah media NA 2,5% yang telah diperkaya CMC 1%. Tiap kultur cair diambil satu ose dan digoreskan pada permukaan NA CMC. Selanjutnya bakteri diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Identifikasi aktivitas selulolitik dilakukan dengan menuang larutan *congo red* 1 % ke atas media kultur lalu didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya media dicuci dengan NaCl 2 M. Zona bening yang terbentuk di sekitar bakteri menunjukkan adanya bakteri penghasil selulase.

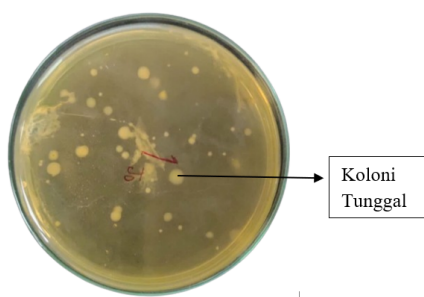
2.2.6. Seleksi *Lipase*

Seleksi bakteri penghasil enzim lipase dilakukan dengan prosedur menurut Setyati dan Subagiyo.¹⁰ Media uji yang digunakan adalah media NA 2,5% yang mengandung minyak zaitun 1%. Setelah itu media NA minyak zaitun ditambahkan larutan Rhodamin B 1%. Tiap kultur cair diambil satu ose dan digoreskan pada permukaan media yang telah memadat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Identifikasi bakteri penghasil lipase ditandai dengan adanya pendar berwarna oranye pada koloni dibawah lampu UV.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Isolasi Bakteri dari Sampel Air Sungai Karang Mumus

Isolasi bakteri dilakukan untuk memperoleh koloni tunggal dari bakteri yang berasal dari sampel air sungai. Sampel kemudian diratakan dengan metode *spread* pada media padat Nutrien Agar. Metode *spread* dilakukan agar inokulum tumbuh tersebar secara merata di permukaan media padat. Hasil isolasi bakteri dari sampel air sungai Karang Mumus tertera pada **Gambar 1**. Dari isolasi yang telah dilakukan diperoleh 14 koloni bakteri hasil isolasi dari sampel air sungai Karang Mumus Samarinda dan diberi kode bakteri KM 1 hingga 14.



Gambar 1. Koloni tunggal bakteri dari sampel air sungai Karang Mumus

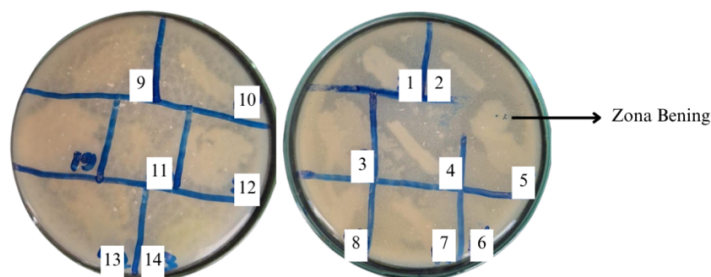
3.2 Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Hidrolase

Semua isolat bakteri yang telah diisolasi kemudian diseleksi kemampuannya untuk menghasilkan enzim hidrolase ekstraseluler yakni protease, selulase dan lipase. Metode yang digunakan pada proses seleksi ini yakni metode *streak plate* yakni metode yang dilakukan

dengan menggoreskan bakteri ke permukaan media agar menggunakan *loop ose* dengan pola tertentu.¹²

3.2.1. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Protease

Untuk mendapatkan bakteri-bakteri yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim protease, dilakukan seleksi bakteri penghasil enzim protease dengan menggunakan media padat nutrisi agar yang telah mengandung protein kasein dari susu skim. Hasil seleksi bakteri penghasil enzim protease tertera pada **Gambar 2**.

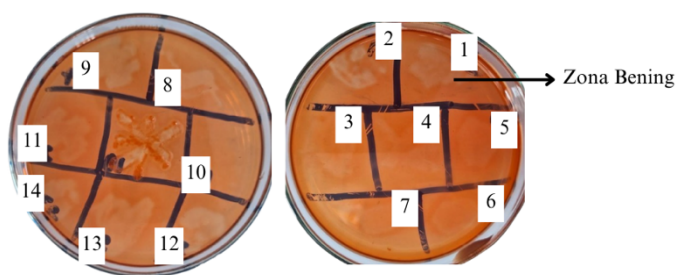


Gambar 2. Hasil seleksi bakteri terhadap enzim protease

Hasil seleksi bakteri penghasil enzim protease dari sampel air Sungai Karang Mumus yakni terbentuk zona bening di sekitar 3 isolat bakteri yakni isolat dengan kode KM 1, KM 5 dan KM 12. Ketiga isolat tersebut dinyatakan positif menghasilkan enzim protease. Besarnya zona bening yang terbentuk di sekitar isolat menandakan bahwa protein pada media telah dihidrolisis oleh protease dari bakteri dengan memecah protein kasein pada susu skim menjadi peptida sederhana dan asam amino.⁹

3.2.2. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Protease

Seleksi bakteri terhadap enzim selulase dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh bakteri-bakteri yang memiliki kemampuan sebagai penghasil enzim selulase. Media padat NA 2,5% yang telah mengandung substrat CMC 1% digunakan sebagai tempat tumbuhnya isolat bakteri. Hasil seleksi bakteri penghasil enzim protease tertera pada **Gambar 3**.

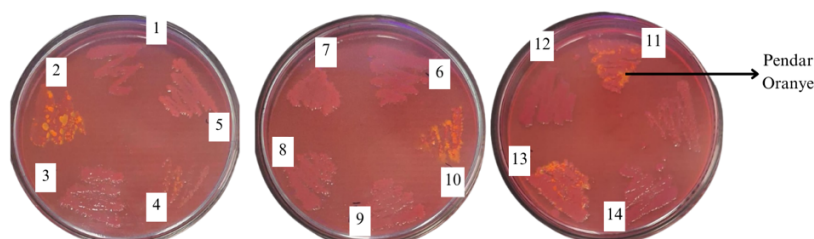


Gambar 3. Hasil seleksi bakteri terhadap enzim selulase

Sebanyak 10 isolat positif menghasilkan enzim selulase yakni isolat dengan kode KM 1, KM 2, KM 3, KM 4, KM 5, KM 8, KM 9, KM 11, KM 13 dan KM 14 yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar bakteri seperti yang tertera pada **Gambar 3**. Zona bening menunjukkan bakteri mampu menghasilkan enzim selulase. Besarnya zona bening yang terbentuk menandakan bahwa bakteri mampu menghasilkan selulase yang dapat dilihat setelah penambahan larutan *Congo Red* dan NaCl. Pada proses seleksi tersebut terjadi reaksi antara larutan *Congo Red* dengan ikatan β -1,4 glikosida pada polimer selulosa.¹³ Zona bening terbentuk karena sudah tidak adanya ikatan β -1,4 glikosida pada produk hasil hidrolisis yang akan berikatan dengan *Congo Red*, sehingga saat dicuci dengan NaCl *Congo Red* ikut larut. Pencucian menggunakan larutan NaCl 1 M dilakukan untuk memperjelas zona bening yang terbentuk.¹⁴

3.2.3. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Protease

Seleksi bakteri terhadap enzim lipase dilakukan untuk memperoleh bakteri-bakteri yang memiliki kemampuan sebagai penghasil enzim lipase. Substrat yang digunakan pada seleksi bakteri penghasil enzim lipase berupa minyak zaitun 1%. Hasil seleksi bakteri penghasil enzim protease tertera pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Hasil seleksi bakteri terhadap enzim lipase

Hasil dari seleksi bakteri penghasil enzim lipase dari sampel air Sungai Karang Mumus yakni terdapat 5 isolat positif menghasilkan enzim lipase yang ditandai dengan terbentuknya pendar oranye di sekitar bakteri dengan kode KM 2, KM 5, KM 10, KM 11 dan KM 13 seperti yang tertera pada **Gambar 4**. Pada proses seleksi ini terjadi aktivitas hidrolisis ikatan ester pada trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak.⁶ Terjadi ikatan kompleks antara asam lemak hasil hidrolisis dengan Rhodamin B sehingga menghasilkan pendaran di bawah sinar UV.¹⁵ Adapun data hasil seleksi bakteri penghasil enzim hidrolase tertera pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil seleksi bakteri penghasil enzim hidrolase

Kode Bakteri	Protease	Selulase	Lipase
KM 1	+	+	-
KM 2	-	+	+
KM 3	-	+	-
KM 4	-	+	-
KM 5	+	+	+
KM 6	-	-	-
KM 7	-	-	-
KM 8	-	+	-
KM 9	-	+	-
KM 10	-	-	+
KM 11	-	+	+
KM 12	+	-	-
KM 13	-	+	+
KM 14	-	+	-

Keterangan: + (menghasilkan enzim), - (tidak menghasilkan enzim)

4. KESIMPULAN

Bakteri yang berasal dari air Sungai Karang Mumus sekitar Pasar Segiri Samarinda memiliki potensi untuk menghasilkan enzim hidrolase ekstraseluler yang meliputi enzim protease sebanyak 3 isolat, enzim selulase sebanyak 10 isolat dan enzim lipase sebanyak 5 isolat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada para dosen serta staf Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman yang telah membantu penulis dalam penyusunan jurnal. Penulis menyadari bahwa jurnal ini masih jauh dari kata sempurna, oleh

karena itu penulis sangat terbuka untuk segala kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap jurnal ini dapat memberikan manfaat serta wawasan bagi para pembacanya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Puspa, R. A.; Pramaningsih, V.; Daramusseng, A. Analisis Status Mutu Air Sungai Karang Mumus Segmen Jembatan S.Parmen dan Jembatan Perniagaan Kota Samarinda. *Jurnal Ecotrophic* **2023**, 17 (1), 137–149.
2. Priadie, B. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan* **2012**, 10 (1), 38–48.
3. Koenjoro, M. P.; Biotech, M.; Prasetyo E. N. *Dinamika Struktur Dinding Sel Bakteri*, Surabaya: Jakad Media Publishing, **2020**. DOI: https://books.google.co.id/books/about/DINAMIKA_STRUKTUR_DINDING_SEL_BAKTERI.html?id=7OoGEAAAQBAJ&redir_esc=y
4. Sutrisno, A. *Teknologi Enzim*, Bandung: UB Press, **2017**. DOI: https://books.google.co.id/books/about/Teknologi_Enzim.html?id=WctTDwAAQBAJ&redir_esc=y
5. Nababan, M.; Gunam, I. B. W.; Wijaya, I. M. M. Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri* **2019**, 7 (2), 190–199.
6. Setiawati, U. N.; Miranda, M. A.; Lestari, M. D., Nukmal, N.; Setyaningrum, E.; Aeny, T. N.; Arifiyanto, A. Penapisan Enzim Hidrolase pada Bakteri *Streptomyces* sp. strain I18. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati* **2022**, 7 (3), 207–214.
7. Setyati, W. A.; Habibi, A. S.; Subagiyo, Ridlo, A.; Nirwani, S.; Pramesti, R. Skrining dan Seleksi Bakteri Spons Penghasil Enzim Ekstraseluler Sebagai Agen Bioremediasi Bahan Organik dan Biokontrol Vibriosis pada Budidaya Udang. *Jurnal Kelautan Tropis* **2016**, 19 (1), 11–20.
8. Jannah, S. N.; Hanifa, Y. R.; Utomo, A. B.; Prambodo, A. K. D.; Lunggani, A. T. Isolasi dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri Symbion *Padina* sp. dari Pantai Lengkuas Belitung. *Jurnal Bioma* **2021**, 23 (1), 11–17.
9. Rori, C. A.; Kandou, F. E. F.; Tangapo, A. M. Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos* **2020**, 10(2), 48–55. DOI: <https://doi.org/10.35799/jbl.11.2.2020.28338>
10. Setyati, W. A.; Subagiyo. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (Proteolitik, Amilolitik, Lipolitik, dan Selulolitik) yang berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove. *Jurnal Ilmu Kelautan* **2012**, 17 (3): 164–168.
11. Kasana, R. C.; Salwan R.; Dhar H.; Dutt S.; Gulati A. A Rapid and Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine. *Curr. Microbiol* **2008**, 57: 503–507.
12. Mikdarullah, Nugraha, A. Teknik Isolasi Bakteri Proteolitik dari Sumber Air Panas Ciwidey, Bandung. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur* **2017**, 15 (1), 11–14. DOI: <https://doi.org/10.15578/blta.15.1.2017.11-14>
13. Batubara, U. M.; Suparjo; Maritsa, H.; Pujiyanto, E.; Herlini, M. Skrining dan Determinasi Bakteri Selulolitik Potensial dari Ekosistem Mangrove. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* **2022**, 27 (2), 264–271.
14. Murtiyaningsih, H.; Hazmi, M. *Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah Isolation* **2017**, 15 (2), 293–308.
15. Kasipah C.; Rismayani, S.; Ihsanawati, I.; Nurachman, Z. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil* **2013**, 28 (1), 1–46. DOI: <https://media.neliti.com/media/publications/54087-ID-none.pdf>