

SKRINING BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL AMILASE, LIPASE DAN PROTEASE DARI DAUN *Macaranga hullettii* King ex Hook.f.

SCREENING BACTERIAL OF ENDOPHYTIC PRODUCING AMYLASE, LIPASE AND PROTEASE FROM LEAVES OF *Macaranga hullettii* King ex Hook.f.

Sherly Pricilia*, Winni Astuti, Eva Marlina

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok, Kampus Gn. Kelua, Samarinda 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

*E-mail: winniastuti@gmail.com

Received: 20 August 2018, Accepted: 25 August 2018

ABSTRACT

The objective of this study was to screening test of endophytic bacteria producing amylase, lipase and protease from leaves of *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. Endophytic bacteria isolation was performed on *nutrient agar* (NA) and 21 single colonies of endophytic bacteria were obtained. Endophytic bacteria that all of the endophytic bacteria positive producing enzym, 8 of the endophytic bacteria positive amylase, 7 of the endophytic bacteria positive lipase and 4 of the endophytic bacteria positive protease.

Keywords: *Endophytic bacteria, Macaraga hullettii* King ex Hook.f., *Screening, Enzym*

PENDAHULUAN

Macaranga termasuk suku *Euphorbiaceae*, *Macaranga* merupakan pohon dengan tinggi mencapai 30 meter dan dianggap sebagai pohon pionir. Tumbuhan ini tersebar di seluruh Indonesia. Penyebaran tumbuhan *Macaranga* relatif luas, selain di Indonesia, dijumpai pula di wilayah Afrika, Madagaskar, Asia, pantai timur Australia dan kepulauan Pasifik. Daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. menghasilkan bakteri endofit [1].

Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan tanaman inangnya [2]. Bakteri endofit dapat diisolasi dari jaringan akar, batang dan tanaman. Bakteri endofit umumnya dapat menghasilkan senyawa sejenis yang terkandung pada tanaman inang dengan bantuan aktivitas suatu enzim. Enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme lebih menguntungkan dan pertumbuhannya lebih cepat dibandingkan enzim yang berasal dari tanaman dan hewan [3].

Enzim dihasilkan oleh makhluk hidup untuk mengkatalisis reaksi biokimia dalam tubuh makhluk hidup tersebut sehingga reaksi-reaksi itu dapat berlangsung lebih cepat. Produksi dan perdagangan enzim saat ini didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik seperti amilase, protease dan lipase [4].

Berbagai penelitian telah berhasil memperoleh bakteri endofit penghasil enzim hidrolitik. Robi'a (2012) memperoleh 3 isolat bakteri endofit penghasil amilase dari tanaman umbi dahlia (*Dahlia variabilis*)

[3]. Fandy (2006) berhasil memperoleh 15 isolat bakteri endofit penghasil lipase dari buah sawit. Meliawati (2012) memperoleh 86 isolat bakteri endofit penghasil protease yang berasal dari Taman Nasional Gunung Halimun.

Berdasarkan penelitian-penelitian di atas menunjukkan potensi bakteri endofit sebagai penghasil enzim-enzim hidrolitik. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. dan menskrining bakteri-bakteri endofit tersebut sebagai penghasil amilase, lipase dan protease.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, inkubator, *laminar air flow*, *hot plate with magnetic stirrer*, stirer, tabung reaksi, gelas kimia (50; 100; 500 dan 1000) mL, tabung mikro 2 mL, pipet mikro (20–200) μ L, pipet mikro (100–1000) μ L, rak tabung reaksi, jarum ose, *Hocky stik*, Bunsen, *waterbath shaker*, tip (100 dan 1000) μ L, pipet tetes, pipet ukur 10 mL, bulp, gelas ukur 100 mL, autoklaf, *Erlenmeyer* (250 dan 500) mL, vorteks dan neraca analitik.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f, aquades, aquabiades steril, etanol (75 dan 95) %,

bayclin, wipol, alumunium foil, media padat *nutrient agar* (NA), pati, susu skim, rhodamin B, olive oil, media cair Luria Bertani (tripton 1 %, yeast 0,5 % dan NaCl 1 %).

Prosedur Penelitian

Isolasi bakteri endofit

Daun *Macaranga Hullettii* King ex Hook.f disterilisasi dengan mencuci secara bertahap menggunakan air, etanol, bayclin dan aquades steril. Kemudian sampel batang yang telah disterilisasi dipotong kecil-kecil lalu dibelah menjadi dua bagian dan disebar pada media padat *nutrient agar* (NA) yang selanjutnya diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37 °C. Daerah keruh disekitar sampel tersebut menunjukkan adanya bakteri endofit yang tumbuh. Bakteri endofit hasil isolasi pada media padat *nutrient agar* (NA) dibiakan dengan mengambil satu ose bakteri lalu diinokulasikan ke dalam 5 mL media cair Luria Bertani (tripton 1% , yeast 0,5 % dan NaCl 1 %) steril dan diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37 °C hingga diperoleh kultur bakteri endofit.

Pembuatan kultur gliserol stok

Isolat bakteri endofit yang telah dimurnikan masing-masing dibuat gliserol stok dengan mencampurkan 850 µL isolat murni bakteri endofit dengan 150 µL gliserol stok ke dalam tabung mikro 2 mL. kemudian di vortex selama beberapa menit hingga isolat dan gliserol homogen.

Skrining aktivitas amilase

Media padat Nutrient agar-amilum dibuat dari campuran 2,5 % *nutrient agar* dan 1 % amilum. Skrining isolat bakteri endofit dilakukan dengan menumbuhkan 1 ujung jarum ose dari semua masing-masing isolate pada permukaan media agar amilum dengan metode *streak* yang ditumbuhkan selama ± 48 jam pada suhu 37°C. untuk memastikan adanya aktivitas amilase dilakukan uji iodin dengan cara meneteskan larutan iodin pada permukaan media agar yang berisi isolat bakteri.

Skrining aktivitas lipase

Media yang digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas lipase dibuat dari campuran 2,5 % *nutrient agar*, 2,5 % *olive oil* (w/v) yang dilarutkan dalam 100 mL aquades. Media yang telah disterilisasi lalu ditambahkan Rhodamin B steril sebanyak 1 mL hingga bewarna merah muda. Skrining isolat bakteri endofit dilakukan dengan menumbuhkan 1 ujung jarum ose dari semua masing-masing isolat pada permukaan media agar amilum dengan metode *streak* yang ditumbuhkan selama ± 48 jam pada suhu 37°C. untuk memastikan aktivitas lipase dilakukan uji

secara kualitatif dengan cara melihat adanya pendar disekitar koloni di bawah sinar UV.

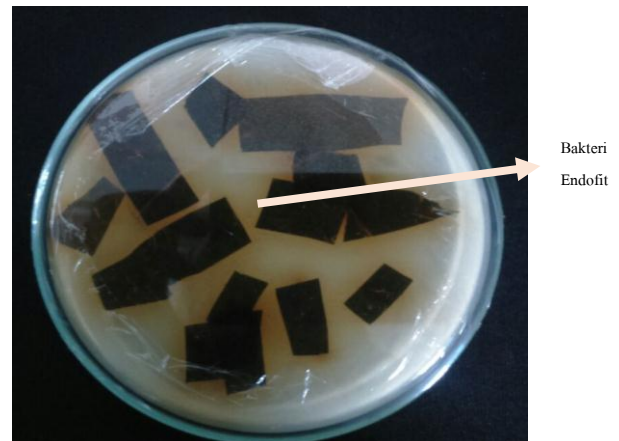
Skrining aktivitas protease

Media SMA (*Skim Milk Agar*) dibuat dari campuran 2,5 % *nutrient agar* dan 2,5% susu skim. Skrining isolat bakteri endofit dilakukan dengan menumbuhkan 1 ujung jarum ose dari semua masing-masing isolat pada permukaan media agar amilum dengan metode *streak* yang ditumbuhkan selama ± 48 jam pada suhu 37°C. Adanya zona bening disekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas protease setelah masa inkubasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit

Hasil isolasi bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. ditunjukkan dengan adanya daerah keruh disekitar sampel seperti pada gambar 1. Bakteri endofit hasil isolasi dibiakan pada media cair Luria Bertani steril hingga diperoleh kultur bakteri endofit. Dari hasil isolasi bakteri endofit berhasil mendapatkan 21 koloni tunggal.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri endofit

Skrining Bakteri Endofit Penghasil Enzim

Hasil skrining terhadap potensi aktivitas enzim yang dimiliki oleh bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. membuktikan bahwa mayoritas isolat bakteri endofit ini memiliki potensi dalam menghasilkan enzim protease, amilase dan lipase. Kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan enzim-enzim tertentu dapat dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan hasil skrining aktivitas amilase dari 21 isolat bakteri endofit, berhasil memperoleh 8 isolat yang menunjukkan hasil positif dengan ditandai adanya zona bening disekitar koloni pada media agar selektif amilum. Bakteri yang mampu memproduksi amilase dapat dideteksi dengan adanya zona bening yang terbentuk pada media selektif

amilase setelah ditetesi larutan iodium, zona bening yang terbentuk merupakan amilum yang terhidrolisis menjadi gula yang lebih sederhana, sedangkan media yang berwarna biru kehitaman menandakan pati belum terhidrolisis [5]. Besarnya zona bening yang terbentuk disekitar koloni menandakan banyaknya glukosa yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis pati oleh amilase.

Tabel 1. Hasil Skrining isolat bakteri endofit penghasil enzim

Kode Koloni	Enzim Ekstraseluler		
	Amilase	Lipase	Protease
MH1	-	-	-
MH2	-	-	-
MH3	+	+	-
MH4	-	+	-
MH5	-	+	-
MH6	+	+	+
MH7	-	-	-
MH8	+	-	-
MH9	+	-	-
MH10	+	+	-
MH11	-	-	+
MH12	-	+	-
MH13	-	-	-
MH14	+	-	+
MH15	-	+	-
MH16	-	-	-
MH17	-	-	-
MH18	-	-	-
MH19	+	-	+
MH20	-	-	-
MH21	-	-	-

Ket : (+) Positif mengandung enzim ekstraseluler
 (-) Negatif mengandung enzim ekstraseluler

Berdasarkan hasil skrining aktivitas lipase dari 21 isolat bakteri endofit, berhasil memperoleh 7 isolat yang menunjukkan hasil positif yang

ditunjukkan dengan adanya pendar bewarna orange disekitar koloni di bawah lampu sinar UV. Besarnya pendar orange yang terbentuk disekitar koloni menandakan banyaknya gliserol yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis asam lemak oleh lipase.

Hasil skrining aktivitas protease dari 21 isolat bakteri endofit, berhasil memperoleh 4 isolat yang menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya zona bening. Zona bening yang terbentuk menandakan bahwa bakteri mampu menghidrolisis substrat. Besarnya zona bening yang terbentuk disekitar koloni menandakan banyaknya produk yang dihasilkan dari reaksi hidrolisis protein oleh protease. Aktivitas protease secara kualitatif ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri pada medium SMA (*skim milk agar*). Zona bening yang terbentuk karena terjadinya pemutusan ikatan peptida pada protein oleh protease menjadi unit peptida yang lebih kecil, hidrolisis sempurna dari protein akan menghasilkan asam amino.

KESIMPULAN

Bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu sebanyak 8 isolat bakteri positif menghasilkan amilase, 7 isolat bakteri endofit positif menghasilkan lipase dan sebanyak 4 isolat bakteri positif menghasilkan protease.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Amirta, R., E.M., Ramadhan, Kusuma, I.W., Wiati dan Haqiqi, M.T. 2017. *Potensi Pemanfaatan Macaranga*. Samarinda: Mulawarman University Press.
- [2] Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2 No (3): 113-126.
- [3] Robi'a. 2012. Skrining Bakteri Endotifik dari Umbi Tanaman Dahlia (*Dahlia variabilis*). Pekanbaru: FMIPA Universitas Riau.
- [4] Strobel, G. And Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product. *ASM Society*. Montana State University.
- [5] Sianturi, D. C. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara. Medan: USU.
- [6] Resdiani, M., Pujiyanto, S. dan Raharjo, B. 2017. Aktivitas Inhibitor amilase yang diproduksi oleh Bakteri Endofit Dari Tanaman Sirsak (*Annona muricata L.*). *Jurnal Biologi*. Semarang: Universitas Diponegoro Hal 99-105.

- [7] Khrisnan, P, Bhat.R. Kush.A and Ravikumar P. 2012. Isolation and functional chacterization of bacterial endophytes from *Carica papaya* fruits. *Journal Applied Microbiology*. India: Vittal Mallya Scientific ISSN 1364-5072.