



**Bakteri Endofit F4 dari Daun Pepaya (*Carica papaya L*):
Potensinya sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler**

**Purbowatiningrum Ria Sarjono^{1*}, Ismiyanto¹, Ngadiwiyanana¹, dan
Nor Basid Adiwibawa Prasetya¹**

¹Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Soedarto S.H, Tembalang, Semarang 50275

*Corresponding author: purbowatining@live.undip.ac.id

Received: 21 Juni 2022 / Accepted: 23 Juni 2022

Available online: 23 Juni 2022

Abstract

Daun pepaya diketahui memiliki aktivitas antibakteri, sehingga bakteri endofit pada daun pepaya diduga memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian sebelumnya telah memperoleh 5 isolat bakteri endofit dari daun pepaya, antara lain F1, F2, F3, F4 dan F5. Bakteri endofit F1, F3, dan F5 telah diketahui aktivitas antibakterinya, sedangkan bakteri endofit F4 belum dieksplorasi aktivitasnya dalam memproduksi enzim ekstraseluler, sehingga pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif enzim ekstraseluler pada bakteri endofit F4. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan konfirmasi morfologi, data fitokimia kualitatif, dan kemampuan memproduksi enzim ekstraseluler lipase, selulase, protease dan amilase dari bakteri endofit F4. Hasil yang diperoleh adalah isolat bakteri F4 berwarna putih, tepi bulat dan halus berbentuk gram positif dengan morfologi sel tunggal dan berbentuk basil (batang). Bakteri F4 berpotensi mengandung enzim ekstraseluler amilase dan protease.

Kata Kunci: bakteri endofit; enzim ekstraseluler; daun pepaya

1. Pendahuluan

Daun pepaya merupakan bagian tanaman pepaya yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder bersifat antimikroba [1]. Penelitian yang dilakukan oleh [2] menunjukkan bahwa metabolit sekunder pada ekstrak daun pepaya yaitu alkaloid, tanin, saponin, dan steroid mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*.

Senyawa metabolit sekunder bersifat antimikroba ternyata juga dapat ditemukan pada bakteri endofit, yaitu bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa memberikan pengaruh negatif bagi tanaman inangnya [3]. Salah satu penelitian yang dilakukan oleh [4] menunjukkan bahwa metabolit sekunder bakteri endofit *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* dari daun tanaman *Hyptis suaveolens* mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Candida albicans*.

Pemanfaatan bakteri endofit untuk memproduksi antimikroba dalam skala besar ternyata lebih efektif dibandingkan tanaman. Hal tersebut dikarenakan siklus hidup bakteri endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tanaman sehingga dapat menghemat waktu produksi dan tidak memerlukan tempat yang luas. Keuntungan lain yang diperoleh dari pengembangan bakteri

endofit adalah dapat menjaga kelestarian tanaman obat, terutama jenis tanaman obat yang langka, agar tidak dieksploitasi secara terus menerus yang akhirnya akan mengakibatkan kepunahan [5].

Penelitian sebelumnya, Ramadhan [6] berhasil mendapatkan 5 isolat bakteri endofit dari daun pepaya yaitu F1, F2, F3, F4 dan F5. Berdasarkan penelitian Sarjono *et al.* [7] bakteri endofit F4 adalah jenis bakteri Gram positif dengan bentuk sel basil (batang). Senyawa aktif pada metabolit sekunder bakteri endofit F4 adalah alkaloid dan saponin. Aktivitas antimikroba tertinggi adalah pada fase kematian, dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) untuk *Escherichia coli*, *Candida albicans*, dan *Bacillus subtilis* masing-masing adalah 15,5 mg/mL; 16,5 mg/mL dan 16,5 mg/mL dengan difusi cakram metode, sedangkan untuk *Aspergillus niger* sebesar 0,5 mg/mL dengan metode berat kering. Pada penelitian sebelumnya pada F4 belum dilakukan uji aktivitas dalam menghasilkan enzim ekstraseluler. Pada penelitian sebelumnya pada F4 belum dilakukan uji aktivitas dalam menghasilkan enzim ekstraseluler. Dalam penelitian ini dilakukan konfirmasi pewarnaan Gram dari bakteri endofit F4 dan uji enzim ekstraseluler. Uji enzim dilakukan terhadap amilase, selulase, protease dan amilase yang merupakan enzim jenis pengurai.

Doi:

2. Metode Penelitian

Penelitian mengenai "Potensi enzim ekstraseluler bakteri endofit F4 dari daun pepaya (*Carica papaya* L.), sampel yang digunakan adalah isolat bakteri endofit F4 yang diperoleh dari hasil penelitian Sarjono *et al.* [7]. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia UNDIIP. Pengujian dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu refresh bakteri F4, konfirmasi morfologi, uji enzim ekstraseluler.

2.1. Alat dan Bahan

Alat: Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri (Herma), gelas piala (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), corong kaca (Pyrex), neraca analitik (Ohaus), penggaris, jarum ose, mikropipet (Socorex), yellow tip, blue tip, pinset, autoklaf otomatis (Heidolph), Laminar Air Flow (E-Scientific).

Bahan: Bahan-bahan yang dibutuhkan adalah isolat bakteri endofit F4 dari daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang diperoleh dari hasil penelitian Ramadhan (2015), Zobell (Merck), Nutrient Agar (Merck), Nutrient Broth (Merck), Potato Dextrose Agar (Himedia), Potato Dextrose Broth (Himedia), pewarnaan gram, akuades, methanol.

2.2. Cara Kerja

2.2.1 Peremajaan Dan Pemurnian Bakteri Endofit F4

Bakteri endofit F4 diremajakan terlebih dahulu sebelum diteliti lebih lanjut. Satu ose kultur lama bakteri endofit F4 diinokulasi ke dalam agar miring (zobell padat), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Biakan ini merupakan aktivitas awal stok bakteri endofit F4 yang kemudian disimpan ke dalam lemari pendingin [8].

Bakteri endofit F4 hasil peremajaan selanjutnya dimurnikan dengan metode streak plate. Bakteri endofit F4 digoreskan ke petri yang berisi media zobell padat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Koloni bakteri yang tumbuh terpisah jauh dibiakkan kedalam agar miring (zobell padat) sebagai stok koloni murni bakteri endofit F4 [8].

2.2.2 Identifikasi Morfologi Bakteri Endofit F4

Koloni tunggal bakteri endofit F4 diinokulasi ke media zobell cair dan diinkubasi selama 18 jam. Inokulan dioleskan pada kaca objek dan difiksasi dengan memanaskannya diatas bunsen. Olesan diberi kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades perlahan dan dikeringkan. Olesan diberi larutan lugol iod dan didiamkan selama 1 menit, kemudian olesan dialiri akuades dan dikeringkan. Tahap selanjutnya, olesan diberi alkohol aseton dan didiamkan selama 30 detik, kemudian olesan dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Tahap terakhir, olesan diberi safarin sebagai zat warna tandingan dan didiamkan

selama 1 menit, kemudian olesan dialiri akuades dan dikeringkan. Olesan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali [9].

2.2.3 Uji Enzim Ekstraseluler

Langkah awal yang dilakukan pada uji enzim amilase adalah refresh bakteri dari stok agar miring. Pembuatan media cair yang berisi 0,125 g pepton dan 0,025 g yeast yang telah dilarutkan dalam 50 ml akuades disterilisasi selama 30 menit, lalu dilakukan inokulasi bakteri endofit F4 menggunakan ose dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu kamar. Dilanjutkan dengan penanaman 0,5 ml bakteri pada media cair yang berisi 0,125 g pepton dan 0,025 g yeast yang dilarutkan dalam 50 ml akuades dan disterilisasi selama 30 menit, setelah itu media yang telah berisi bakteri diinkubasi selama 20 jam. Dilanjutkan dengan pembuatan media selektif agar yang berisi 0,2 g yeast; 0,5 g pepton; 2 g NA; 1 g soluble starch; 0,05 g NaCl; 0,05 g MgSO₄.7H₂O; dan 0,015 g CaCl₂ yang dilarutkan dalam 100 ml akuades, kemudian diaduk hingga merata dan diautoklaf selama 30 menit, setelah itu media dan alat yang digunakan dimasukkan dalam Laminar Air Flow, dilakukan penuangan media kedalam 4 cawan petri lalu inokulasi bakteri dan diratakan menggunakan spreader. Tutup cawan petri menggunakan plastic wrap dan diinkubasi selama 20 jam. Setelah diinkubasi dilakukan penetesan 1 ml iodine dan didiamkan 30 menit.

Tahap awal uji enzim lipase adalah penanaman bakteri ke media cair yang berisi 0,2 g NaCl; 0,2 g yeast; 0,4 g pepton; 0,2 g tween 80; dan 0,4 g minyak zaitun yang dilarutkan dalam 20 ml akuades lalu diaduk hingga merata. Media yang telah dibuat disterilisasi dalam autoklaf selama 30 menit. Alat dan media yang digunakan dimasukkan dalam Laminar Air Flow dan dilakukan penuangan media ke dalam 2 erlenmeyer, selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri dari media agar miring ke media cair. Media berisi bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 20 jam. Dilanjutkan dengan pembuatan media selektif agar yang berisi 1 g pepton; 0,05 g NaCl; 0,5 g NaCl; 0,01 g CaCl₂.H₂O; 2 g NA; 2 g tween 80; 5 ml minyak zaitun; 0,01 g metil merah; dan 20 ml akuades yang dilarutkan dalam 100 ml akuades, diaduk hingga merata dan diautoklaf selama 30 menit. Media dan alat yang digunakan dimasukkan dalam Laminar Air Flow, dilakukan penuangan media kedalam 2 cawan petri lalu pembagian 4 kuadran. Pencelupan kertas cakram kedalam media cair yang telah diinkubasi sebelumnya. Kertas cakram diletakkan pada masing-masing kuadran lalu diinkubasi selama 20 jam pada suhu ruang.

Tahap awal uji enzim lipase adalah dengan pembuatan media selektif agar yang terdiri dari 1 ml susu skim; 0,25 g pepton; dan 1 g nutrient agar kemudian dilarutkan kedalam 50 ml akuades dan disterilisasi dalam autoklaf selama 30 menit. Alat dan media yang sudah steril dimasukkan kedalam Laminar Air Flow, kemudian penuangan media pada cawan petri dan pembuatan kuadran pada sisi bawah media menggunakan spidol dan penggaris.

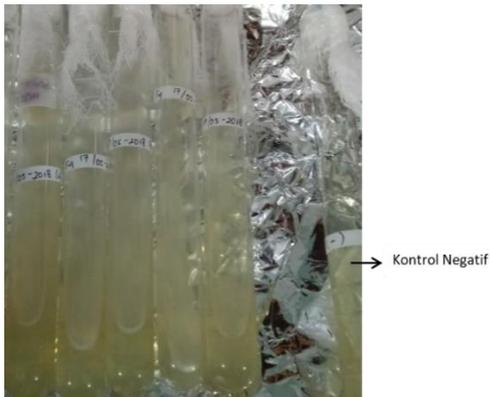
Doi:

Inokulasikan bakteri menggunakan jarum ose dengan metode strike. Tutup cawan petri menggunakan plastic wrap dan diinkubasi selama 20 jam.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Peremajaan Bakteri Endofit F4

Bakteri endofit F4 sebelum dipisahkan dilakukan refresh atau peremajaan terlebih dahulu. Peremajaan bakteri dilakukan untuk memperoleh bakteri yang aktif, karena bakteri sebelumnya berada di dalam stok media agar miring pada kondisi inaktif [10]. Peremajaan bakteri dilakukan menggunakan media zobell padat yang terdiri dari ekstrak yeast, pepton dan nutrient agar. Media zobell digunakan karena mengandung nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Ekstrak yeast berfungsi sebagai sumber vitamin dan asam amino, pepton berfungsi sebagai sumber asam amino dan nutrient agar berfungsi sebagai sumber karbon. Inokulasi bakteri dilakukan secara aseptis dekat api bunsen menggunakan kawat ose yang sebelumnya dipanaskan hingga merah menyala untuk menghindari kontaminasi. Didapatkan bakteri endofit yang berwarna putih, bentuk koloni bakteri bulat dengan tepi bulatan halus.

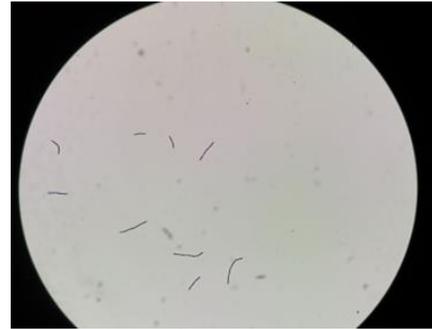


Gambar 1. Hasil peremajaan bakteri endofit F4

Pada **Gambar 1** terlihat bahwa kontrol negatif dari isolat bakteri endofit F4 permukaan media agar miring tidak ditumbuhi oleh mikroba lain, tidak terkontaminasi sehingga dapat disimpulkan bahwa pada kontrol positif merupakan bakteri endofit murni F4.

3.2. Identifikasi Koloni Bakteri Endofit F4

Identifikasi koloni bakteri bertujuan untuk mengonfirmasi identitas bakteri endofit F4 yang telah dipisahkan menjadi koloni tunggal dengan menggunakan pewarnaan gram bakteri yang dibedakan menjadi gram positif dan negatif.



Gambar 2. Hasil pewarnaan gram positif isolat F4

Pengamatan dengan mikroskop menunjukkan bahwa bakteri endofit F4 memiliki bentuk basil dengan jenis gram positif yang ditandai dengan terlihatnya warna ungu, hal ini terjadi karena bakteri dapat mempertahankan zat warna kristal setelah dilakukan pencucian dengan alkohol.

Pewarnaan gram berguna untuk membedakan bakteri tersebut termasuk gram positif atau gram negatif. Perbedaan ini didasarkan pada struktur dinding sel bakteri dan kemampuannya untuk mengikat zat warna. Bakteri gram positif akan mempertahankan warna ungu dari pewarna kristal violet dan bakteri negatif akan mempertahankan warna merah dari pewarna safranin [11]. Menurut Lay [12], perbedaan hasil pewarnaan disebabkan oleh adanya perbedaan struktur kedua kelompok bakteri sehingga terjadi perbedaan reaksi dalam permeabilitas zat warna penambahan larutan pemucat. Selain itu pewarnaan ini didasarkan pada tebal atau tipisnya lapisan peptidoglikan di dinding sel dan banyak sedikitnya lapisan lemak pada membran sel bakteri. Jenis bakteri berdasarkan pewarnaan gram dibagi menjadi dua yaitu gram positif dan gram negatif. Gambar 2 menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit F4 adalah gram positif karena dinding sel yang tebal yang terdiri dari peptidoglikan.

Hasil identifikasi koloni tunggal F4a, F4b dan F4c menunjukkan hasil yang sama yaitu menunjukkan isolat bakteri endofit F4 adalah gram positif.

Tabel 1. Hasil karakteristik morfologi koloni bakteri endofit F4

Kriteria	Hasil
Warna Koloni	Putih
Bentuk Koloni	Bulat
Bentuk Tepi Koloni	Halus
Bentuk Sel	Basil (Batang)
Gram	Positif

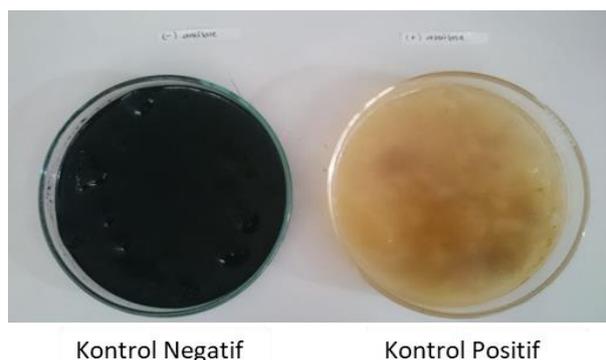
3.3. Uji Potensi Enzim Ekstra Seluler Bakteri Endofit F4

3.3.1. Enzim Amilase

Uji enzim ekstraseluler amilase secara kualitatif dilakukan pada media selektif agar untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri endofit F4

Doi:

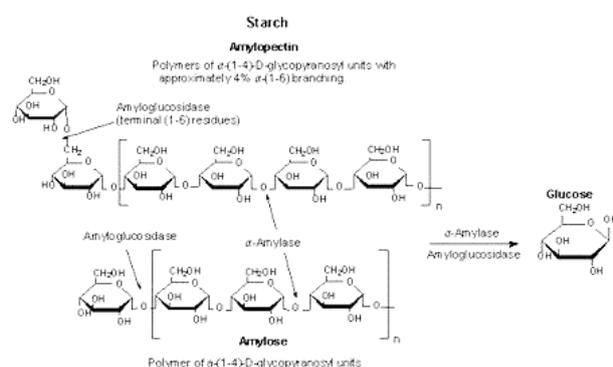
yang telah berhasil diisolasi dari penelitian Ramadhan [6] dalam menghasilkan enzim amilase.



Gambar 3. Hasil uji aktivitas enzim amilase secara kualitatif

Media yang digunakan dalam uji enzim amilase adalah soluble starch sebagai substrat. Isolat yang menghasilkan enzim amilase terlihat dari perubahan warna setelah penetesan larutan iodin menjadi kecoklatan yang menunjukkan bahwa pati (soluble starch) yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi senyawa yang sederhana seperti maltosa, dekstrin dan glukosa [13].

Gambar 3 menunjukkan mekanisme proses hidrolisis amilosa menjadi glukosa. α -amilase akan menghidrolisis ikatan 1,4- α -glikosida dengan memecah ikatan 1-4 yang terdapat dalam amilum. Enzim α -amilase disebut endo amilase sebab enzim ini memecah bagian dalam atau bagian tengah molekul amilum. Penentuan adanya amilase dengan didasarkan pada metode iodin. Uji positif ditandai dengan terbentuknya daerah terang dengan latar biru/ungu disekitar kultur (media pertumbuhan yang mengandung pati) setelah penambahan larutan KI/I₂ [14].



Gambar 4. Menunjukkan mekanisme proses hidrolisis amilosa [15]

Zona bening terbentuk karena enzim amilase yang disekresikan oleh isolat bakteri menghidrolisis molekul pati disekitarnya sehingga kompleks amilum-iodin dengan warna biru kehitaman yang disebabkan oleh penambahan iodin ke dalam media berkurang atau memudar. Warna biru/ungu adalah warna dari kompleks pati-iodin dimana keduanya saling berinteraksi dan iodin akan terperangkap dalam struktur pati. Akhirnya terbentuk kompleks pati-

iodin yang berwarna. Reaksi tersebut merupakan reaksi yang bersifat spesifik terhadap pati. Dengan demikian, uji tersebut dapat digunakan sebagai analisis pati dalam sampel baik kualitatif maupun kuantitatif. Aktivitas amilase dapat diperiksa dengan hilangnya warna biru/ungu pada medium pertumbuhan setelah penambahan iodin [13].

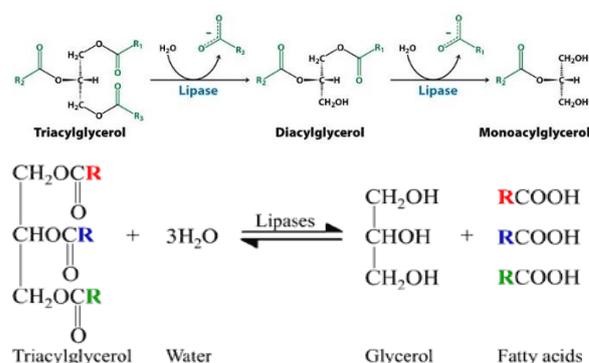
Beberapa kegunaan enzim amilase adalah sebagai suplemen dalam aktivitas diastatik [16], menyempurnakan dalam mencerna beberapa bahan makanan ternak sehingga membuat makanan lebih berguna [17]. Kegunaan lain adalah sebagai bahan mentah untuk membantu pencernaan makanan [18], degradasi pati dalam proses pembuatan tekstil [19] dan memperbaiki tekstur roti [20]. Namun, pada umumnya amilase banyak digunakan pada industri minuman misalnya pembuatan High Fructose Syrup (HFS).

3.3.2. Enzim Lipase

Enzim lipase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis rantai panjang trigliserida. Enzim lipase termasuk dalam enzim induktif yang sangat dipengaruhi oleh adanya konsentrasi minyak atau lemak di dalam substrat. Enzim lipase adalah enzim hidrolase yang berperan sebagai biokatalis dalam menghidrolisis lemak mono-, di-, dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol [13].

Salah satu karakteristik utama dari lipase, yaitu enzim ini dapat bekerja pada lapisan antar muka karena adanya perbedaan kepolaran antara lipase dengan substrat yang dikatalisisnya. Lipase cenderung bersifat polar, sedangkan substratnya berupa senyawa non polar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka antara fasa yang larut dalam air dan fasa minyak dari substratnya [21]. Aktivasi pada lapisan antar muka dari lipase ini akan meningkat ketika substrat yang tersedia berada dalam bentuk emulsinya. Sebagai akibat dari karakteristik ini, maka kinetika dari lipase tidak mengikuti aturan klasik model Michaelis-Menten [22].

Substrat dan produk yang dihasilkan dari katalitik lipase ini terkadang bersifat tidak dapat larut dengan baik dalam media air. Hal ini membuat enzim dapat dengan mudah dipisahkan dari substrat dan produknya.

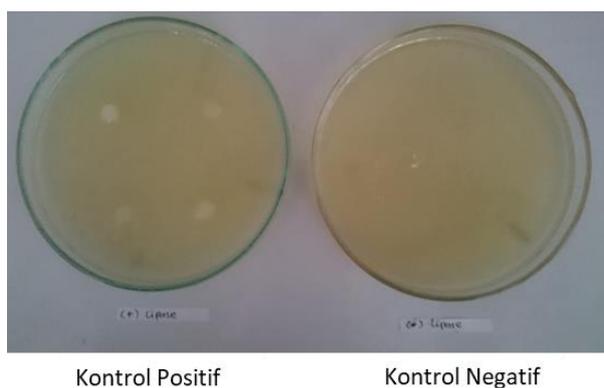


Gambar 5. Mekanisme Reaksi Enzim Lipase [15]

Lipase yang dihasilkan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah lama

Doi:

waktu inkubasi. Lama waktu inkubasi mempengaruhi jumlah lipase yang dihasilkan. Kemampuan bakteri dalam menghasilkan lipase telah ditemukan dengan lama waktu inkubasi dari beberapa jam sampai beberapa hari. Bakteri endofit mampu menghasilkan enzim lipase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa substrat lemak yang terdapat pada minyak zaitun telah pecah menjadi asam lemak dan gliserol. Bakteri endofit F4 tidak dapat menghasilkan enzim lipase yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram.



Gambar 6. Hasil Uji Enzim Lipase Ekstraseluler

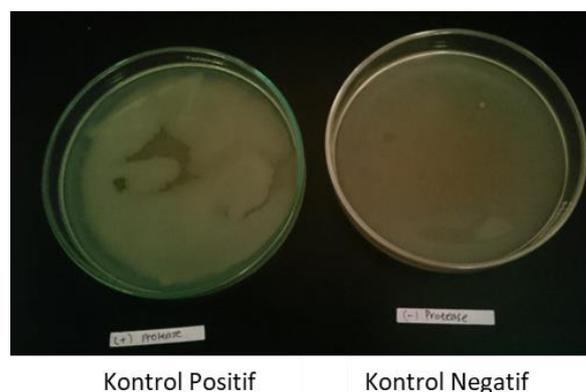
Lipase digunakan untuk memecah atau menghidrolisis lemak susu dan memberikan flavour keju yang khas. Flavour dihasilkan karena adanya asam lemak bebas yang diproduksi ketika lemak susu dihidrolisis. Selain pada industri pengolahan susu Lipase juga digunakan pada industri lainnya. Mikroba penghasil lipase antara lain adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Enzim lipase ini digunakan sebagai biokatalis untuk memproduksi asam lemak bebas, gliserol, berbagai ester, sebagian gliserida, dan lemak yang dimodifikasi atau diesterifikasi dari substrat yang murah, seperti minyak kelapa sawit. Produk-produk tersebut secara luas digunakan dalam industri farmasi, kimia dan makanan [23].

3.4.3. Enzim Protease

Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan enzim protease dapat diketahui dengan cara menumbuhkan bakteri pada media susu skim agar (Skim Milk Agar) selama 20 jam pada suhu kamar. Skim Milk Agar merupakan media yang terdiri dari susu skim. Susu skim mengandung protein tinggi sekitar 3,7 % dan lemak yang rendah sekitar 0,1% . Setelah bakteri ditumbuhkan pada media Skim Milk Agar selama 20 jam pada suhu kamar, zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri diamati. Penggunaan suhu kamar dan waktu inkubasi 20 jam tersebut dikarenakan bakteri endofit F3 ini termasuk bakteri mesofilik yang mampu tumbuh baik pada kisaran suhu 20°C-40°C,

sedangkan digunakan waktu inkubasi 20 jam karena bakteri F3 ini memiliki pertumbuhan yang cepat karena sudah masuk pada fase eksponensial akhir menuju fase stationer sesuai dengan grafik pertumbuhan yang didapatkan pada penelitian Putri (2017).

Menurut Buckle *et al.* [24], lama waktu inkubasi berkaitan dengan waktu pertumbuhan optimum untuk setiap bakteri berbeda bergantung pada masing-masing spesies. Bakteri endofit mampu menghasilkan enzim protease setelah diinkubasi selama 20 jam. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa substrat protein yang terdapat pada media susu skim telah pecah menjadi peptida sederhana dan asam amino oleh enzim protease.



Gambar 7. Hasil Uji Enzim Protease Ekstraseluler

Susu skim mengandung kasein yang dapat dipecah oleh mikroorganisme proteolitik menjadi senyawa nitrogen terlarut sehingga pada koloni dikelilingi area bening, sehingga kejadian tersebut menunjukkan bahwa mikroba tersebut mempunyai aktivitas proteolitik. Protease akan mendegradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptida CO-NH dengan masuknya air ke dalam molekul. Pada dasarnya semua bakteri mempunyai enzim protease didalam sel tetapi tidak semua bakteri mempunyai enzim protease ekstraseluler [25].

Umumnya bakteri endofit dapat menghasilkan enzim-enzim ekstraseluler seperti protease pada fase eksponensial. Pada fase ini merupakan fase perbanyakkan sel dimana bakteri melakukan konsumsi nutrisi untuk memenuhi kebutuhannya. Sehingga berbagai macam proses fisiologis terjadi pada fase ini [26].

Nutrisi pada bakteri endofit dapat diperoleh dengan cara menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease yang memecah protein menjadi asam amino. Bakteri endofit memenuhi nutrisinya untuk tumbuh dan berkembang biak. Protease yang dipakai secara komersial seperti serine, protease, dan metalloprotease biasanya berasal dari *Bacillus subtilis* yang mempunyai kemampuan produksi dan sekresi enzim yang tinggi. Enzim protease berfungsi melembekkan, melembutkan atau menurunkan gluten yang membentuk protein. Contoh protease yang dapat dimanfaatkan adalah bromelin dan papain sebagai bahan pengempuk daging. Enzim protease dapat digunakan sebagai pelembut daging

Doi:

bagi daging yang liat supaya mudah dikunyah, dan membantu menanggalkan kulit ikan dalam industri pengetinan ikan. Selain itu enzim protease juga digunakan untuk penyamakan kulit binatang yang ramah lingkungan sehingga dihasilkan kulit yang siap digunakan untuk pembuatan produk-produk hilir seperti sepatu, dompet, ikat pinggang, jok kursi dan sebagainya [27].

4. Kesimpulan

Hasil yang didapatkan adalah isolat bakteri F4 berwarna putih, bulat dan tepi bulatan halus yang merupakan gram positif dengan morfologi sel tunggal berbentuk bacillus (batang). Bakteri F4 memiliki potensi kandungan enzim ekstraseluler amilase dan protease.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Tim Peneliti dan Laboratorium Biokimia Undip untuk fasilitas, saran, dan diskusinya.

Daftar Pustaka

- [1] Yogiraj, Vijay, Pradeep Kumar Goyal, Chetan Singh Chauhan, Anju Goyal, Bhupendra Vyas, Carica pepaya Linn: an overview, *International Journal of Herbal Medicine*, 2, 5, (2014), 01-08
- [2] Ekaiko, U.M., Chiwendu Stephen, E.O. Ukpabi, Ezikpe C.A., Antimicrobial Screening and Phytochemical Analysis of *Carica papaya* Leaf Extracts, *Standard Research Journal of Microbiological Sciences*, 2, (2015), 1-4
- [3] Doley, Prabhali, Dhruva Kumar Jha, Antimicrobial activity of bacterial endophytes from medicinal endemic plant *Garcinia lancifolia* Roxb, *Annals of Plant Sciences*, 4, 12, (2016), 1243-1247
- [4] Dasa, Ipsita, Mrunmaya Kumar Pandaa, Chandi C. Rathb, Kumananda Tayungc, Bioactivities of bacterial endophytes isolated from leaf tissues of *Hyptis suaveolens* against some clinically significant pathogens, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7, 8, (2017), 131-136
<http://dx.doi.org/10.7324/JAPS.2017.70818>
- [5] Nursulistyarini, Fenni, Erny Qurotul Ainy, Isolasi dan identifikasi bakteri endofit penghasil antibakteri dari daun tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*, 2014
- [6] Ramadhan, F.A., Isolasi Bakteri Endofit asal Daun Pepaya (*Carica Pepaya*) dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Metabolit Sekundernya, Jurusan Kimia Universitas Diponegoro Semarang, 2015
- [7] Sarjono, Purbowatiningrum Ria, Hendra Dwipa Rifky Mahardika, Nies S. Mulyani, Ngadiwiyanana, Nor Basid Adi Prasetyawibowo, Ismiyanto Ismiyanto, Aktivitas antidiabetes metabolit sekunder bakteri endofit asal kulit kayu manis, (2021),
- [8] Sianturi, Dessy Christina, Isolasi bakteri dan uji aktivitas amilase termofil kasar dari sumber air panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara, Ilmu Biologi, Universitas Sumatera Utara, Medan, 2008
- [9] Cappucino, J.G., N. Sherman, in, Addison-Wesley Publ. Company, Inc, Menlo Park, 1983,
- [10] Charlena, Charlena, Profil kelarutan limbah minyak bumi dalam air akibat pengaruh surfaktan nonionik dan laju pengadukan, *CHEMISTRY PROGRESS*, 2, 2, (2019), 69-78
- [11] Brooks, G. F., J. S. Butel, L. N. Ornston, E. Jawetz, J. L. Melnick, E. A. Adelberg, Medical parasitology, in: T.G. Mitchell (Ed.) *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, McGraw-Hill, United Kingdom, 2004,
- [12] Lay, Bibiana W., Analisis mikroba di laboratorium, (1994),
- [13] Winarno, F.G., *Enzim Pangan dan Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 1986,
- [14] Poedjiadi, Anna, F.M. Titin Supriyanti, Dasar-dasar Biokimia Edisi Revisi, *UI-Press. Jakarta*, (2006),
- [15] Beng, Jeremy Mark, John L. Tymoczko, Lubert Stryer, *Biochemistry*, 7th ed., W.H. Freeman, Basingstoke, 2012,
- [16] Tam, Jorge Juan, John R. Whitaker, Rates and extents of hydrolysis of several caseins by pepsin, rennin, *Endothia parasitica* protease and *Mucor pusillus* protease, *Journal of Dairy Science*, 55, 11, (1972), 1523-1531
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(72\)85714-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(72)85714-X)
- [17] Rutten, Rita, Andrew J. Daugulis, Continuous production of α -amylase by *Bacillus amyloliquefaciens* in a two-stage fermentor, *Biotechnology letters*, 9, 7, (1987), 505-510
<https://doi.org/10.1007/BF01027461>
- [18] Pamatong, F.V., Enzymatic production of maltodextrin from cassava starch, (1991),
- [19] Bajpai, Pratima, Pramod K. Bajpai, High-temperature alkaline α -amylase from *Bacillus iicheniformis* TCRDC-B13, *Biotechnology and Bioengineering*, 33, 1, (1989), 72-78
<https://doi.org/10.1002/bit.260330110>
- [20] Lowry, Oliver H., Nira J. Rosebrough, A. Lewis Farr, Rose J. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 1, (1951), 265-275

Doi:

[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)

- [21] Dali, Seniwati, Abd. Rauf Patong, M. Noor Jalaluddin, Pirman AP, Optimasi produksi enzim lipase dari isolat *Aspergillus oryzae* pada kopra berjamur, (2010),
- [22] Jaeger, Karl-Erich, Stéphane Ransac, Bauke W. Dijkstra, Charles Colson, Margreet van Heuvel, Onno Misset, Bacterial lipases, *FEMS Microbiology Reviews*, 15, 1, (1994), 29 – 63
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1994.tb00121.x>
- [23] Anggoro, Didi Dwi, Faleh Setia Budi, Proses gliserolisis minyak kelapa sawit menjadi mono dan diacyl gliserol dengan pelarut nbutanol dan katalis MgO, *Reaktor*, 12, 1, (2008), 22-28
- [24] Buckle, K.A., R.A. Edwards G.H. Fleet, F.M. Wooton, in, Universitas Indonesia Press. Jakarta, 1985,
- [25] Fardiaz, S., *Mikrobiologi Pangan 1*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 1992,
- [26] Purwoko, T., *Fisiologi Mikroba*, 1st ed., Bumi Aksara, Jakarta, 2007,
- [27] Pawiroharsono, Suyanto, Penerapan Enzim untuk Penyamakan Kulit Ramah Lingkungan, *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 9, 1, (2008),
<https://doi.org/10.29122/jtl.v9i1.443>