

NICHE Journal of Tropical Biology

Available online: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche>

Isolasi dan penapisan bakteri proteolitik endofit tanaman pepaya (*Carica papaya* L.)

Isolation and screening of endophytic proteolytic bacteria in papaya plants (*Carica papaya* L.)

Lailatul Mubarokhah^a, Wijanarka^b, dan MG. Isworo Rukmi^{a,b,*}

*Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika
Universitas Diponegoro*

Jl. Prof. Sudarto No.13, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275

A B S T R A C T

In the industrial era, the need for enzymes continues to increase, for example, proteases. Protease is an enzyme that can accelerate the hydrolysis of protein into amino acids. One of the protease enzymes in the form of papain which is often used for meat tenderizer is the papaya plant (*Carica papaya* L.). The objective of this study was to obtain endophytic bacterial isolates of the *Carica papaya* L. plant and determine their proteolytic activity. Endophytic bacteria were isolated from the root, trunk, petiole and leaves of *Carica papaya* L. Characterization of endophytic bacteria was carried out by macroscopic and microscopic observations. Proteolytic anchovies were screened using Skim Milk Agar and Nutrient Gelatin media. Then the three bacterial isolates with the highest proteolytic index were counted their proteolytic activity every 4 hours for 48 hours. The isolation results obtained that one endophytic bacterial isolate came from the root, four from the petiole, and fourteen from the leaf, while the endophytic bacteria on the stem could not be isolated. The results of screening for proteolytic bacteria contained eight endophytic bacterial isolates that were only able to hydrolyze casein substrate, one isolate was only able to hydrolyze gelatin substrate, four isolates were able to hydrolyze casein and gelatin substrates, while six isolates were unable to hydrolyze casein and gelatin substrates.

Keywords: endophytes, *C. papaya*, proteolytic bacteria.

A B S T R A K

Pada era industri, kebutuhan akan enzim terus meningkat contohnya adalah protease. Protease adalah enzim yang mampu mempercepat hidrolisis protein menjadi asam amino, salah satu penghasil enzim protease berupa papain yang sering digunakan untuk pengempuk daging adalah tanaman pepaya (*Carica papaya* L.). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri endofit tanaman *Carica papaya* L. dan mengetahui aktivitas proteolitiknya. Bakteri endofit diisolasi dari bagian akar, batang, tangkai daun, dan daun *Carica papaya* L. Karakterisasi bakteri endofit dilakukan dengan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Penapisan bakteri proteolitik dilakukan menggunakan media Skim Milk Agar dan Nutrient Gelatin kemudian tiga isolat bakteri yang memiliki indeks proteolitik tertinggi dihitung aktivitas proteasennya setiap 4 jam sekali selama 48 jam. Hasil isolasi diperoleh satu isolat bakteri endofit berasal dari akar, empat dari tangkai daun, dan empat belas dari daun, sedangkan bakteri endofit pada batang tidak dapat diisolasi. Hasil penapisan bakteri proteolitik terdapat delapan isolat bakteri endofit yang hanya mampu menghidrolisis substrat kasein, satu isolat yang hanya mampu menghidrolisis substrat gelatin, empat isolat yang mampu menghidrolisis substrat kasein dan gelatin, sedangkan enam isolat yang tidak mampu menghidrolisis substrat kasein dan gelatin.

Kata kunci: bakteri proteolitik, endofit, *C. Papaya*

I. PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu bioteknologi telah menempatkan penggunaan enzim sebagai salah satu alternatif untuk berbagai keperluan. Kebutuhan akan enzim meningkat sejalan dengan naiknya kebutuhan enzim dalam dunia industri. Beberapa jenis enzim yang dibutuhkan untuk industri antara lain adalah protease. Protease merupakan

*Penulis korespondensi: isworo.rukmi@gmail.com

enzim yang mampu mempercepat hidrolisis protein menjadi asam amino (Rodwell *et al.*, 2015). Protease mencakup 60% dari total enzim yang paling komersial.

Protease dapat dihasilkan dari tumbuhan, hewan dan mikroba. Sumber protease yang sering digunakan adalah mikroba karena pertumbuhannya yang cepat dan kemudahannya dimanipulasi secara genetik untuk menghasilkan enzim baru, contoh spesies yang digunakan sebagai sumber protease pada mikroba adalah strain *Bacillus* sp. (Chander & Puri, 2019), *Aspergillus* sp. dan *Trichoderma* sp (Brahmachari *et al.*, 2017).

Salah satu penghasil enzim protease adalah tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) yang diketahui mengandung suatu enzim proteolitik berupa papain. Papain secara tradisional telah banyak digunakan sebagai pengempuk daging dan juga sudah tersedia dalam kemasan bubuk. Penggunaan papain secara tradisional untuk pengempuk daging dilakukan dengan cara membungkus daging dengan daun pepaya segar.

Papain merupakan hasil metabolit sekunder yang digunakan untuk melindungi tanaman pepaya dari gangguan predator. Biosintesis metabolit sekunder pada tanaman seringkali disebabkan oleh adanya mikroba endofit. Papain yang merupakan metabolit sekunder pada tanaman pepaya diduga diproduksi dengan bantuan mikroba endofit yang berada di dalam tanaman tersebut. Mikroba endofit adalah mikroorganisme yang tinggal dalam jaringan tumbuhan sepanjang atau sebagian siklus hidupnya tanpa membahayakan tanaman inang (Maheshwari & Annapurna, 2017).

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka dipandang perlu untuk mengeksplorasi bakteri endofit pada seluruh bagian tanaman *Carica papaya* L. dan menguji aktivitas proteolitiknya.

I. MATERI DAN METODE

Lokasi pengambilan sampel tanaman *Carica papaya* L. yaitu kebun pribadi milik salah satu warga penduduk di Desa Menoreh, Kecamatan Salaman, Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah.

Proses isolasi, penapisan, dan uji aktivitas protease bakteri endofit dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Penelitian ini dilaksanakan dari Januari 2020 sampai dengan Maret 2020.

Pengambilan Sampel

Sampel tanaman *Carica papaya* L. yang digunakan berasal dari tumbuhan sehat dan subur serta sudah pernah berbuah. Hal ini mengindikasikan bahwa umur tanaman sudah cukup stabil dan tidak sedang berpenyakit. Sampel yang diambil adalah bagian tanaman *Carica papaya* L. meliputi daun, tangkai daun, batang, dan akar. Daun yang diambil adalah daun kelima dari pucuk. Tangkai daun yang diambil adalah bagian ujung, tengah, dan pangkal tangkai daun. Batang yang diambil adalah bagian ujung batang yang belum berongga. Akar yang diambil adalah akar sekunder tanaman pepaya.

Isolasi Bakteri Endofit

Organ tanaman yang digunakan sebagai sumber isolat bakteri, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, selanjutnya setiap sampel organ tanaman dipotong sebesar 1 cm x 1 cm. Sampel organ tanaman yang selanjutnya disebut eksplan direndam dengan alkohol 70 % selama 1 menit, dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan *Bayclin* (5,3 % natrium hipoklorit) selama 2 menit, selanjutnya dicuci dalam air steril sebanyak 3 kali dan dikeringkan menggunakan kertas tisu steril. Eksplan yang sudah disterilisasi permukaannya kemudian diletakkan secara aseptis pada media Nutrien Agar dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 34°C–37°C selama 48 jam. Koloni bakteri representatif yang tumbuh pada eksplan diisolasi ke dalam medium NA miring.

Penapisan Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri Endofit

Isolat bakteri endofit pada medium NA berumur 24 jam diinokulasikan secara aseptis pada medium *Skim Milk Agar* (SMA) dalam cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas proteolitik dari isolat bakteri endofit pada medium *Skim Milk Agar* (SMA) ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni bakteri (Shuva *et al.*, 2015).

Rumus indeks proteolitik :

$$IP = \frac{a}{b}$$

Keterangan :

- a = diameter zona bening
- b = diameter koloni

Karakterisasi Isolat Bakteri Proteolitik Endofit

a. Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Endofit

Ikan secara aseptis pada medium NA dalam cawan petri dengan teknik *pour plate* dan *spread plate* kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam untuk mendapatkan koloni tunggal. Koloni yang tumbuh diamati ukuran, warna, tepian, dan elevasinya.

b. Karakterisasi Bakteri Endofit berdasarkan Kebutuhan Oksigen

Isolat bakteri endofit diinokulasikan secara aseptis pada medium NA miring kemudian diinkubasi dalam inkubator dan anaerobic jar selama 24 jam. Bakteri aerob akan tumbuh ketika diinkubasi di dalam inkubator, sedangkan bakteri anaerob fakultatif, mikroaerofil, atau kapnofil akan tumbuh ketika diinkubasi di dalam anaerobic jar.

c. Karakterisasi Morfologi Sel Bakteri Endofit

Karakterisasi morfologi sel bakteri dilakukan dengan pewarnaan Gram. Biakan bakteri endofit pada medium NA berumur 16–18 jam diambil 1 ose dan diletakkan dalam tetesan akuades steril di atas kaca obyek yang bersih dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat apusan bakteri ditetesi dengan larutan Kristal Violet (Gram A) selama 30 detik, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan menggunakan kertas tisu, selanjutnya ditetesi dengan Lugol's Iodine (Gram B) dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan. Tahap selanjutnya preparat apusan bakteri ditetesi dengan Alkohol 95% (Gram C) selama 5–15 detik, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan, preparat apusan kemudian ditetesi dengan larutan Safranin (Gram D) dibiarkan selama 1 menit dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan menggunakan kertas tisu. Preparat bakteri diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi. Bakteri Gram positif akan bewarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan bewarna merah (Brown & Smith, 2015).

d. Uji Gelatinase

Isolat bakteri endofit pada medium NA berumur 24 jam diinokulasikan secara aseptis pada medium *Nutrient Gelatin* dalam tabung reaksi, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator. Uji positif ditunjukkan dengan cairnya gelatin walaupun diinkubasi pada suhu 4°C.

II. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit *Carica papaya* L.

Isolasi bakteri endofit dari bagian akar, batang, tangkai daun, dan daun tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) var. California mendapatkan 19 isolat yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Isolat bakteri endofit tanaman *Carica papaya* L.

Bagian tanaman	Jumlah isolat
Akar	1
Batang	0
Tangkai daun	4
Daun	14

Data tersebut menunjukkan bahwa 73,68% bakteri endofit ditemukan pada bagian daun, sedangkan sisanya ditemukan pada bagian akar dan tangkai daun. Pada bagian batang tidak ditemukan bakteri endofit. Menurut Kandel *et al.* (2017) bahwa koloni bakteri endofit dapat terdistribusi dalam semua organ tanaman. Belum ditemukan penelitian eksplorasi mengenai bakteri endofit yang diisolasi dari bagian-bagian tanaman pepaya.

Bagian tanaman pepaya yang sering digunakan adalah bagian daun dan buah. Daun pepaya mengandung metabolit sekunder berupa papain. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ikram *et al.* (2015) bahwa daun pepaya

ditemukan mengandung alkaloid termasuk karpain dan pseudokarpain, enzim (papain, chymopapain, cystatin), tokoferol, asam askorbat, flavonoid, tanin, asam nikotinat, saponin dan senyawa fenolik lainnya.

Penapisan Aktivitas Proteolitik dari Isolat Bakteri Endofit *Carica papaya* L.

Tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) diketahui memiliki enzim proteolitik berupa papain yang merupakan metabolit sekunder senyawa yang dihasilkan tetapi tidak digunakan dalam pertumbuhan tanaman pepaya. Hal ini sesuai dengan pendapat Julianto (2019) bahwa metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan dalam jalur metabolisme yang walaupun dibutuhkan tapi dianggap tidak penting perannya dalam pertumbuhan suatu tumbuhan.

Biosintesis metabolit sekunder pada tanaman seringkali berhubungan dengan adanya mikroba endofit. Mikroba endofit adalah mikroorganisme yang tinggal dalam jaringan tumbuhan sepanjang atau sebagian siklus hidupnya tanpa membahayakan tanaman inang (Mukherjee *et al.*, 2017). Mengingat bahwa daun pepaya dikenal mengandung papain, maka isolat bakteri yang diperoleh akan diuji kemampuan proteolitiknya. Tabel 2. menunjukkan hasil penapisan aktivitas proteolitik dari 19 isolat bakteri endofit *Carica papaya* L.

Tabel 2. Aktivitas proteolitik dari bakteri endofit tanaman *Carica papaya* L.

Kode Isolat	Indeks proteolitik kaseinase	Kode Isolat	Indeks proteolitik kaseinase
PD1	-	PD11	1.67
PD2	-	PD12	1.13
PD3	1.49	PD13	3.76
PD4	3.33	PD14	-
PD5	-	PA	2.96
PD6	-	PT1	1.42
PD7	-	PT2	1.42
PD8	-	PT3	2.17
PD9	3.36	PT4	1.25
PD10	1.98		

Hasil penapisan menunjukkan hanya 12 isolat dari 19 isolat yang mempunyai aktivitas proteolitik. Isolat yang mempunyai aktivitas proteolitik tertinggi berasal dari daun, hal ini sesuai dengan kebiasaan masyarakat yang menggunakan daun pepaya sebagai pengempuk daging daripada bagian lain dari tanaman pepaya. Menurut Lismawati dkk (2017) bahwa daun pepaya banyak mengandung getah dimana dalam getah tersebut mengandung banyak papain yang dapat digunakan dalam proses pengempukan daging.

Kehadiran bakteri endofit proteolitik pada daun pepaya yang diketahui mengandung enzim protease papain dapat dipahami, karena menurut Krishnan *et al.* (2012) mikroba endofit, dapat menghasilkan metabolit seperti yang terkandung dalam tanaman yang bersangkutan.

Berdasarkan uraian di atas, dipilih 3 isolat yang memiliki indeks proteolitik tinggi yaitu isolat PD4, PD9, dan PD13 dengan indeks proteolitik berturut-turut adalah 3,33; 3,36; dan 3,76 untuk diteliti lebih lanjut.

Karakterisasi Isolat Bakteri Endofit Proteolitik Potensial *Carica papaya* L.

Tiga isolat bakteri endofit proteolitik kemudian dikarakterisasi morfologi sel dan morfologi koloninya (Tabel 3 dan Gambar 1). Ketiga koloni isolat bakteri tersebut berwarna putih dan elevasi rata. Koloni memiliki bentuk dan tepian bervariasi. Isolat PD4 adalah bakteri Gram negatif berbentuk kokus, koloni berwarna putih berbentuk bulat rata dengan tepian rata dan mampu menghidrolisis kasein tetapi tidak menghidrolisis gelatin. Isolat PD9 adalah bakteri Gram positif berbentuk batang, koloni berwarna putih berbentuk filamentus rata dengan tepian filiform dan mampu menghidrolisis kasein dan gelatin. Isolat PD13 adalah bakteri Gram negatif berbentuk kokus, koloni berbentuk tidak beraturan rata berwarna putih dengan tepian undulate dan mampu menghidrolisis kasein tetapi tidak mampu menghidrolisis gelatin.

Tabel 3. Karakteristik bakteri proteolitik endofit tanaman *Carica papaya* L.

Kode Isolat	Aktivitas Proteolitik		Morfologi Sel		Morfologi Koloni				Oxygen Requirement		
	Kaseinase	Pencairan gelatin	Gram	Cell Arrangement	Endo-spora	Ukuran (cm)	War-na	Ben-tuk	Tepi-an		
PD4	+	-	-	dk	-	0.4	w	b	e	r	af
PD9	+	+	+	db	-	0.2	w	f	l	r	af
PD13	+	-	-	pk	-	2.7	w	tb	u	r	af

Keterangan:

w: putih

b: bulat

tb: tidak beraturan

f: filamentus

e: entire (rata)

u: undulate (bergelombang)

l: filiform (benang)

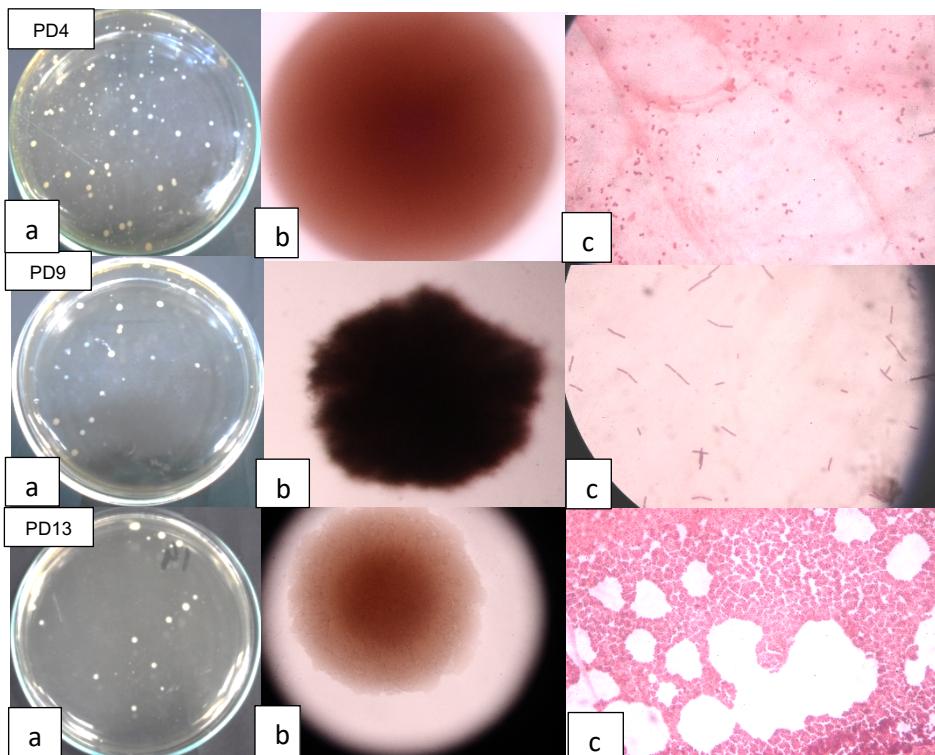
r: rata

dk: diplokokus

pk: staphilokokus

db: diplobasil

af: anaerob fakultatif

**Gambar 1.** Koloni isolat dan bentuk sel bakteri

Keterangan: bentuk koloni pada cawan petri (a), bentuk koloni di bawah mikroskop (b), dan bentuk sel bakteri (c)

Uji aktivitas proteolitik pada substrat kasein dan gelatin dilakukan untuk mengetahui sifat proteolitik dari bakteri endofit tanaman pepaya, dengan substrat yang berbeda yaitu kasein dan gelatin. Uji ini dapat digunakan untuk identifikasi spesies bakteri lebih lanjut. Hal ini sesuai pernyataan Farha *et al.* (2018) bahwa berbagai uji enzimatis perlu dilakukan untuk mengetahui pohon filogenetik suatu spesies bakteri, seperti uji amilase, kaseinase, selulase, gelatinase, lipase, dan ligninase.

Bakteri endofit proteolitik merupakan bakteri anaerob fakultatif sesuai dengan pernyataan Wilson dkk (2017) bahwa kebanyakan bakteri endofit memiliki karakteristik anaerob obligat atau anaerob fakultatif. Bakteri endofit ditemukan paling banyak pada daun dan bersifat anaerobik fakultatif, hal ini berhubungan dengan habitat asalnya yaitu daun sebagai tempat fotosintesis yang konsentrasi oksigen di dalamnya tumbuhan lebih rendah dibandingkan dengan luar tumbuhan (D'Aoust & Canvin, 2011). Tumbuhan melakukan fiksasi CO₂ selama fotosintesis sebagai salah satu bahan utama fotosintesis (Johnson, 2016).

Ketiga isolat bakteri endofit tersebut (PD4, PD9, dan PD13) dapat pula disebut sebagai bakteri kapnofil, karena mampu tumbuh pada lingkungan dengan kadar CO₂ tinggi. Menurut Santillan *et al.* (2015) bakteri kapnofil banyak diisolasi dari berbagai habitat termasuk di dalam tumbuhan, rongga mamalia, air limbah dan rumen hewan. Menurut

Krishnan *et al.*, (2012) bahwa spesies yang banyak ditemukan pada tanaman pepaya adalah genus *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Kocuria*, dan *Enterobacter*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Nurhayati di Laboratorium Bioteknologi Universitas Diponegoro atas masukkannya dalam penulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Brahmachari, G., A. L. Demain, & J. L. Adrio. (2017). *Biotechnology of Microbial Enzymes Production, Biocatalysis and Industrial Applications*. United Kingdom: Elsevier Inc.
- Brown, A. and H. Smith. (2015). *Benson's Microbiological Applications Laboratory Manual in Microbiology Thirteenth Edition* (pp. 105-108). New York: McGraw-Hill Education.
- Chander, M. and P. Puri. (2019). Recent Advances in Microbial Production of Proteases. *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 6(1), 64–76.
https://www.researchgate.net/publication/332289786_Recent_Advances_in_Microbial_Production_of_Proteases
- D'Aoust, A. L. and D. T. Canvin. (2011). Effect of Oxygen Concentration on The Rates of Photosynthesis and Photorespiration of Some Higher Plants. *Canadian Journal of Botany*, 51(2), 457–464.
https://www.researchgate.net/publication/237158633_Effect_of_oxygen_concentration_on_the_rates_of_photosynthesis_and_photorespiration_of_some_higher_plants
- Farha, A. K., T.R. Thasneem, A. Purushothaman, J. A. Salam, & A. M. Hatha. (2018). Phylogenetic Diversity and Biotechnological Potentials of Marine Bacteria from Continental Slope of Eastern Arabian Sea. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2018), 253–258.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687157X18300623?via%3Dhub>
- Ikram, E. H. K., R. Stanley, M. Netzel. K. Fanning. (2015). Phytochemicals of Papaya and Its Traditional Health and Culinary Uses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41 (2015), 201–211.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.02.010>
- Julianto, T. S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Kandel, S. L., P. M. Joubert, & S. L. Doty. (2017). Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Journal of Microorganisms*, 5(77), 1–26. <https://www.mdpi.com/2076-2607/5/4/77>
- Krishnan, P., R. Bhat, A. Kush, & P. Ravikumar. (2012). Isolation and Functional Characterization of Bacterial Endophytes from *Carica papaya* fruits. *Journal of Applied Microbiology*, 113, 308–317.
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2012.05340.x>
- Lismawati, R., T. R. Ferasyi. (2017). Daya Pengempukan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) dan Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus*) terhadap Daging Paha Ayam Kampung Dinilai dari Daya Putus dan Gambaran Mikroskopis. *Jurnal IMVET*, 01(4), 788–793. <https://doi.org/10.21157/jim%20vet..v1i4.5519>
- Maheshwari, D. K. and K. Annapurna. (2017). *Endophytes: Crop Productivity and Protection Volume 2*. Switzerland: Springer International Publishing AG.
- Mukherjee, A., P. Bhattacharjee, R. Das, A. Pal, & A. K. Paul. (2017). Endophytic Bacteria with Plant Growth Promoting Abilities from *Ophioglossum reticulatum* L. *AIMS Microbiology Journal*, 3(3), 596–612.
<http://www.aimspress.com/article/10.3934/microbiol.2017.3.596>
- Rodwell, V. W., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly & A. P. Weil. (2015). *Harper's Illustrated Biochemistry 30th Edition (Harper's Illustrated Biochemistry)*. New York: McGraw-Hill Education.
- Santillan, E. U., T. M. Shanahan, C. R. Omelon, J. R. Major, & P. C. Bennett. (2015). Isolation and Characterization of a CO₂-tolerant *Lactobacillus* strain from Crystal Geyser, Utah, U.S.A. *Original Research Journal of Frontiers in Earth Science*, 3, 41. <https://doi.org/10.3389/feart.2015.00041>
- Shuva, B., S. Islam, M. M. Ahmed, M. B. Hossain & Md. A. Hossain. (2015). Protease Producing Bacteria and Activity in Gut of Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(6), 489–500. <https://scialert.net/abstract/?doi=jfas.2015.489.500>
- Wilson, W., Y. A. Purwestri, L. Sembiring. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Skrining Antimikrobia Bakteri Endofit Tanaman Purwoceng (*Pimpinella pruatjan Molk.*). *Jurnal Laboran Medika*, 1(1), 1–6.
<http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed>