

# Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler Isolat Mikroba Endofit Mangrove (*Rhizophora mucronata*) di Kawasan Teluk Tomini

Rahayu Anatasya Putri Abdullah<sup>1</sup>, Wiwit Zuriati Uno<sup>2\*</sup>, Mahdalena Sy Pakaya<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,  
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

\* Penulis Korespondensi. Email: [wiwit@ung.ac.id](mailto:wiwit@ung.ac.id)

## ABSTRAK

Kemampuan yang dimiliki oleh mikroba endofit yakni menghasilkan senyawa yang serupa dengan tanaman inangnya salah satunya menghasilkan enzim ekstraseluler. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim ekstraseluler mikroba endofit tumbuhan Mangrove (*Rhizophora mucronata*) dari kawasan Teluk Tomini. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dengan menggunakan teknik difusi disk (*kirby bauer*) untuk pengujian aktivitas enzim ekstraseluler. Hasil uji aktivitas enzim ekstraseluler keempat isolate didapatkan bahwa keempat isolat memiliki aktivitas enzim ekstraseluler. Dari Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa mikroba endofit yang berasal dari Kawasan teluk tomini memiliki nilai Indeks Aktivitas Enzim (IAE) dengan kategori zona hidrolitik kecil sampai besar.

### Kata Kunci:

Enzim Ekstraseluler; Mangrove; Mikroba Endofit

**Diterima:**  
20-09-2024

**Disetujui:**  
24-11-2024

**Online:**  
23-12-2024

## ABSTRACT

The ability of endophytic microbes is to produce compounds similar to their host plants, one of which is producing extracellular enzymes. This study aims to determine the extracellular enzyme activity of endophytic microbes of Mangrove plants (*Rhizophora mucronata*) from the Tomini Bay area. This study used an experimental method carried out in the Pharmaceutical Microbiology Laboratory using the disk diffusion technique (Kirby Bauer) to test extracellular enzyme activity. The results of the extracellular enzyme activity test of the four isolates showed that all four isolates had extracellular enzyme activity. From this study, it can be concluded that endophytic microbes from the Tomini Bay area have an Enzyme Activity Index (IAE) value with a small to large hydrolytic zone.

Copyright © 2024 Jsscr. All rights reserved.

### Keywords:

Endophytic Microbes; Extracellular Enzymes; Mangroves

**Received:**  
2024-09-20

**Accepted:**  
2024 -11-24

**Online:**  
2024 -12-23

## 1. Pendahuluan

Teluk Tomini adalah teluk yang terletak di Kepulauan Sulawesi. Teluk ini terbentang luas di 13 kabupaten yang meliputi 3 Provinsi yakni Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, dan Gorontalo. Teluk Tomini memiliki luas perairan sebesar ± 137.700 km<sup>2</sup>, serta memiliki garis pantai sepanjang ± 1.350 km sehingga sering disebut sebagai

salah satu teluk terbesar yang ada di Indonesia. Teluk ini mempunyai peran penting bagi dunia karena letaknya yang persis berada di jantung segitiga karang dunia (*heart of the coral triangle*). Tepat berada di garis khatulistiwa dan memiliki ekosistem laut semi tertutup, teluk ini menyimpan sumber daya perikanan yang besar, terumbu karang endemik, serta sumber daya pesisir yang melimpah dan hamparan mangrove yang luas.

Mangrove adalah komunitas pohon atau tumbuhan yang hidup di antara lautan dan daratan yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Di Indonesia, terdapat sedikitnya 202 jenis tumbuhan mangrove yang meliputi 89 jenis pohon, 5 jenis pohon palem, 19 jenis tumbuhan merambat, 44 tumbuhan tanah, 44 spesies pohon epifit dan 1 spesies pakis. Di antara 202 spesies tersebut, 43 spesies (termasuk 33 spesies pohon dan beberapa semak) ditemukan sebagai mangrove sejati, sedangkan spesies lain ditemukan di dekat mangrove dan disebut mangrove pendamping [1]. Salah satu aspek menarik dari tumbuhan mangrove adalah kemungkinan keberadaan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Salah satu senyawa yang sering digunakan salah satunya yaitu senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan Mangrove.

Penelitian-penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak atau senyawa-senyawa yang berasal dari tumbuhan mangrove seperti saponin, tannin, flavonoid, dan alkaloid dapat menunjukkan aktivitas antibakteri, termasuk kemampuan untuk melawan bakteri patogen. Hal ini didukung oleh penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun dan akar *Rhizophora mucronata* memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri, termasuk *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas vulgaris*, dan *Pseudomonas aeruginosa* [2]. Temuan lain menyatakan bahwa ekstrak etanol dari kulit batang *Rhizophora mucronata* memiliki daya hambat yang lebih besar terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dibandingkan dengan ekstrak etanol dari daunnya. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Mahmiah dkk (2018) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kulit batang *Rhizophora mucronata* yang berasal dari Pantai Timur Surabaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Aeromonas hydrophila* [3].

Kemampuan mikroba endofit untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan inangnya merupakan tantangan yang sangat menarik dalam menyediakan bahan baku obat. Perbanyakan atau kultur mikroba endofit dapat dilakukan dalam jumlah yang besar tanpa memerlukan lahan yang luas seperti yang dibutuhkan oleh tumbuhan, serta waktu yang diperlukan sebelum panen lebih singkat. Penanganannya juga relatif lebih mudah dan kemungkinan besar lebih ekonomis dibandingkan dengan merawat kebun tumbuhan obat yang luas. Oleh karena itu, penggunaan mikroba endofit sebagai sumber bahan baku obat secara ekonomis diperkirakan lebih efisien dari pada menggunakan tumbuhan obat.

Mikroba endofit memiliki kontribusi lain seperti menghasilkan enzim ekstraseluler. Mikroba sendiri diketahui merupakan salah satu mikroorganisme yang unggul dalam usaha produksi enzim. Enzim dari mikroorganisme lebih menguntungkan dan produksinya lebih cepat dibandingkan enzim yang berasal dari tanaman dan hewan. Enzim sendiri memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari seperti pada bioremediasi, dalam bidang industri, pertanian, kesehatan, hingga teknologi rekayasa genetika. Penelitian sebelumnya menunjukkan mikroba endofit tumbuhan mangrove mampu menghasilkan aktivitas enzim ekstraseluler yaitu menghasilkan enzim amilase, protease, selulase dan gelatinase. Adapun penelitian serupa menyatakan bahwa mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman mangrove memiliki efektivitas enzimatik yaitu pada enzim amilase, selulase, lipase dan protease

yang didapatkan juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, Sedangkan isolat lain yang memiliki aktivitas enzimatis pada enzim amilase dan protease memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*[4], [5].

Melalui peran mereka dalam berbagai aplikasi dan proses alamiah, mikroba penghasil enzim ekstraseluler memiliki dampak yang sangat luas dan penting dalam mendukung keberlanjutan ekosistem, pengembangan teknologi, dan meningkatkan kesejahteraan manusia. Oleh karena itu peneliti tertarik melakukan penelitian tentang Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler Dari Isolat Mikroba Endofit Tumbuhan Mangrove (*Rhizophora mucronata*) Di Salah Satu Kawasan Teluk Tomini.

## 2. Metode

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni 2024 hingga selesai di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental, dimana akan dilakukan pengujian aktivitas enzim ekstraseluler terhadap mikroba endofit dari kawasan Teluk Tomini dengan metode difusi disk.

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan Autoklaf (Hirayama, Japan), Bunsen, Batang Pengaduk, Cawan Petri, Cawan Porselin, Erlenmeyer, Gelas Ukur, Gelas Kimia, Gunting, Inkubator (Climacell, Amerika), Inkubator Shaker (Climacell, Amerika), Disentrifugator Jarum Ose, Laminar air flow (Mess,China), Mikropipet (Eppendorf, German), Mikroskop (Nikon Eclipse, Japan), Oven (Mettler, German), Objek Glass, Pipet, Pinset, Penangas, Sendok Tanduk, Timbangan analitik (Osuka, Japan), Tabung Reaksi, dan Tabung Koagulan.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Alkohol 70%, Aluminium foil, Aquades, Aqua Pro Injeksi (*Otsuka, Jepang*), Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, Blank Disk CT0998B (*Oxoid, Amerika*), CMC (1%), Immersion oil, Kanji (1%), Kertas Label, Kapas, Kertas perkamen, Kloramfenikol Disk CT0412B (*Oxoid, Amerika*), Kristal Violet, Larutan gram iodine, Lugol (*Merck, German*), Mc farland, NaCl 0,9, Nutrient Agar (*Himedia, India*), Nutrient Broth (*Himedia, India*), Potato Dextrosa Agar (*Himedia, India*), Potato Dextrosa Broth (*Himedia, India*), Safranin (*Millipore, German*), Spiritus, Susu Skim (1%), Tween 80 (1%), Tisu, dan Zobell Marine Agar 2216 (*Oxoid, Amerika*).

### Prosedur Penelitian

Sampel Isolat Mikroba Endofit tumbuhan Mangrove (*Rhizophora mucronata*) diambil dari koleksi Kultur Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo.

### Sterilisasi alat

Alat-alat akan digunakan perlu disterilkan terlebih dahulu. Untuk alat gelas seperti tabung reaksi dan cawan petri disterilkan secara panas kering dalam oven dengan suhu 170°C selama 1 jam, jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara pemijaran langsung pada api, dan media disterilkan menggunakan autoklaf dengan tekanan uap air dengan suhu 121°C dan tekanan 15 lbs atau 1 atm selama 15 menit [6].

## **Pembuatan Media**

Media yang digunakan yakni media LBA (*Luria Bertani Agar*), NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), PDA (*Potato Dextro Agar*), dan PDB (*Potato Dextro Broth*) dibuat dengan cara menimbang masing-masing media sesuai petunjuk preparasi dan dilarutkan dengan aquades, kemudian diaduk. Media yang sudah homogen ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil pada bagian mulut erlenmeyer kemudian disterilkan pada autoklaf.

## **Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler**

Masing-masing isolat murni diinokulasikan kedalam 5 mL media NB pada tabung reaksi berbeda, kemudian dihomogenisasi menggunakan vorteks. Isolat diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.

## **Uji aktivitas enzim amilase**

Media LBA dan PDA yang sudah disterilkan dituangkan pada cawan petri yang telah berisi pati (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada masing-masing cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam diletakkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 30° selama 24 jam. Setelah itu ditetesi larutan lugol 1%. Identifikasi aktivitas enzim amilase ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram [4]

## **Uji aktivitas enzim protease**

Media LBA dan PDA yang sudah disterilkan dituangkan pada cawan petri yang telah berisi susu skim (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada masing-masing cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam diletakkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 30° selama 24 jam. Identifikasi aktivitas enzim protease ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram [4]

## **Uji aktivitas enzim selulase**

Media LBA dan PDA yang sudah disterilkan dituangkan pada cawan petri yang telah berisi CMC (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada masing-masing cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam diletakkan pada cawan petri selanjutnya diinkubasi pada suhu 30° selama 24 jam. Setelah itu ditetesi larutan congo red hingga seluruh permukaan media pada cawan tertutupi dan didiamkan selama 20 menit. Identifikasi aktivitas enzim protease ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram [7]

## **Uji aktivitas enzim lipase**

Media LBA dan PDA yang sudah disterilkan dituangkan pada cawan petri yang telah berisi tween (1%), kemudian dihomogenisasi lalu didiamkan sampai memadat, ditempatkan isolat bakteri dan jamur pada masing-masing cawan porselen sebagai media uji kemudian direndam kertas cakram steril pada media uji selama 30 menit. Kertas cakram steril yang telah direndam diletakkan pada cawan petri selanjutnya

diinkubasi pada suhu 30° selama 24 jam. Identifikasi aktivitas enzim lipase ditunjukkan dengan terbentuknya endapan asam lemak berwarna putih keruh disekitar kertas cakram [8]

### 3. Hasil dan Pembahasan

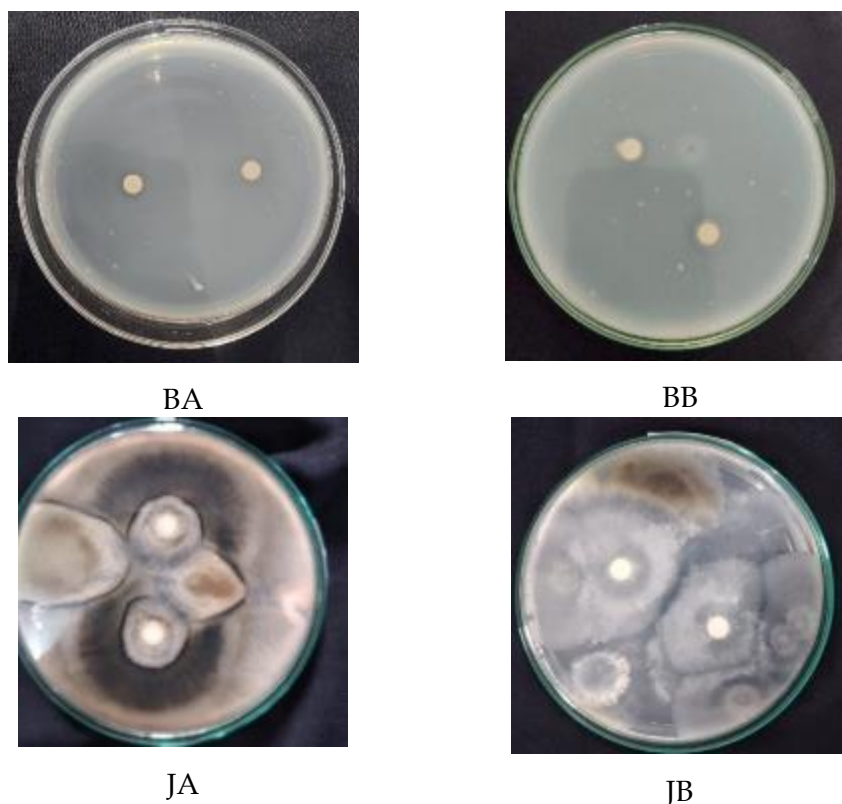
#### Aktivitas Enzim Protease

Isolasi mikroba endofit mangrove dari kawasan teluk tomini didapatkan sebanyak 4 isolat yakni 2 isolat bakteri yang diberi kode BA dan BB, dan 2 isolat jamur yang diberi kode JA dan JB. Adapun hasil pengujian enzim ekstraseluler dari keempat isolat mikroba endofit tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil uji aktivitas enzim protease mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

| Kode Isolat | Diameter Zona Hidrolitik (mm) | Diameter Koloni (mm) | Indeks Aktivitas Enzim (IAE) | Pembentukan Zona Hidrolitik |
|-------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------|
| BA          | 2,43                          | 7.75                 | 0,31                         | ++                          |
| BB          | 1,72                          | 8,75                 | 0,20                         | ++                          |
| JA          | -                             | 25.14                | -                            | -                           |
| JB          | 4.27                          | 20,23                | 0,21                         | ++                          |

Pada uji aktivitas enzim protease menggunakan metode tuang. Identifikasi aktivitas enzim protease ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Bakteri yang mampu memproduksi enzim protease ekstraseluler, yaitu enzim pemecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel disebut bakteri proteolitik [1]. Zona bening yang dihasilkan oleh bakteri proteolitik terjadi karena adanya aktivitas protease yang memutuskan ikatan peptida dari kasein dalam susu skim[9]. Sebagaimana yang ditunjukkan oleh Tabel 1 dan Gambar 1, uji aktivitas enzim protease yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik. Aktivitas hidrolisis secara kualitatif merupakan gambaran dari kemampuan isolat bakteri hidrolitik menghidrolisis substrat dengan membandingkan besarnya zona jernih di sekitar koloni dengan besarnya diameter koloni[10]. Didapatkan hasil bahwa isolat BA (0,31 mm), BB (0,20 mm) dan JB (0,21 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar (> 0,2 mm). Sedangkan isolat JA tidak memiliki zona hidrolitik.



**Gambar 1.** Hasil uji aktivitas enzim protease mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

Produksi enzim protease dipengaruhi oleh faktor waktu produksi enzim. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan besarnya zona bening yang terbentuk di sekitar isolat menunjukkan banyaknya produk yang dihasilkan dari hidrolisis protein oleh protease dan terjadinya pemutusan ikatan peptida pada protein oleh protease menjadi unit peptida yang lebih kecil, hidrolisis sempurna dari protein akan menghasilkan asam amino. Enzim protease mampu memecah protein kasein yang terdapat pada susu skim menjadi peptida-peptida yang lebih sederhana dan asam amino[11]. Hal ini didukung oleh penelitian yang berhasil mengidentifikasi bakteri endofit dari tumbuhan mangrove yang berpotensi menghasilkan enzim protease. Enzim protease memiliki potensi sebagai antibakteri[4]. Proses hidrolisis menggunakan enzim protease akan menghasilkan senyawa peptida dan asam amino. Peptida antimikroba mencegah pertumbuhan atau penghancuran bakteri melalui mekanisme yang berbeda termasuk mengganggu membran bakteri, mengubah metabolisme, atau berinteraksi dengan komponen sitoplasma [12]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan terdahulu enzim ini memiliki efek yang ditandai dengan efek melunakkan dinding sel yang disebabkan oleh aktivitas rotolitik yang kuat, sehingga berpotensi memberikan pengaruh pada struktur dinding sel bakteri[13]. Enzim protease juga mampu mendenaturasikan atau mendegradasi protein dan asam-asam nukleat (DNA dan RNA) [14].

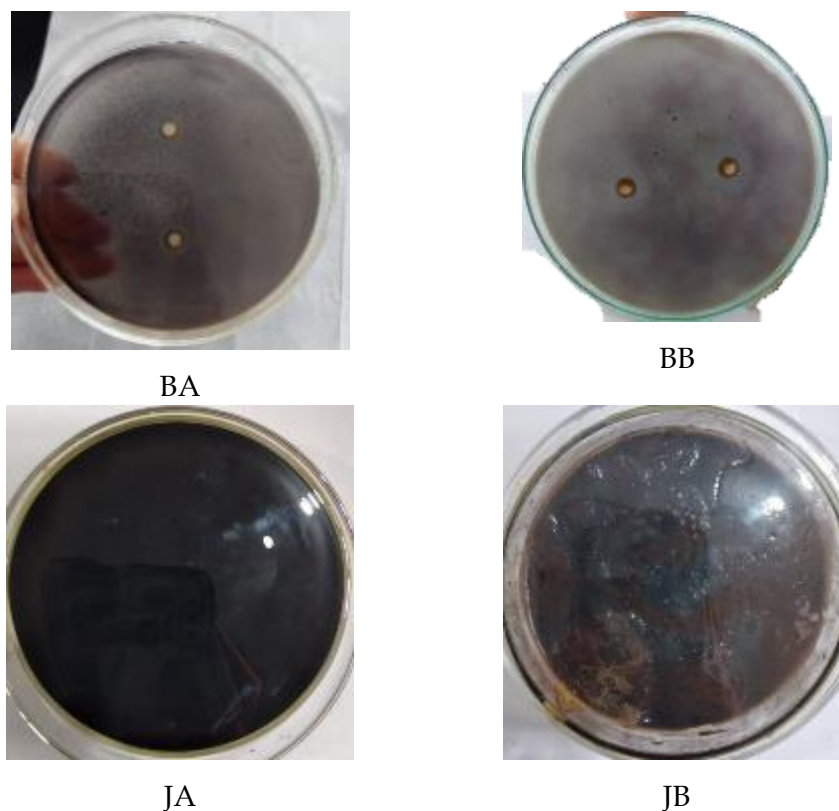
### Aktivitas Enzim Amilase

Uji aktivitas amilase menggunakan substrat pati 1%. Pati merupakan salah satu jenis karbohidrat yang memerlukan enzim amilase untuk mencernanya. Isolat bakteri yang menghasilkan amilase ekstraseluler disebut bakteri amilolitik. terlihat dari pembentukan zona bening di sekitar koloni bakteri. Pembentukan zona bening pada isolat potensial amilolitik menunjukkan bahwa pati yang terdapat di dalam media dihidrolisis oleh amilase menjadi senyawa yang sederhana seperti maltosa, dekstrin, dan glukosa. Zona bening terjadi karena amilum telah terhidrolisis menjadi glukosa sehingga iodium tidak terjerap pada aliran spiral amilum (amilosa) sedangkan warna biru terjadi karena adanya molekul iodine yang masuk dalam aliran spiral amilum[15]. Sebagaimana yang ditunjukkan oleh Tabel 2 dan Gambar 2, uji aktivitas enzim amilase yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik.

**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas enzim amilase mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

| Kode Isolat | Diameter Zona Hidrolitik (mm) | Diameter Koloni (mm) | Indeks Aktivitas Enzim (IAE) | Pembentukan Zona Hidrolitik |
|-------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------|
| BA          | 3,14                          | 5,87                 | 0,53                         | ++                          |
| BB          | 10.85                         | 5,92                 | 1.83                         | ++                          |
| JA          | -                             | 28,90                | -                            | -                           |
| JB          | -                             | 27.76                | -                            | -                           |

Didapatkan hasil uji aktivitas enzim amilase yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik menunjukkan bahwa dua isolat BA (0,53 mm) dan BB (1,83 mm) termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar (> 0,2 mm). Adapun isolat JA dan JB tidak memiliki zona hidrolitik. Hal ini dikarenakan isolat bakteri tidak dapat mendegradasi pati sehingga tidak terbentuk zona bening. Bakteri dan jamur yang memiliki aktivitas amilolitik memiliki kemampuan menghasilkan enzim amilase yang disekresikan ke lingkungannya. Hasil penapisan kualitatif yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan kisaran indeks amilolitik yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan dari setiap isolat dalam menghasilkan enzim amilase dalam menghidrolisis pati. Enzim amilase memiliki potensi sebagai antibakteri. Menurut [14], Enzim  $\alpha$ -amilase pada bakteri dan jamur berfungsi untuk mendegradasi polisakarida (karbohidrat) yang merupakan struktur pembentuk biofilm pada sel bakteri[14], [15], [16].



**Gambar 2.** Hasil uji aktivitas enzim amilase mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

### Aktivitas Enzim Selulase

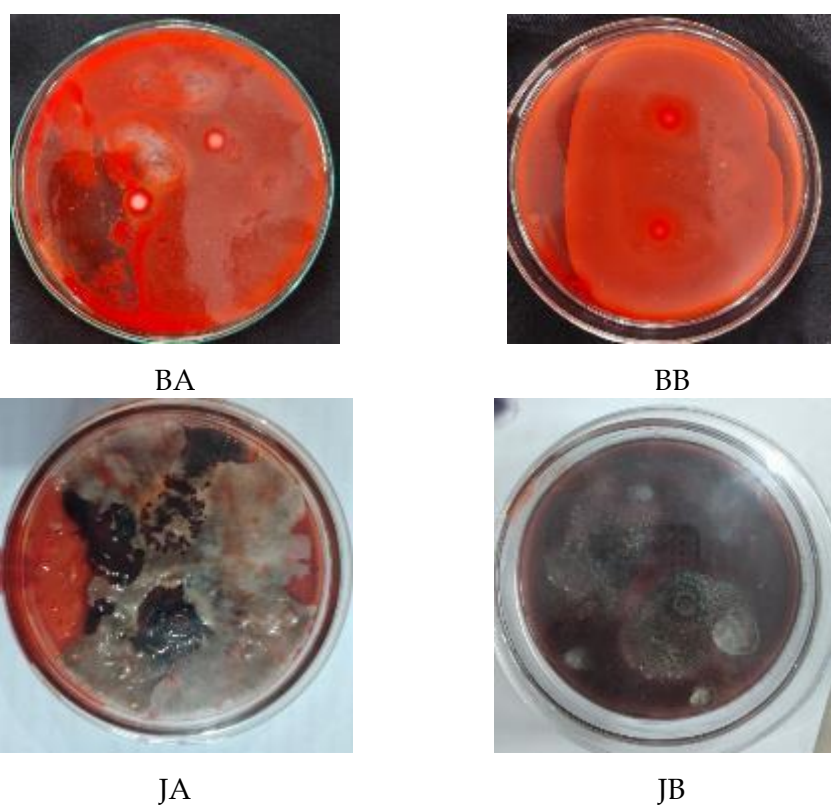
Uji aktivitas enzim selulase menggunakan media pertumbuhan yang diperkaya dengan CMC 1%. Penggunaan media ini karena dalam media ini mengandung selulosa yang digunakan sebagai substrat pada reaksi enzimatik. Sumber karbon yang berfungsi sebagai sumber energi sel dan unsur utama dalam pembentukan sel dipenuhi oleh adanya CMC. Bakteri selulolitik karena bakteri yang mampu memanfaatkan selulosa pada media CMC sebagai satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhannya.

**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas enzim selulase mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

| Kode Isolat | Diameter Zona Hidrolitik (mm) | Diameter Koloni (mm) | Indeks Aktivitas Enzim (IAE) | Pembentukan Zona Hidrolitik |
|-------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------|
| BA          | -                             | -                    | -                            | -                           |
| BB          | 1.72                          | 5.26                 | 0.32                         | ++                          |
| JA          | -                             | 27.75                | -                            | -                           |
| JB          | -                             | 23.57                | -                            | -                           |



Glukosa tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi dan karbon bagi pertumbuhan organisme serta fungsi utama enzim selulase adalah mengubah nutrisi di sekitar agar masuk ke dalam sel sebagai energi untuk pertumbuhan sel. Identifikasi aktivitas enzim selulase dengan larutan Congo Red pada permukaan media dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram. Dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 3 dari keempat isolat bakteri yang diuji hanya isolat BB (0,32 mm) yang memiliki aktivitas hidrolitik yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar paperdisk dan termasuk dalam kategori isolat yang memiliki zona hidrolitik besar ( $> 0,2$  mm). Zona bening menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang diekskresikan oleh isolat-isolat bakteri dengan diameter tertentu. Hidayatulloh *et al* (2022) menyatakan bahwa aktivitas selulolitik terjadi akibat sekresi enzim selulase yang mampu memecah ikatan  $1,4 \beta$  - glukosida dalam media uji [17], [18].



**Gambar 3.** Hasil uji aktivitas enzim selulase mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

Selulosa dihidrolisis oleh enzim selulase menjadi glukosa dalam media NA-CMC sehingga media yang berada di sekitar koloni bakteri tidak terwarnai oleh bahan pewarna Congo Red. Mikroba selulolitik memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi substrat karena dipengaruhi oleh gen penyusunnya. Gen merupakan fragmen DNA yang memiliki urutan basa tertentu yang dipengaruhi oleh sintesis protein, sehingga beberapa protein enzim selulase yang dihasilkan dari genus yang sama bias memiliki aktivitas enzim yang berbeda apalagi dengan mikroba yang berbeda genus. Enzim selulase memiliki aktivitas sebagai antibakteri [18]. Glukosa oksidase (GOx) dari bakteri dan jamur selulolitik mengkatalisis oksidasi  $\beta$ -D-glukosa menggunakan oksigen molekuler, menghasilkan  $H_2O_2$  dan asam glukonat, senyawa

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> memicu reaksi kaskade oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan DNA, gangguan besar pada sintesis protein, dan susunan membran fosfolipid bakteri [19].

### Aktivitas Enzim Selulase

Uji aktivitas lipase dilakukan pada media pertumbuhan yang diperkaya dengan Tween 80. Melliawati *et al* (2018) menyatakan tween 80 digunakan sebagai sumber lemak yang akan dihidrolisis oleh enzim yang dikeluarkan oleh mikroba. Enzim Lipase adalah enzim yang menghidrolisis lipid, ester trigliserida, untuk membentuk asam lemak dan gliserol. selain mempunyai kemampuan hidrolisis, lipase juga mempunyai kemampuan mengkatalis reaksi interesterifikasi.

**Tabel 4.** Hasil uji aktivitas enzim lipase mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

| Kode Isolat | Diameter Zona Hidrolitik (mm) | Diameter Koloni (mm) | Indeks Aktivitas Enzim (IAE) | Pembentukan Zona Hidrolitik |
|-------------|-------------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------------|
| BA          | -                             | 8,11                 | -                            | -                           |
| BB          | -                             | 17.56                | -                            | -                           |
| JA          | 13,12                         | 22.65                | 0.57                         | ++                          |
| JB          | 3,67                          | 21,34                | 0.17                         | +                           |

Source: Data yang diolah pribadi (2024)

Keterangan:

BA = Isolat bakteri akar

JA = Isolat jamur akar

BB = Isolat bakteri batang

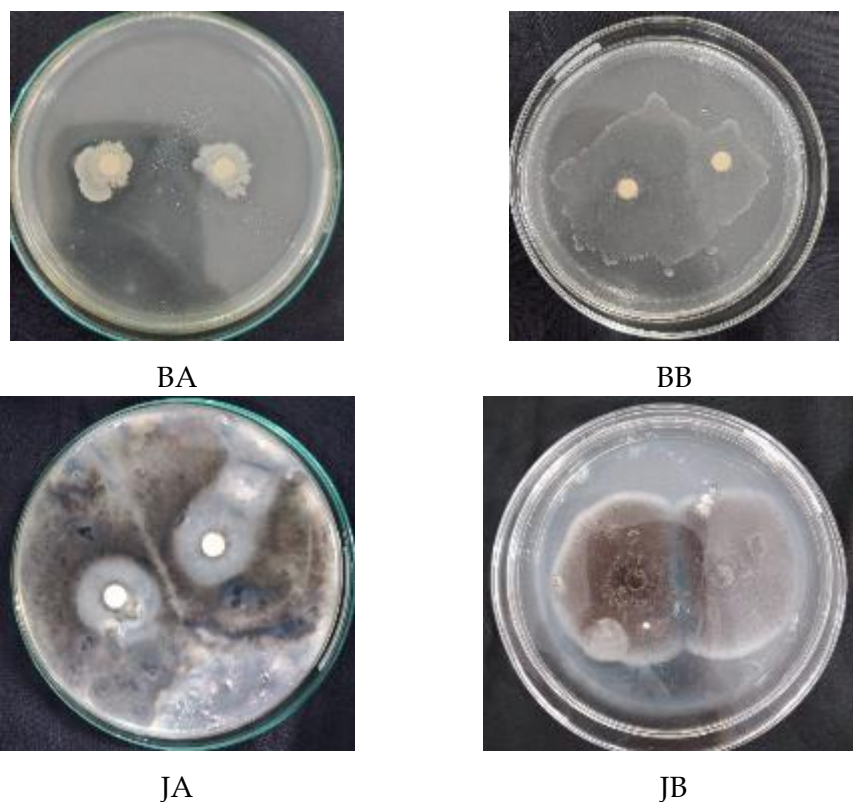
JB = Isolat jamur batang

++ = Zona hidrolitik besar (> 0,2 mm)

- = Tidak memiliki zona hidrolitik

+ = Zona hidrolitik kecil (< 0,2 mm)

Reaksi interesterifikasi berperan dalam pembentukan lipid terstruktur pada mikroba [20]. Enzim ini dapat bekerja pada lapisan antar muka karena adanya perbedaan kepolaran antara lipase dengan substrat yang dikatalisnya. 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. Aktivasi enzim ditunjukkan dengan terbentuknya endapan asam lemak berwarna putih keruh disekitar kertas cakram [21].



**Gambar 4.** Hasil uji aktivitas enzim lipase mikroba endofit pada tumbuhan mangrove *Rhizophora mucronata*

Sebagaimana yang ditunjukkan oleh Tabel 4 dan Gambar 4, uji aktivitas enzim lipase yang dilakukan dengan pengukuran zona hidrolitik pada keempat isolat hanya isolat JA (0,57 mm) dan JB (0,17 mm) yang termasuk dalam isolat yang memiliki zona hidrolitik besar ( $>0,02$  mm). Isolat bakteri yang bersifat lipolitik akan membentuk zona buram (kalsinasi) di sekitar koloni bakteri. Zona tersebut dapat terbentuk karena isolat bakteri mampu menghasilkan enzim lipase untuk menghidrolisis Tween-80 menjadi asam lemak. Asam lemak tersebut akan berikatan dengan ion-ion dalam media. Kompleks asam lemak dengan ion tersebut teramati sebagai endapan putih keruh di sekitar koloni bakteri. Berkurangnya aktivitas enzim lipase dipengaruhi oleh semakin tingginya akumulasi senyawa inhibitor enzim selama inkubasi. Selain itu penurunan enzim juga dipengaruhi oleh produk samping dari hasil reaksi atau terjadi inaktivasi enzim dengan semakin lama inkubasi. Enzim lipase memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Secara umum kerja asam lemak jenuh sebagai antibakteri adalah langsung beraksi ke target membran sel sehingga menyebabkan kerusakan membran, walaupun secara rinci mekanisme selanjutnya belum dapat dijelaskan. [22], [23], [24].

#### 4. Kesimpulan

Keempat Isolat mikroba endofit tumbuhan mangrove *R. mucronata* memiliki aktivitas enzim ekstraseluler yang berbeda-beda berdasarkan pengukuran zona hidrolitik dengan nilai Indeks Aktivitas Enzim (IAE) termasuk dalam kategori zona hidrolitik kecil ( $<0,2$  mm) hingga besar ( $>0,2$  mm).

## Referensi

- [1] R. Rizaldi, "Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Proteolitik Yang Berasosiasi Dengan Lamun Enhalus Acoroides Di Pantai Bama, Taman Nasional Baluran, Situbondo, Jawa Timur," Skripsi, Universitas Airlangga, Jawa Timur, 2017. [Online]. Available: <http://repository.unair.ac.id/id/eprint/57327>
- [2] S. Kusuma, P. A. Kumar, and K. Boopalan, "Potent antimicrobial activity of *Rhizophora mucronata*".
- [3] M. Mahmiah, S. P. Rama, and P. Riwanti, "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Poiret terhadap *Salmonella thypi*, Lignières 1900 (Enterobacteriaceae : Gammaproteobacteria)," *J. Kelaut. Trop.*, vol. 23, no. 2, pp. 175-182, May 2020, doi: 10.14710/jkt.v23i2.5577.
- [4] C. A. Rori, F. E. F. Kandou, and A. M. Tangapo, "Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*," *J. BIOS LOGOS*, vol. 11, no. 2, p. 48, May 2020, doi: 10.35799/jbl.11.2.2020.28338.
- [5] F. Bibi *et al.*, "Diversity and bioprospecting potential of rhizo and endophytic bacteria from two mangrove plants in Saudi Arabia," *African Journal of Microbiology Research*, vol. 11, pp. 729-739, Aug. 2017.
- [6] M. S. Pakaya, J. Akuba, D. R. P. Papeo, and A. A. Puspitadewi, "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Akar Pare," *J. Syifa Sci. Clin. Res. JSSCR*, vol. 4, pp. 301-309, 2022.
- [7] R. M. Ntabo, A. K. Nyamache, W. Lwande, J. Kabii, and J. Nonoh, "Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates from Selected Mangrove Plants in Kenya," *Open Microbiol. J.*, vol. 12, no. 1, pp. 354-363, Nov. 2018, doi: 10.2174/1874285801812010354.
- [8] W. A. Setyati, "Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, lipolitik dan selulolitik) yang Berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove," *Vol.*, vol. 17.
- [9] D. Mahdiyah, "Isolasi Bakteri dari tanah Gambut penghasil Enzim protease," *J. Pharmascience*, vol. 2, no. 2, pp. 71-79, 2015.
- [10] D. Zahidah and M. Shovitri, "Isolasi, karakterisasi dan potensi bakteri aerob sebagai pendegradasi limbah organik," *J. Sains Dan Seni ITS*, vol. 2, no. 1, pp. E12-E15, 2013.
- [11] Abdul, "Karakterisasi Sifat Biokimia Hasil Penapisan Isolat Bakteri Kitinolitik," Skripsi, Universitas Haluoleo, Haluoleo, 2009.
- [12] V. Sinthary and M. J. Arief, "Peptida Bioaktif Kasein Susu Kambing sebagai Sumber Antimikroba dan Antioksidan: Review: Bioactive Peptide from Goat's Milk Casein as a Source of Antimicrobial and Antioxidant," *J. Sains Dan Kesehat.*, vol. 5, no. 3, pp. 444-457, 2023.
- [13] N. Khairina, D. Mahdiyah, I. Yuwindry, and D. Danan, "Aktivitas Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas Comosus* L. Merr) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*," *-Nadaa J. Kesehat. Masy.*, vol. 10, no. 1, p. 27, Jun. 2023, doi: 10.31602/ann.v10i1.8768.
- [14] M. A. Arofani, "Uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm *aspergillus oryzae* terhadap *escherichia coli* pada pasien infeksi saluran kemih," 2021, *Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim*.
- [15] I. O. Susilawati and U. M. Batubara, "Analisis Aktivitas Enzim Amilase Yang Berasal Dari Bakteri Tanah Di Kawasan Universitas Jambi," 2015.
- [16] A. M. Tangapo and S. M. Mambu, "Penapisan Jamur Rhizosfer Tanaman Ubi Cilembu (*Ipomoea batatas* var. cilembu) Sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler Amilase Dan Selulase," in *Seminar Nasional Biologi*, 2021, pp. 91-96.

- [17] H. Murtiyaningsih, M. Hazmi, J. K. No, and J. Timur, "Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah," vol. 15.
- [18] D. Siruwahni and R. Rasyidah, "Isolasi dan Aktivitas Bakteri Selulolitik pada Limbah Diapers," *BIOEDUSAINS J. Pendidik. Biol. Dan Sains*, vol. 6, no. 2, pp. 407-421, 2023.
- [19] D. Califano, B. L. Patenall, M. A. S. Kadowaki, D. Mattia, J. L. Scott, and K. J. Edler, "Enzyme-functionalized cellulose beads as a promising antimicrobial material," *Biomacromolecules*, vol. 22, no. 2, pp. 754-762, 2021.
- [20] M. Sui, E. Sumaryati, and M. Yusron, "Pengaruh Suhu dan Lama Hidrolisis Santan Kelapa terhadap Kadar Asam Laurat (menggunakan Enzim Lipase Endogeneous)," *Agrika*, vol. 11, no. 1, 2017.
- [21] P. R. Sarjono, I. Ismiyanto, and N. B. A. Prasetya, "Bakteri Endofit F4 dari Daun Pepaya (*Carica papaya* L): Potensinya sebagai Penghasil Enzim Ekstraseluler," *Greensphere J. Environ. Chem.*, vol. 2, no. 1, pp. 1-7, 2022.
- [22] R. Melliawati, N. Nuryati, and M. Al Azizah, "Penapisan Isolat Kapang Endofit Lipolitik Untuk Produksi Lipase Pada Ampas Kelapa (Screening of Lipolytic Endophyte Isolates for Lipase Production on Coconut Dregs)," *Biopropal Ind.*, vol. 9, no. 2, 2018.
- [23] R. Novita, M. Munira, and R. Hayati, "Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Pliek U Sebagai Antibakteri," *AcTion Aceh Nutr. J.*, vol. 2, no. 2, pp. 103-108, 2017.
- [24] H. Mazhar, N. Abbas, T. Zamir, Z. Hussain, and S. S. Ali, "Optimization Study of Lipolytic Enzyme from *Bacillus cereus*, PCSIR NL-37," *Punjab Univ. J. Zool.*, vol. 33, no. 2, Dec. 2018, doi: 10.17582/journal.pujz/2018.33.2.217.224.