

PENAPISAN BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN *SPONGA JASPIS* SP. PENGHASIL ENZIM AMILASE

Dede Mahdiyah¹, Bayu Hari Mukti²

¹Akademi Kebidanan Sari Mulia, Banjarmasin

²STKIP-PGRI Banjarmasin

E-mail: mahdiyahdede@yahoo.co.id

ABSTRACT

Sponges have been known as excellent sources for natural products such as bioactive compounds. Their bioactivities include enzyme inhibitors, cell division-inhibitors, antiviral, antifungal, antimicrobial, etc. The aims of study were to yielded of amilase from association sponge *Jaspis* sp. With bacteria. The bacteria was isolated by using sea water complete media and to determine amilase toward using soluble starch. Among 136 isolates examined, thirty three isolates yielded amilase.

Keywords : Sponge *Jaspis* sp., Association, marine bacteria, amilase.

PENDAHULUAN

Spons merupakan salah satu sumber alami yang baik dalam menghasilkan komponen-komponen bioaktif termasuk inhibitor enzim (Munro *et al.* 1999). Mikroorganisme (bakteri) yang hidup bersimbiosis dengan spons ternyata juga diketahui mampu menghasilkan inhibitor protease seperti yang dilaporkan oleh Stierle *et al.* (1988) bahwa *Micrococcus* sp. yang bersimbiosis dengan spons *Tedania ignis* menghasilkan senyawa diketopiperazina. Juga dilaporkan oleh Elyakov *et al.* (1991) bahwa bakteri *Vibrio* sp. yang bersimbiosis

dengan spons *Dysidea* sp. menghasilkan bifenil eter bromina. Oslarit *et al.* (1994) juga melaporkan bahwa bakteri *Vibrio* sp. yang bersimbiosis dengan spons *Hyatella* sp. menghasilkan senyawa peptida yang bersifat anti *Bacillus*. Selain itu juga dilaporkan oleh Nurhayati dan Suhartono (2004) bahwa bakteri yang diisolasi dari spons *Plakortis nigra* memiliki aktivitas penghambatan terhadap protease yang dihasilkan *Escherichia coli*.

Senyawa bioaktif laut atau produk alami laut (*Marine Natural Products* (MNPs)) adalah senyawa organik yang diproduksi oleh

mikroba, spons, *seaweeds*, dan organisme laut lain. Organisme inang mensintesis senyawa ini sebagai metabolit sekunder untuk melindungi dirinya dan menjaga keseimbangan lingkungan kaitannya dalam pertahanan diri terhadap predator. Spons laut memiliki sumber yang kaya akan mikroorganisme baru dengan potensi aktivitas farmakologi (Hentschel *et al.* 2001). Interaksi antara spons dan bakteri terjadi dalam bentuk simbiosis komensalisme di mana dalam interaksi ini dihasilkan senyawa bioaktif (Proksch *et al.* 2002).

Amilase merupakan enzim ekstraseluler yang menghidrolisis pati dan menghasilkan produk dengan berat molekul yang lebih rendah. Dalam industri pangan, amilase banyak digunakan untuk produksi sirup dan proses pembuatan roti (Kobayashi *et al.* 1993).

Genus *Bacillus* menghasilkan α -amilase yang mengubah pati menjadi dextrin maupun anzim yang mengubah pati menjadi gula-gula yang lebih sederhana. Amilase dari *Bacillus subtilis* mempunyai aktifitas optimum pada kisaran pH 5 – 7, sedangkan amilase dari *Bacillus*

stearothermophilus pH 3. Enzim α -amilase menghidrolisis ikatan α -1.4 glukosidik amilosa, amilopektin dan glikogen. Enzim ini bersifat sebagai endoamilase yaitu enzim yang memecah pati secara acak dari tengah atau dari bagian dalam molekul (Suhartono 1989).

Melihat potensi yang tinggi dari mikroorganisme yang bersimbiosis dengan spons dalam menghasilkan senyawa bioaktif maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. untuk kemudian diuji amilase, sehingga diperoleh isolat bakteri potensial yang dapat dikembangkan lebih lanjut khususnya dibidang farmakologi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji amilase dari asosiasi bakteri dengan spons *Jaspis* sp.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah; sampel spons yang diambil dari perairan sebelah barat dari kepulauan Waigeo, Kabupaten Raja Ampat, Papua Barat, media SWC (*Sea Water Complete*), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), dan *soluble starch*.

Pengambilan Sampel Spons.

Sampel spons diambil dari perairan sebelah barat dari kepulauan Waigeo, Kabupaten Raja Ampat, Papua Barat pada kedalaman \pm 10 meter dengan menggunakan alat bantu snorkel dan masker. Pengambilan sampel ini dilakukan secara acak yaitu dengan menyusuri dasar laut. Sampel kemudian dimasukkan kedalam plastik sampel yang telah diisi dengan oksigen murni, lalu ditempatkan dalam *cool box* untuk dianalisis secara mikrobiologis di Laboratorium.

Isolasi Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp.

Spons dibilas dengan air laut sintetik steril, sehingga hanya bakteri dengan daya gabung yang kuat saja yang akan terambil (Amstrong 2001). Isolasi bakteri pada permukaan spons dilakukan dengan cara mengusap permukaan spons pada tiga tempat yang berbeda menggunakan *swab* steril \pm 1 cm², kemudian di celupkan ke dalam 3 buah erlenmeyer yang berisi media PBS (*Phosphate Buffer Saline*) steril. Dari masing- masing tabung tersebut dilakukan seri pengenceran dari 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁵ sebanyak 100 μ L. Pada tiga

pengenceran terakhir disebar dalam media SWC (*Sea Water Complete*), dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dimurnikan dengan metode kuadran dan dipreservasi dalam agar miring.

Uji Enzim Penting yang Dihasilkan oleh Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp.

Uji Amilase. Aktivitas amilase diuji dengan menggunakan medium *soluble starch* + agar. Isolat yang memiliki kemampuan antibakteri dan antifungi ditumbuhkan pada media kultur cair di inkubator bergoyang selama semalam. Sebanyak 15 μ L isolat dari kultur cair diteteskan ke *paper disc* untuk di letakkan di atas media *soluble starch* + agar. Lalu diinkubasi selama semalam, adanya amilase ditunjukkan dengan ditemukannya zona jernih disekitar koloni.

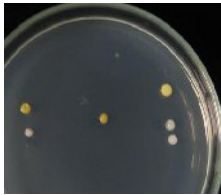
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp.

Mikroorganisme laut merupakan sumber yang kaya untuk isolasi industri enzim. Enzim bakteri laut memiliki keuntungan dalam penggunaan industri. Aktivitas optimum enzim bakteri laut biasanya

terjadi pada kadar garam yang tinggi, membuat enzim ini berguna dalam banyak proses industri. Enzim bakteri laut bersifat termotoleran, tetap stabil pada suhu ruang sepanjang waktu. Mikrohabitat untuk bakteri laut adalah, airlaut, endapan (sedimen), permukaan animat dan inanimat.

Sebanyak 136 isolat berhasil diisolasi dari spons *Jaspis* sp. Dari 136 isolat tersebut, sebanyak 70 isolat berasal dari endofit spons dan 66 isolat dari permukaan spons. Isolat yang diperoleh sangat beragam baik dari segi warna, jenis, dan bentuk koloni (Gambar 1). Ke 136 isolat tersebut diberi nama atau penanda yaitu SAB S (*Sponge Associated Bacteria Surface*) dan SAB E (*Sponge Associated Bacteria Endophyte*).



Gambar 1 Penampilan koloni bakteri pada media SWC yang berhasil diisolasi dari spons *Jaspis* sp. setelah diinkubasi selama 24 jam.

Uji Amilase. Enzim alfa amilase merupakan salah satu jenis enzim yang berperan atau berfungsi menghidrolisis atau memecah

molekul-molekul pati menjadi molekul-molekul lain yang lebih sederhana seperti dekstrin, maltosa, dan glukosa. Mekanisme kerja dari enzim alfa amilase adalah dengan cara memecah ikatan α -1,4 glikosidik rantai glukosa pati dari sebelah dalam.

Hasil dari isolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. diperoleh isolat yang memiliki kemampuan amilolitik atau mampu menghidrolisis pati dengan media sebagai sumber karbonnya adalah *soluble starch* 1%. Isolat yang positif amilolitik sebanyak 33 isolat dari 136 isolat yang berhasil diisolasi. Bukti adanya kemampuan amilolitik yaitu ditandai zona jernih disekitar koloni bakteri (Gambar 3).



Gambar 2. Zona amilolitik yang dihasilkan oleh bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp.

Tabel 1. Isolat bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. penghasil amilase

Amilase
SAB S-4
SAB S-6
SAB S-8
SAB S-12
SAB S-15
SAB S-16
SAB S-22
SAB S-23
SAB S-25
SAB S-26
SAB S-29
SAB S-30
SAB S-32
SAB E-35
SAB S-36
SAB S-37
SAB E-41
SAB S-43
SAB S-45
SAB S-47
SAB E-49
SAB S-51
SAB S-53
SAB S-55
SAB S-56
SAB S-58
SAB S-59
SAB S-60
SAB S-61
SAB S-62
SAB S-65
SAB S-66

Pati dapat dihidrolisis menjadi glukosa dalam suasana asam. Asam yang biasa digunakan biasanya asam klorida. Proses ini kurang menguntungkan karena menghasilkan produk yang tidak ramah lingkungan.

Amilase adalah pilihan utama yang digunakan untuk proses hidrolisis pati. Penggunaan amilase memberi keuntungan antara lain produk lebih murni, lebih mudah dan tanpa produk-produk sampingan yang berbahaya. Amilase hewan yang utama adalah α -amilase, sedangkan pada tumbuhan adalah jenis β -amilase (Street 1958). Beberapa tahun sebelumnya α -amilase dapat diproduksi sebagai enzim ekstraseluler oleh mikroorganisme (Murao *et al.* 1982; Rose 1980). Pada tahun 1946 β -amilase diproduksi oleh *Bacillus polymyxa* dan kemudian oleh *Bacillus* sp. yang diidentifikasi sebagai *Bacillus cereus* var. *mycoides*. Enzim amilolitik lainnya dapat juga diperoleh dari strain *Bacillus* (Ohdan *et al.* 2000; Proksch *et al.* 2002).

KESIMPULAN

Dari penelitian ini, berhasil diisolasi 136 isolat bakteri yang bersimbiosis dengan spons *Jaspis* sp. baik dari bagian permukaan maupun endofit. 136 isolat bakteri tersebut sebanyak 33 isolat mampu menghasilkan aktivitas amilase baik dari permukaan spons maupun endofit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini : Departemen Agama RI, Aris Tri Wahyudi (IPB), Widanarni (IPB), Rika Indri Astuti (IPB).

DAFTAR PUSTAKA

- Elyakov GB, Kuznetsova TA, Stonik VA, Mikhailov VV. 1994. New trends of marine biotechnology development. *Pure Appl Chem* 4:811-818.
- Hentschel U, M. Schmid, M. Wagner, L. Fieseler, C. Gernert, and J. Hacker. 2001. Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*. *FEMS Microbiol Ecol.* 35, 305-312.
- Kobayashi J & Ishibashi M. 1993. Bioactive metabolites of symbiotic marine microorganisms. *Chem Rev* 93, 8305-8308.
- Munro *et al.* 1999. The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *Biotechnology* 70:15-25.
- Murao S, Kasai N, Kimura Y, Oda K. 1982. Isolation of metalloproteinase inhibitor (FMPI) producing microorganism. *Agric Biol Biochem* 46:2697-2703.
- Osclarit JM. 1994. Anti-bacillus substance in the marine sponge, *Hyatella* species, produced by an associated *Vibrio* species bacterium. *Microbiology* 78:7-16.
- Proksch P, Edrada RA, Ebel R. 2002. Drugs from the seas - current status and microbiological implications. *Appl Environ Microbiol* 59:125-134.
- Suhartono MT. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Stierle AC, Cardellina II JH, Singleton FL. 1988. A marine *Micrococcus* produces metabolites ascribed to the sponge *Tedania ignis*. *Experientia* 44:1021.