

ISOLASI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN SPONS *JASPIS* sp. PENGHASIL ENZIM PROTEASE

Dede Mahdiyah¹, Aris Tri Wahyudi², Bayu Hari Mukti³

¹Akademi Analis Kesehatan Borneo Lestari, Banjarbaru, Kalimantan Selatan

²Departemen Biologi, FMIPA, IPB Bogor

³Pendidikan Biologi, STKIP PGRI, Banjarmasin

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 isolation sponge associated bacteria producing protease and amilase. The bacteria was isolated by using sea water complete media and to determine protease and amilase toward using skim 1%, and soluble starch. Among 136 isolates examined, thirty isolates yielded protease.

Keywords : sponge associated bacteria, protease, sea water complete.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan kekayaan alamnya, baik di darat maupun di laut. Penelitian terhadap organisme yang ada di lautan khususnya dalam kaitan dengan pencarian senyawa bioaktif dan enzim-enzim penting masih dalam tahap permulaan. Telah diketahui bahwa laut menyimpan kekayaan alam dan manfaat yang sangat besar. Salah satu kekayaan alam laut yang cukup banyak terdapat di perairan Indonesia, seperti di perairan Sumatera, Papua, Kalimantan dan lainnya, adalah jenis spons.

Spons (filum porifera) merupakan salah satu organisme hidup yang sudah ada sejak 600 juta tahun yang lalu (Brusca and Brusea 1999). Spons dapat berasosiasi dengan sejumlah besar mikroorganisme berbeda meliputi Cyanobacteria (Vacelet 1971), bakteri heterotrofik (Hentschel *et al.* 2001), alga uniseluler (Wilkinson 1992) dan zoochlorellae. Baru-baru ini telah diisolasi dan dikarakterisasi suatu strain *Bacillus* baru yang berasosiasi dengan spons Mediterranean yaitu *Aplysina aerophoba* yang menghasilkan enzim penting seperti lipase (EC 3.1.1.3) dan estrase (EC 3.1.1.1).

Senyawa bioaktif laut atau produk alami laut (*Marine Natural Products* (MNP)) 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. 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).

Banyak sekali mikroorganisme yang diketahui bersimbiosis dengan spons diantaranya dari kelompok arkaea, bakteri heterotrofik, sianobakteria, alga hijau, alga merah, kriptofita, dinoflagellata dan diatom. Simbion dapat bersifat spesifik maupun non-spesifik terhadap spons sebagai inangnya. Wilkinson (1978) menemukan simbiosis mikroorganisme yang spesifik pada spesies spons tunggal. Hal ini terlihat pada simbion antara spesies d-

proteobacteria dan spons *Theonella swinhoei* yang menunjukkan asosiasi spesifik.

Protease adalah enzim yang dapat mendegradasi protein (Suhartono 1989). Protease termasuk kedalam kelompok enzim hidrolase karena dalam reaksinya melibatkan air pada ikatan substrat spesifik. *Bacillus* sp. banyak menghasilkan protease serin alkali dan protease logam, diantaranya enzim yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* yang termasuk dalam golongan protease serin alkali dan lebih dikenal dengan nama subtilin Calsberg. Jenis enzim ini juga diproduksi oleh *Bacillus pumilus*. Protease yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dinamakan protease Staphylococcus, sedangkan clostripain yang termasuk dalam golongan proteinase tiol dihasilkan oleh *Clostridium hystolicum* (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

protease dan amilase, sehingga diperoleh isolat bakteri potensial yang dapat dikembangkan lebih lanjut khususnya dibidang farmakologi.

Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons sebagai penghasil enzim penting (protease).

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 susu skim 1,5%.

Pengambilan Sampel Spons. Sampel spons diambil dari perairan sebelah barat dari kepulauan Waigeo, Kabupaten Raja Ampat, Papua Barat pada kedalaman ± 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 $\pm 1 \text{ cm}^2$, 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 μL . 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 Protease. Aktivitas proteolitik isolat diuji dengan menggunakan medium agar SWC + susu skim 1%. Isolat yang berhasil diisolasi dan sudah dimurnikan ditumbuhkan pada media tersebut

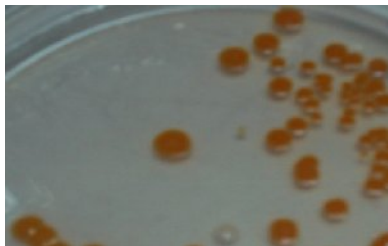
dengan cara di gores lalu diinkubasi selama 24 jam. Nisbah antara diameter zona jernih terhadap diameter koloni (indeks proteolitik = IP). Isolat dengan $IP \geq 3,0$ dipilih dan disimpan pada suhu 4°C untuk digunakan pada uji selanjutnya (Cappucino & Sherman 2001).

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.

Bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. mampu menghasilkan enzim penting yaitu protease. Adanya kemampuan proteolitik ditandai dengan

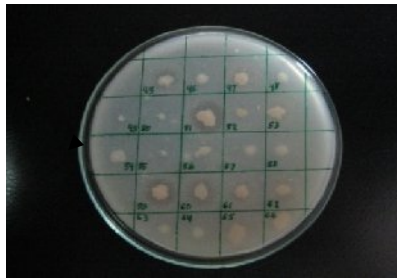
terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Protease atau enzim proteolitik adalah enzim yang memiliki daya katalitik yang spesifik dan efisien terhadap ikatan peptida

dari suatu molekul polipeptida atau protein. Protease dapat diisolasi dari tumbuhan (papain dan bromelin), hewan (tripsin, kimotripsin, pepsin, dan renin), mikroorganisme seperti bakteri, kapang, virus, dan cacing parasitik seperti cestoda, trematoda, dan nematoda.

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

Uji Protease. Berdasarkan uji isolasi bakteri yang berasosiasi dengan spons *Jaspis* sp. menggunakan media SWC dan susu skim 1% terdapat isolat bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis protein. Hal ini

terlihat dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri (Gambar 2). Sebanyak 30 isolat memiliki kemampuan proteolitik (tabel 1). Dalam dasawarsa terakhir ini perhatian terhadap protease sebagai target senyawa obat bagi penyakit asal bakteri (seperti pneumonia, kolera, tifus, gannorhoe), virus (seperti influenza dan HIV), dan malaria serta kanker, bahkan penyakit degeneratif seperti alzheimer meningkat pesat. Juga sudah banyak obat-obatan dengan mekanisme kerja yang menghambat protease. Untuk itu hasil dari uji enzim protease yang positif proteolitik akan diuji untuk inhibitor protease.



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

Aktivitas protease dapat dideteksi diperairan laut dengan bukti bahwa bakteri hasil isolasi dari laut papua memiliki kemampuan proteolitik. Hal ini mengindikasikan bahwa perairan laut berpotensi untuk

menghidrolisis partikulat protease. Kebanyakan protease ada sebagai enzim partikulat atau terikat pada bahan partikulat di air laut (Imada & Taga 1985).

Bukti bahwa bakteri yang bersimbiosis dengan spons memiliki kemampuan proteolitik ditandai dengan adanya zona jernih disekitar koloni bakteri. Enzim proteolitik bakteri diklasifikasikan berdasarkan 3 kriteria : enzim-enzim yang berada disekitar sel, enzim-enzim yang

berada ditempat penyerangan proteolitik, dan memiliki struktur yang sama. Ketiga kelas enzim ini dibentuk berdasarkan tempat enzim ; enzim ekstraseluler, ektoenzim, dan enzim intraseluler (Hoffman & Decho 2000).

Tabel 1 Beberapa Isolat Bakteri yang Positif Menghasilkan Protease

Isolat	Protease
SAB S-5	+
SAB S-6	+
SAB S-11	+
SAB S-12	+
SAB S-13	+
SAB S-15	+
SAB S-16	+
SAB S-17	+
SAB S-18	+
SAB S-19	+
SAB S-20	+
SAB S-21	+
SAB S-24	+
SAB S-25	+
SAB S-26	+
SAB S-28	+
SAB S-29	+
SAB S-30	+
SAB S-31	+
SAB S-37	+
SAB S-41	+
SAB S-42	+
SAB S-43	+
SAB S-45	+
SAB S-51	+
SAB S-53	+
SAB S-59	+
SAB S-60	+
SAB S-61	+
SAB S-62	+

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 30 isolat mampu menghasilkan aktivitas protease 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

- Amstrong E. 2001. The Symbiotic Role of Marine on Living Surfaces. [http://hw.ac.uk\(pdf\)](http://hw.ac.uk(pdf)).
- Brusca RC, and Brusea GJ. 1999. Phylum Porifera the Sponges. AD. Sinauer (ed), Invertebrates (Sinnauer Press) PP.181-210. Sunderland, Mass.
- Cappucino GJ, Sherman N. 2001. *Microbiology (A Laboratory Manual)*. Cummings Publishing Company Inc. New York.
- 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.
- Hoffman M dan Decho WA. 2000. Proteolytic enzyme in the marine bacterium *Pseudoaeromonas atlantica*: post-secretional activation and effects of environmental conditions. *Aquatic Microbiol Ecol* 23: 29-39.
- Imada C and Taga N. 1985. Isolation and Characterization of Marine Bacteria Producing Alkaline Protease Inhibitor. *Bull Jap Soc Sci Fish* 51:799-803.
- 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.
- Vacelet J. 1971. Description de cellules à bactéries intranucléaires chez des éponges *Verongia*. *J Microsc (Paris)* 9, 333-346.
- Wilkinson CR. 1978. Microbial associations in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef. *Mar. Biol*. 49, 161-167.
- Wilkinson CR. 1992. Symbiotic interactions between marine sponges and algae. In *Algae and symbioses: plants, animals, fungi, viruses, interactions explored*, pp. 112-128. Edited by W. Reisser. Bristol: Biopress Ltd.

