

**PENELITIAN ASLI**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE DARI USUS IKAN SELAIIS (*KRYPTOPTERUS LAIS*)**

Siska Zafrida<sup>1</sup>, Ignatius Yulianto<sup>1</sup>, Alberta Ida Riana<sup>1</sup>, Gusrinaldi<sup>1</sup>, Lelli preti Siahaan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Akademi Kesehatan John Paul II PKU  
Jl. Permata I, Labuh Baru Bar, Kota Pekanbaru, Riau 28291, Indonesia

**Info Artikel**

Riwayat Artikel:  
Diterima: 01 Oct 2024  
Direvisi: 15 Oct 2024  
Diterima: 18 Oct 2024  
Diterbitkan: 23 Des 2024

**Kata kunci: Bakteri Proteolitik; Enzim protease; Identifikasi bakteri; PCR 16s rRNA; Saluran pencernaan ikan**

**Penulis Korespondensi:**

Siska Zafrida  
Email: [siskazafrida@akjp2.ac.id](mailto:siskazafrida@akjp2.ac.id)

**Abstrak**

Penggunaan enzim di Indonesia sangat tinggi karena enzim banyak digunakan di berbagai bidang industri dan kesehatan. Pemanfaatan enzim protease dalam bidang kesehatan yaitu untuk pengobatan radang, tumor, pengatur kekebalan darah dan kelainan darah. Saluran pencernaan ikan berpotensi sebagai sumber enzim protease karena pada isi perut ikan terdapat organ pencernaan yang berfungsi sebagai sistem metabolisme tempat protein terhidrolisis yang mengandung banyak protease. Salah satu mikroorganisme penghasil enzim protease adalah bakteri proteolitik yaitu bakteri yang mampu mendegradasi protein dan menghasilkan protease ekstraseluler. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat bakteri penghasil protease pada saluran pencernaan ikan selaiis yaitu pada usus dan lambung ikan selaiis. Isolat bakteri yang diperoleh diuji tingkat patogenitas dengan media *Mac Conkey* (MC) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Uji produksi enzim protease dilakukan pada media *Skim Milk Agar* yang ditandai dengan pembentukan zona bening. Dari hasil penelitian ini diperoleh 4 isolat bakteri, terdapat 1 isolat (KLI 1) diantaranya merupakan bakteri penghasil protease berdasarkan hasil 16s rRNA yaitu *Proteus mirabilis*. Isolat bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease tersebut diharapkan dapat digunakan dalam industri kesehatan yaitu pada penggunaan bahan untuk pengobatan dan kelainan darah.

Jurnal Analis Laboratorium Medik

E.ISSN: 2527-712X

Vol. 9 No. 2 Desember 2024 (P 107-111)

Homepage: <https://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/ALM>

DOI: <https://doi.org/10.51544/jalm.v9i2.5346>

**How to cite:** Zafrida S, Yulianto I, Riana AI, Gusrinaldi, Siahaan LP. Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Protease Dari Usus Ikan Selaiis (*Kryptopterus Lais*). JALM [Internet]. 2024 Dec. 23 [cited 2024 Dec. 23];9(2):107-11. Available from: <https://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/ALM/article/view/5346>



Copyright © 2024 by the Authors, Published by Program Studi: D3 Analis Kesehatan Fakultas Pendidikan Vokasi Universitas Sari Mutiara Indonesia. This is an open access article under the CC BY-SA Licence ([Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)).

## 1. Pendahuluan

Kebutuhan enzim di Indonesia pada tahun 2015 – 2020 terus semakin meningkat sekitar 7% setiap tahunnya. Tahun 2018, hampir 99% kebutuhan enzim di Indonesia masih diimpor dari berbagai negara (1). Nilai tersebut cukup besar sehingga menyebabkan harga produksi enzim semakin mahal di Indonesia (2). Sehingga perlu adanya industri produksi enzim lokal dengan memanfaatkan sumber kekayaan alam Indonesia, diharapkan dapat mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut (3). Enzim yang sering digunakan dibidang kesehatan adalah enzim protease (4) (5).

Pemanfaatan enzim protease dalam bidaneg kesehatan yaitu untuk pengobatan radang tumor, pengatur kekebalan darah dan kelainan darah (6) (7). Tubuh yang mengalami kekeurangan enzim protease dapat menyebabkan kekebalan dalam tubuh menjadi menurun dan rentan terhadap infeksi bakteri, virus dan jamur (8). Enzim protease dapat diproduksi dari tumbuhan (43,85%), bakteri (18,09), jamur 15,08%, hewan (11,15%), alga (7,42%), dan virus (4,41) (7). Sumber yang paling sering digunakan adalah bakteri, karena mempunyai kelebihan harganya yang lebih murah dan didapat diproduksi dalam jumlah besar dan isolasi enzim relatif mudah (9). Salah satu mikroorganisme penghasil enzim protease adalah bakteri proteolitik yaitu bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler yang berfungsi dalam menghidrolisis protein menjadi lebih sederhana berupa asam-asam amino mendegradasi protein dan menghasilkan protease ekstraseluler (10).

Beberapa spesies bakteri proteolitik disaluran pencernaan ikan teridentifikasi sebagai bakteri *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Streptobacillus*, *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (10). Ikan selais (*Kryptopterus* *lais*) adalah salah satu fauna khas provinsi Riau. Ikan ini biasa hidup di perairan air tawar seperti sungai Kampar, sungai Rokan, sungai Indragiri, sungai kuantai dan sungai Segati menjadi habitat dari ikan selais. Ikan Selais berbentuk pipih memanjang dengan bentuk pipih memanjang dengan bentuk kepala menyerupai kerucut, tubuh ikan selais tanpa sisik, mulut yang berukuran cukup lebar dan memiliki dua kumis panjang yang menempel diujung bagian kepala (11) (12). Saluran pencernaan ikan berpotensi sebagai sumber enzim protease karena pada isi perut ikan terdapat organ pencernaan yang berfungsi sebagai sistem metabolisme tempat protein terhidrolisis yang mengandung banyak protease (5) (11).

Penelitian terdahulu oleh Dhayalan *et al.*, (2022) melakukan isolasi 11 strain bakteri dari usus ikan *Syngnatus* sarana, terdapat 7 isolat yang mampu menghasilkan enzim protease dengan indeks proteolitik tertinggi 6,83 mm dan hasil identifikasi molekuler menunjukkan hasil *Bacillus thuringiensis* (5). Penelitian oleh Muzaifa *et al.*, (2020) tentang isolasi dan identifikasi bakteri penghasil protease dari ikan belacan depik ditemukan 4 isolat bakteri Gram positif dan terdapat 2 isolat yang memiliki kemampuan menghasilkan proteolitik dengan diameter zona bening 1,5 mm dan 5 mm. Hasil identifikasi memiliki kemiripan dengan *staphylococcus humonis* dan *Bacillus subtilis* (1).

## 2. Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru. Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasional dengan *crosssectional* terhadap identifikasi bakteri proteolitik pada usus ikan selais. Persiapan penelitian ini dilakukan dengan preparasi sampel melalui pembedahan ikan dengan mengeluarkan saluran pencernaan (usus) dari ikan selais kemudian dilakukan isolasi

dan pemurnian bakteri proteolitik dari usus ikan selais menggunakan Nutrient Agar (NA) hingga didapatkan isolat murni. Aktivitas produksi enzim protease yang diperoleh dari isolat murni dapat diketahui dengan mengukur indeks proteolitik berdasarkan zona bening yang terbentuk pada media *Skim Milk Agar* (SMA). Identifikasi spesies bakteri dilakukan berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil sekuensing DNA dianalisis menggunakan perangkat bioinformatik, kemudian diolah secara manual dan dicocokkan dengan data NCBI melalui program BLAST.

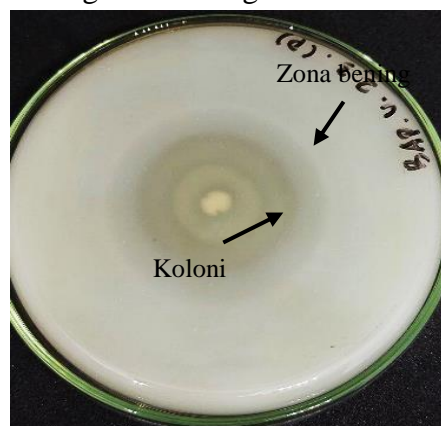
### 3. Hasil

Proses isolasi diawali dengan melakukan biakan pada media BHI yang menunjukkan adanya kekeruhan pada media. Bakteri diisolasi dan dipurifikasi pada media BAP (*Blood Agar Plate*) dan MC (*MacConkey Agar*), proses pemurnian dilakukan hingga terbentuk koloni tunggal menggunakan metode *Streakplate* (21) (22). Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi diperoleh 4 isolat dengan morfologi koloni bakteri yang berbeda. Isolat-isolat tersebut kemudian diberikan KLI (*Kryptoperus lais Intestines*) Data hasil karakteristik isolat dapat disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1** Karakteristik morfologi isolat bakteri dari usus ikan selais

Kode Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk	Tepian	Warna	Elevasi	Sifat
KLI 1	Bulat sedang	Rata	Putih	Datar	Beta hemolisis, Swarming
KLI 2	Bulat besar	Rata	Merah muda	Datar	<i>Mucoid</i>
KLI 3	Bulat sedang	Tidak rata	kuning	Datar	<i>Lactose fermented</i>
KLI 4	Bulat sedang	rata	kuning	Datar	<i>Lactose fermented</i>

Isolat-isolat bakteri yang diperoleh, dilakukan pengujian aktivitas proteolitik secara kualitatif dengan menumbuhkan satu *loopfull* isolat pada permukaan media selektif SMA (*Skim Milk Agar*). Dari 4 isolat yang diperoleh, terdapat 1 isolat yang menghasilkan zona bening sekitar koloni yaitu isolat KLI 1. Selanjutnya, dilakukan pengukuran diameter zona bening untuk mengetahui aktivitas proteolitik.



Gambar 1. Aktivitas proteolitik isolat KLI 1

Hasil pengukuran kemampuan aktivitas proteolitik isolat KLI 1 (2,69) (Raut *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2013). Aktifitas proteolitik diukur menggunakan rumus berikut (Hengkengbala *et al.*, 2021).

#### 4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, Dari hasil penelitian ini diperoleh 4 isolat bakteri, terdapat 1 isolat (KLI 1) yang merupakan bakteri penghasil protease. Berdasarkan hasil PCR 16s rRNA yaitu *Proteus mirabilis*. Isolat bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease tersebut di diharapkan dapat digunakan dalam industri kesehatan yaitu pada penggunaan bahan untuk pengobatan dan kelainan darah.

#### 5. Ucapan terima kasih

Kami dari tim, menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada KEMDIKBUD RISTEK atas pemberian dana pada penelitian ini serta kepada semua pihak terimakasih atas dukungannya dan kontribusinya, mulai dari author, reviewer dan tentu para anggota tim editor yang sangat luar biasa.

#### 6. Referensi

1. Muzaifa M, Murlida E, Nilda C, Rozali ZF, Rahmi F. Isolation and identification of protease producing bacteria from belacan depik, a traditional fermented fish of the Gayo tribe. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2023;1177(1).
2. Ramadhan AMF, Ardyati T, Jatmiko YD. Halophilic Bacteria Producing Protease from Salted Fish in Ponrang, Luwu Regency, South Sulawesi. J Exp Life Sci. 2023;13(1):35–42.
3. Susanti E, Tirta S, Paramitha A, Lutfiana N, Malang UN. Seleksi Bakteri Proteolitik dari Pangan Fermentasi Lokal Indonesia sebagai Sumber Protease untuk Produksi. MSOpen B Chapter. 2019;78–92.
4. Fuad H, Hidayati N, Darmawati S, Munandar H, Sulistyaningtyas AR, Nurrahman N, et al. Prospects of fibrinolytic proteases of bacteria from sea cucumber fermentation products as antithrombotic agent. BIO Web Conf. 2020;28:1–7.
5. Dhayalan A, Velramar B, Govindasamy B, Ramalingam KR, Dilipkumar A, Pachiappan P. Isolation of a bacterial strain from the gut of the fish, *Systomus sarana*, identification of the isolated strain, optimized production of its protease, the enzyme purification, and partial structural characterization. J Rekeyasa Genet dan Bioteknol. 2022;20(1):2–15.
6. Natalia Ówilichowska, Karolina W. Świdarska, Agnieszka Dobrzyń, Marcin Draj MP. Diagnostic and therapeutic potential of protease inhibition. Mol Aspects Med [Internet]. 2022;88(101144). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2022.101144>
7. Zafrida S, Ethica SN, Ernanto AR, Wijanarka W. Optimization of Crude Protease Production from *Bacillus thuringiensis* HSFI-12 and Thrombolytic Activity Its Enzyme Dialysate. Trends Sci. 2022;19(23).
8. Ravi Shankar, Prabhat Kumar Upadhyay MK. Protease Enzymes: Highlights on Potential of Proteases as Therapeutic Agents. Int J Pept Res Ther [Internet]. 2021;27:1281–96. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10989-021-10167-2>
9. Mushtaq H, Ganai SA, Jehangir A, Ganai BA, Dar R. Molecular and functional characterization of protease from psychrotrophic *Bacillus* sp. HM49 in

- North-western Himalaya. PLoS One [Internet]. 2023;18(3 March):1–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0283677>
10. Tayachew Desalegn, Ketema Bacha, MesfinTafesse CM. The effectiveness of Proteolytic bacteria isolated from effluent of Modjo tannery for their application in the leather and detergent indus. 2023;50(1):1–15.
  11. Sikarina, Iiza M, Diharmi A. Pengaruh PH Berbeda Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Protease Dari Isi Perut Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). Fak Perikan dan Kelaut Univ Riau. 2022;2–8
  12. Arisuryanti T, Nikmah BU, Kasayev T, Hakim L. Determination of species boundaries of Selais fish from Arut River, Central Kalimantan based on 16S mitochondrial gene using Bayesian approach. BIO Web Conf. 2020;28.
  13. Masi C, Gemechu G, Tafesse M. Identification of Alkaline Protease- Producing Bacteria From Leather Industry Effluent. Ann Microbiol. 2021;71(24):2–11.
  14. Amatullah LH, Afifah DN, Jannah SN. Isolation and Molecular Identification of Proteolytic Bacteria from Rusip an Indonesian Fermented Food. 2023;15(3):450–9.
  15. Qudus AF& L ridwan A. Screening And Isolation Of Protease-Producing Bacteria From Wastewater Samples In Obafemi Awolowo University (Oau) Campus, Ile-Ife, Nigeria. IbioRxiv nternasional Licens. 2023;1:31–41.
  16. Garcia-Sanchez A, Cerrato R, Larrasa J, Ambrose NC, Parra A, Alonso JM, et al. Characterisation of an extracellular serine protease gene (nasp gene) from *Dermatophilus congolensis*. FEMS Microbiol Lett. 2004;231(1):53–7.
  17. Suganda H, et al. Isolation and Molecular Identification of Proteolytic Bacteria in Wadi Fermentation Products of Digestive Organs of Eel (*Anguilla* Sp.) Based on 16Srrna Gene. Int J Adv Res. 2022;10(12):1254–60.
  18. Fitriadi R, Setyawan AC, Palupi M, Nurhafid M, Kusuma RO. Isolation and molecular identification of proteolytic bacteria from vaname shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) ponds as probiotic agents. Iraqi J Vet Sci. 2023;37(1):161–70.
  19. Sinaga, E. M., Siahaan, M., & Mahyudi, M. (2021). Isolasi Bakteri Salmonella Paratyphi Dan Shigell Dysentriae Pada Air Sumur Yang Terdapat Di Desa Paya Bakung Kecamatan Hamparan Perak Tahun 2021. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 6(1), 34–41.
  20. Sinaga, E. M., & Mahyudi. (2022). Identification of Staphylococcus Aureus in Patients Diabetic Ulcus In Bunda Thamrin Hospital Medan. *JURNAL ANALIS LABORATORIUM MEDIK*, 7(2), 86–91. <https://doi.org/10.51544/jalm.v7i2.33721>.