

## Selection of Isolates of Local Endophytic Bacteria Cellulolytic Strains from Mangrove Roots *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob

Itnawita, Silvera Devi\*, Mukhlis, Alfika Sari

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau

Kampus Bina Widya Km 12,5, Jln Raya Soebrantas, Pekanbaru, Indonesia

\*Correspondence e-mail: silvera.devi@lecturer.unri.ac.id

### Abstract

Cellulose agricultural waste is a source of environmental pollution and an alternative solution to overcome it is to degrade this waste with the help of cellulolytic enzymes. The Biochemistry Laboratory of FMIPA Riau University has a number of endophytic bacterial isolates from the roots of Mangrove *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob in the Bengkalis area whose potential to produce cellulolytic enzymes is not yet known. Qualitative selection in carboxy methyl cellulose (CMC) solid media from 24 isolates of endophytic bacteria that were able to live because they produced cellulolytic enzymes, only 22 isolates. Quantitatively using the DNS (Dinitro Salicylic Acid) method, 3 of these 22 isolates had relatively higher activity than other isolates. The activity of isolate C-9 (LBKURCC332) was  $572 \times 10^{-4} \pm 0.0069$  U/mL, isolate C-23(LBKURCC346) was  $423 \times 10^{-4} \pm 0.0027$  U/mL and isolate C-30 (LBKURCC353) was  $384 \times 10^{-4} \pm 0.0003$  U/mL and statistically these 3 cellulolytic activities were significantly different

**Keywords:** Bacteria, Endophytic, Cellulolytic

### Abstrak

Produksi amilase dari *Aspergillus sp* LBKURCC304 dalam medium cair selama 11 hari pada suhu 50°C dengan sumber Limbah pertanian selulosa merupakan sumber pencemaran lingkungan dan alternatif solusi untuk mengatasinya adalah dengan mendegradasi limbah tersebut dengan bantuan enzim selulolitik. Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Riau memiliki sejumlah isolat bakteri endofit dari akar Mangrove *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob di daerah Bengkalis yang belum diketahui potensinya untuk menghasilkan enzim selulolitik. Seleksi kualitatif pada media padat karboksime til selulosa (CMC) dari 24 isolat bakteri endofit yang mampu hidup karena menghasilkan enzim selulolitik, hanya 22 isolat. Secara kuantitatif dengan metode DNS (Dinitro Salicylic Acid), 3 dari 22 isolat tersebut memiliki aktivitas yang relatif lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Aktivitas isolat C-9 (LBKURCC332) sebesar  $572 \times 10^{-4} \pm 0.0069$  U/mL, isolat C-23(LBKURCC346) sebesar  $423 \times 10^{-4} \pm 0.0027$  U/mL dan isolat C-30 (LBKURCC353) sebesar  $384 \times 10^{-4} \pm 0.0003$  U/mL dan secara statistik ketiga aktivitas selulolitik ini berbeda nyata

**Kata kunci:** Bakteri, Endofit, Selulolitik

### 1. Pendahuluan

Amilase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis pati menjadi dekstrin, maltosa, dan glukosa (Simair et al., 2017). Amilase digunakan pada industri tekstil, farmasi, pulp dan kertas, pakan, detergen, dan juga industri makanan (Sindhu et al., 2017; Tiwari et al., 2015). Amilase termofilik merupakan salah satu jenis enzim amilase yang banyak diminati dalam proses industri dan bioteknologi karena dapat beraktivitas pada suhu tinggi yakni 50°C atau lebih (Mohammad et al., 2017), sehingga mampu memperkecil risiko terjadinya kontaminasi pada saat produksi (Dwianto, 2015).

Bakteri endofitik didefinisikan sebagai bakteri yang hidup berkoloni di dalam jaringan internal tanaman tanpa menimbulkan efek negatif terhadap tanaman inangnya (Ingle et al., 2006). Seluruh siklus hidup mikroorganisme ini terjadi di dalam inangnya tanpa menyebabkan bahaya bagi inangnya dan memiliki kemampuan untuk menghasilkan metabolit sekunder (Deshmukh et al., 2014; Rafi & Cheah, 2018) sehingga dapat memproteksi tanaman dalam melawan serangga dan mikroba pathogen (Pranoto et al., 2014). Bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tumbuhan melalui akar, bunga, batang dan kotiledon (Pimentel et al., 2011) dan dapat juga masuk dengan cara menghidrolisis dinding tanaman yang mengandung selulosa dengan mengeluarkan enzim selulolitik.

Enzim selulolitik atau enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri dari tiga

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

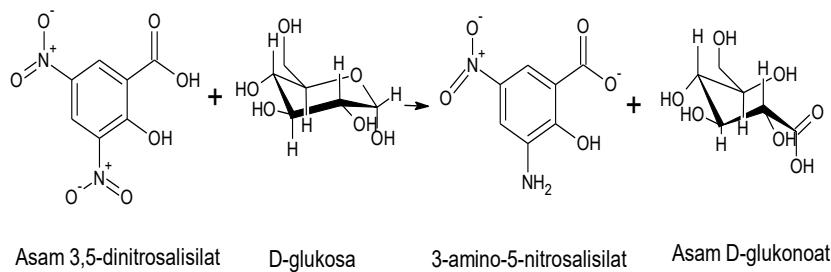
DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

komponen enzim yaitu endo- $\beta$ -1,4-glukonase (CMCase, Cx selulase endoselulase, atau *carboxymethyl selulase*), kompleks ekso- $\beta$ -1,4-glukonase (aviselase, selobiohidrolase), dan  $\beta$ -1,4-glukosidase atau selobiase. Enzim selulase dapat menghidrolisis ikatan glikosida  $\beta$ -(1,4) yang terdapat pada selulosa (Okunowo et al., 2010) sehingga enzim selulolitik ini dapat dimanfaatkan untuk mendegradasi limbah pertanian yang mengandung selulosa, menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi yaitu glukosa. Glukosa hasil degradasi ini, digunakan sebagai bahan baku untuk produksi alkohol (Qu et al., 2006). Aplikasi dari enzim selulolitik ini relatif sangat banyak dan secara komersial enzim ini dimanfaatkan dalam pengolahan kopi, industri tekstil, deterjen, kertas dan dalam industri farmasi (Kavitha & Nagarajan, 2011). oleh karena itu Laboratorium Biokimia sejak tahun 1999 mulai fokus melakukan isolasi mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim selulolitik atau beberapa enzim lainnya dari beberapa daerah di Indonesia termasuk dari daerah Riau. Isolat mikroorganisme ini disimpan sebagai stock kultur dengan label LBKURCC (lab Biokimia Universitas Riau *Collection Culture*).

Pada tahun 2018 lab biokimia Fmipa Unri berhasil mengisolasi 67 isolat fungi dan 60 isolat bakteri endofitik dari akar Magrove yang tumbuh di sekitar Pantai Tangggayun dan Sungai Pakning salah satunya adalah dari spesies *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob. Enam puluh isolat bakteri endofitik ini diduga mempunyai potensi untuk menghasilkan enzim selulolitik, oleh karena itu pada tahap pertama ini akan dilakukan seleksi 24 isolat dari 60 stok isolat yang ada menggunakan media padat selektif yang mengandung CMC 1%, sedangkan untuk produksi enzim selulolitiknya dilakukan dalam media cairnya. Aktivitas enzim selulolitik yang dihasilkan diukur menggunakan metode DNS dan diharapkan isolat bakteri endofitik yang berpotensi menghasilkan enzim ini, dapat dimanfaatkan sebagai pendegradasi beberapa limbah pertanian yang mengandung selulosa.

Prinsip dari metode dinitrosalisalet (DNS) adalah gugus aldehid pada rantai polisakarida dioksidasi menjadi gugus karboksil, disaat yang bersamaan gugus aldehid gula akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisalet menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisalet, Reaksi akan berlangsung secara simultan selama terdapat gula pereduksi dalam larutan yang akan diujikan (Hasanah & Iwan, 2015). Gula pereduksi pada sampel akan bereaksi dengan larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan menjadi warna jingga kemerahan atau membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisalet berwarna kuning kecoklatan (Pratiwi et al., 2018). Satu unit enzim adalah jumlah enzim yang dibutuhkan untuk memecah 1  $\mu\text{mol}$  selulosa menjadi gula pereduksi per menit pada kondisi pengujian



Gambar 3. Reaksi antara pereaksi asam 3,5 dinitrosalisalet dan gula pereduksi

## 2. Metodologi

### 2.1. Alat dan Bahan

**Alat:** autoklaf Electric Model No. 25X (Winconsin Aluminium Foundry Co. Inc., Monitowoc), shaking incubator model LSI 301 6R (Daihan Lab Tech Co. LTD), pH meter F1 83141 (HANNA), spektrofotometer UV-VIS Genesis 10 S (Thermo Scienstific), vortex mixer H-VM-300 (Health), High-speed Micro Centrifuge

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Model CT15RE, sentrifugasi centifig Model 228 (Fisher scientific), waterbath (GRANTH SUB28), incubator (Memmert), dan peralatan umum laboratorium lainnya sesuai dengan prosedur kerja.

**Bahan:** Nutrien Agar (NA) (Cat. No 1.05450.0500), CMC, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, KNO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, yeast extract, agar batang, kertas saring Filter Glass Fiber GF/C Whatman (Cat. No 1822055), reagen asam 3,5- dinitrosalisilat (DNS), mikroorganisme dan bahan-bahan lain sesuai dengan prosedur kerja.

**Tabel 1.** Kode isolat bakteri endofit dari tanaman mangrove spesies *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob.

Kode isolat	Label Kultur
C-9	LBKURCC332
C-10	LBKURCC333
C-11	LBKURCC334
C-12	LBKURCC335
C-13	LBKURCC336
C-14	LBKURCC337
C-15	LBKURCC338
C-16	LBKURCC339
C-17	LBKURCC340
C-18	LBKURCC341
C-19	LBKURCC342
C-20	LBKURCC343
C-21	LBKURCC344
C-22	LBKURCC345
C-23	LBKURCC346
C-24	LBKURCC347
C-25	LBKURCC348
C-26	LBKURCC349
C-27	LBKURCC350
C-28	LBKURCC351
C-29	LBKURCC352
C-30	LBKURCC353
C-31	LBKURCC354
C-32	LBKURCC355

## 2.1. Seleksi Bakteri Endofit Selulolitik

Dua puluh empat (24) Isolat, masing-masing diremajakan di media agar miring pada suhu 37 °C selama 24 jam. Selanjutnya isolat ini diinokulasikan masing-masing ke atas media padat selektif (CMC 1%) selulolitik di dalam pertridish dan diinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 24 jam. Komposisi media padatnya adalah KNO<sub>3</sub> 0,075 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,002 g, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,004 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,020 g, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,002 g, CMC 1 g, agar batang 1,500 g, dilarutkan dalam 100 mL buffer fosfat 0,05 M pH 7 kemudian disterilisasi dengan autoklaf ( 15 lb, 121 °C, 20 menit). Isolat-isolat bakteri yang hidup pada media ini adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulolitik

## 2.2. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulolitik

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Isolat hasil seleksi masing-masing diinokulasikan kedalam erlenmeyer yang berisi 50 mL media Nutrient Broth (NB) steril. Selanjutnya diinkubasi di shaker incubator (agitasi 120 rpm, suhu 37 °C, 12 jam). Suspensi bakteri ini masing-masing diukur ODnya (spektrofotometer dengan  $\lambda$  660nm). Suspensi sel (inokulum) ini selanjutnya dimasukkan ke media produksi selulolitik dengan nilai OD yang sama yaitu 0,1 sebanyak 10 %.

Komposisi media produksi enzim selulolitiknya mengandung K2HPO4 0,002 g, MgSO4.7H2O 0,020 g, KNO3 0,075 g, CaCl2.2H2O 0,004 g, FeSO4.7H2O 0,002 g, yeast extract 0,200 g dan CMC 1 g (Meryandini et al., 2010) dilarutkan dalam 100 mL buffer fosfat 0,05 M pH 7, dan disterilisasi menggunakan autoklaf (tekanan 15 lb, 121 °C, 20 menit). Selanjutnya inokulum sebanyak 10% dengan OD 0,1 masing-masing diinokulasikan ke dalam media produksi enzim selulolitik dan diinkubasi di shaker incubator (kecepatan agitasi 150 rpm, suhu 37 °C, 24 jam). Ekstrak kasar enzim dipisahkan dari isolatnya dengan sentrifugasi (kecepatan 9500 rpm, 10 menit) dan disaring dengan Filter glass fiber (Whatman GF/C). Jika ekstrak kasar enzim tidak langsung dianalisis aktivitas enzimnya, ditambahkan NaN3 hingga konsentrasi larutan 0,02 % (b/v).

Aktivitas ekstrak kasar selulolitik dianalisis dengan menggunakan substrat CMC 1 % pada suhu 30 °C, pH 7 dan gula pereduksi hasil hidrolisis CMC oleh aktivitas enzim selulase ditentukan dengan metode DNS. Prosedurnya sebagai berikut: Tabung uji, kontrol, dan blanko dilakukan dengan tahap sebagai berikut: Tabung uji diisi dengan 1 mL substrat (CMC 1 %) yang dilarutkan ke dalam larutan buffer fosfat 0,05 M pH 7, kemudian ditambahkan ekstrak kasar enzim selulolitik sebanyak 1 mL, dikocok kuat dengan vortex, selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30 °C, dan reaksi enzim dihentikan dengan pendidih pada suhu 100 °C selama 15 menit. Setelah itu, campuran reaksi ditambahkan dengan 1 mL DNS, didihkan pada suhu 100 °C selama 15 menit. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis pada  $\lambda$  575 nm. Perlakuan kontrol dan blanko dilakukan secara bersamaan dengan metode dan tahapan yang sama. Pada kontrol, enzim yang akan direaksikan dengan substrat telah dinaktivasi terlebih dahulu dengan memanaskan enzim selama 15 menit dalam air mendidih. Pada blanko, larutan enzim diganti dengan akuades untuk direaksikan dengan substrat. Aktivitas selulase dinyatakan dalam satuan internasional yaitu U/mL. Satu unit merupakan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1  $\mu$ mol gula pereduksi per menit pada kondisi pengujian. Standar glukosa dibuat pada berbagai konsentrasi. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan masing-masing tiga kali pengulangan untuk setiap sampel. Absorbansi masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis Genesis 10S pada panjang gelombang 575 nm.

Data aktivitas enzim selulolitik yang diperoleh dari percobaan ini dianalisis secara statistik dengan Anova dan dilanjutkan dengan uji Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5 %.

$$\text{Aktivitas enzim}(\text{U. mL}^{-1}) = \frac{\text{Kadar glukosa}(\mu\text{g. mL}^{-1})}{\text{Mr glukosa}(\mu\text{g. }\mu\text{mol}^{-1}) \times \text{waktu inkubasi (menit)} \times \text{volume enzim(mL)}}$$

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Seleksi Bakteri Endofit Selulolitik

Bakteri endofit yang tumbuh pada media padat selektif selulase adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulolitik dan dari 24 isolat yang di seleksi hanya ada dua isolat yang tidak tumbuh dan datanya dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Aktivitas Selulolitik dari isolat bakteri endofit

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

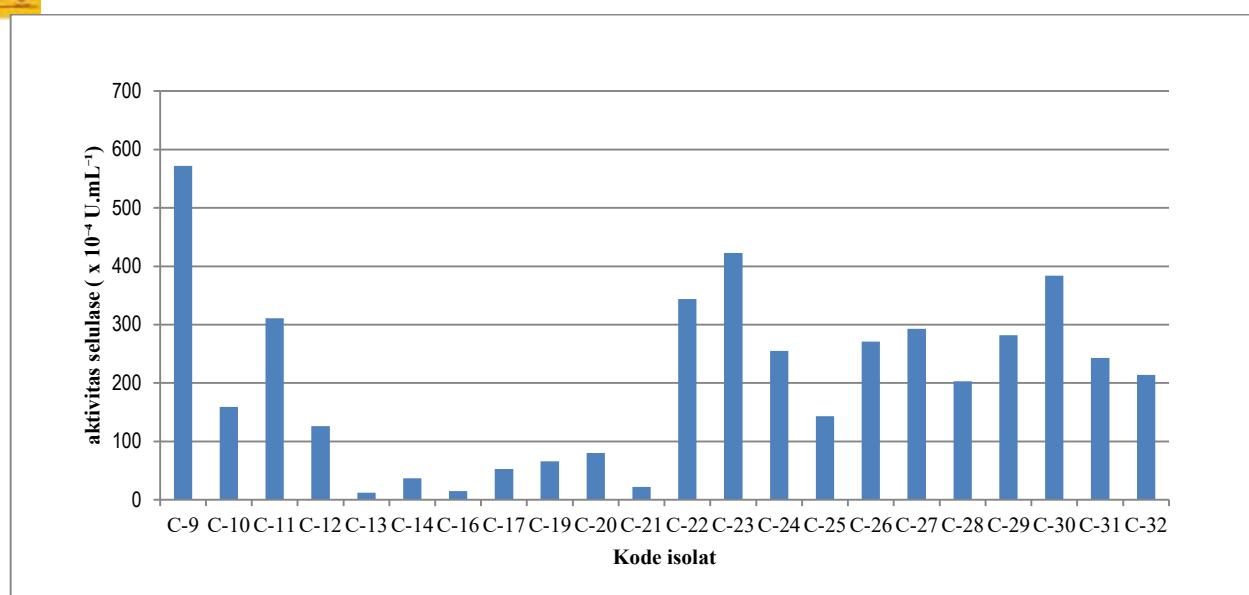
PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](#)

No	Kode Isolat	Seleksi isolat	Aktivitas selulolitik ( $\times 10^{-4}$ ) U/mL	
1	C9	LBKURCC332	hidup	$572 \pm 0.0069^a$
2	C10	LBKURCC333	hidup	$159 \pm 0.0002^k$
3	C11	LBKURCC334	hidup	$311 \pm 0.0001^{de}$
4	C12	LBKURCC335	hidup	$126 \pm 0.0006^k$
5	C13	LBKURCC336	hidup	$12 \pm 0.0001^o$
6	C14	LBKURCC337	hidup	$37 \pm 0.0000^{mno}$
7	C15	LBKURCC338	mati	<i>Tidak di deteksi</i>
8	C16	LBKURCC339	hidup	$15 \pm 0.0001^o$
9	C17	LBKURCC340	hidup	$53 \pm 0.0007^{lmn}$
10	C18	LBKURCC341	mati	<i>Tidak di deteksi</i>
11	C19	LBKURCC342	hidup	$66 \pm 0.0002^{lm}$
12	C20	LBKURCC343	hidup	$80 \pm 0.0001^l$
13	C21	LBKURCC344	hidup	$22 \pm 0.0004^{no}$
14	C22	LBKURCC345	hidup	$344 \pm 0.0001^d$
15	C23	LBKURCC346	hidup	$423 \pm 0.0027^b$
16	C24	LBKURCC347	hidup	$255 \pm 0.0049^{gh}$
17	C25	LBKURCC348	hidup	$143 \pm 0.0002^k$
18	C26	LBKURCC349	hidup	$271 \pm 0.0025^{fgh}$
19	C27	LBKURCC350	hidup	$293 \pm 0.0002^{ef}$
20	C28	LBKURCC351	hidup	$203 \pm 0.0006^j$
21	C29	LBKURCC352	hidup	$282 \pm 0.0004^{efg}$
22	C30	LBKURCC353	hidup	$384 \pm 0.0003^c$
23	C31	LBKURCC354	hidup	$243 \pm 0.0012^{hi}$
24	C32	LBKURCC355	hidup	$214 \pm 0.0019^{ij}$

Catatan: pangkat huruf yang tidak sama menyatakan berbeda nyata pada tingkat 5% ( $p \geq 0,05$ )

Data pada Tabel 2. menginformasikan bahwa dari 22 isolat, ada 3 kelompok isolat dengan aktivitas sebagai berikut: kelompok ke-1, 3 isolat mempunyai aktivitas enzim selulolitik relatif lebih tinggi dari isolat lainnya yaitu berturut-turut C9, C23 dan C30 dengan aktivitas selulolitiknya  $572 \times 10^{-4} \pm 0.0069 > 423 \times 10^{-4} \pm 0.0027 > 384 \times 10^{-4} \pm 0.0003$  dan secara statistik data ini berbeda secara nyata. Kelompok ke-2 adalah isolat C-22 aktivitas enzimnya  $344 \times 10^{-4} \pm 0.0001$ , tidak berbeda nyata dengan isolat C-11, C-24, C-26, C-27, C-28, C-29, C-31, C-32. Kelompok ke-3 aktivitas selulolitik isolat C-10 sebesar  $159 \times 10^{-4} \pm 0.0002$  U/mL yang tidak berbeda nyata dengan isolat C-12 dan C-25. Kelompok ke-4 adalah isolat C-20 aktivitas enzimnya sebesar  $80 \times 10^{-4} \pm 0.0001$  U/mL tidak berbeda nyata dengan isolat C-13, C-14, C-16, C-17, C-19, dan C-21.

Aktivitas senzim selulolitik yang dihasilkan dihitung berdasarkan jumlah gula pereduksi yang terbentuk dari proses hidrolisis substrat carboxymethyl cellulose (CMC) oleh enzim selulolitik. Satu unit (U) aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya  $\mu\text{mol}$  gula pereduksi hasil 1 mL enzim permenit. Data aktivitas selulolitik ini dapat dilihat dalam bentuk grafik pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Grafik aktivitas enzim selulolitik.

### 3.2. Seleksi Bakteri Endofit Selulolitik

Isolat bakteri endofitik yang diidentifikasi potensinya menghasilkan enzim selulolitik, berasal dari akar tumbuhan mangrove spesies *Ceriops tagal* (Perr) C. B. Rob dari Dermaga Sei Pakning dan Pantai Tenggayun, Kabupaten Bengkalis, Riau. Bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase dapat juga disebut dengan kelompok bakteri selulolitik. Enzim selulase yang diproduksi oleh bakteri selulolitik pada umumnya merupakan enzim ekstraseluler (Saropah et al., 2012). Bakteri akan mensintesis enzim selulase selama dia tumbuh pada media selektif selulase (Yogyaswari et al., 2016). Pada penelitian ini untuk menyeleksi adanya aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri endofit ini, dilakukan dengan cara meinokulasikan bakteri ke permukaan media padat yang mengandung CMC 1% dan kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Hasil Seleksi dari 24 bakteri endofit di dalam media padat selektif yang mengandung CMC 1% sebagai sumber karbonnya, ternyata ada 22 isolat yang dapat hidup, sedangkan 2 lainnya tidak hidup yaitu C-15 dan C-18 dan isolat ini diduga tidak mampu menghasilkan enzim selulolitik. Dua puluh dua (22) bakteri yang tumbuh pada media selektif ini, karena menghasilkan enzim selulolitik dan enzim ini selanjutnya akan menghidrolisis CMC pada media menjadi glukosa dan kemudian glukosa ini akan digunakan sebagai sumber karbon selama pertumbuhan berlangsung. Hal ini di konfirmasi oleh pernyataan (Nurrochman, 2015), bahwa bakteri selulolitik merupakan bakteri yang dapat menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa. Glukosa tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi dan karbon bagi pertumbuhan mikroba tersebut (Retno & Nuri, 2011). Menurut (Hidayat, 2009), bakteri endofit pada tumbuhan umumnya berasal dari akar dan selanjutnya menyebar melalui jaringan xylem ke berbagai organ lain. Mekanisme bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman yaitu bakteri akan menempel pada permukaan tanaman dan melakukan penetrasi melalui luka, ruang intraseluler (Compart et al., 2005) atau dengan cara menghidrolisis tumbuhan yang kaya akan selulosa dengan bantuan enzim selulase (Kaga et al., 2009).

Ke-22 isolat bakteri endofit yang positif tumbuh pada media padat CMC 1% diduga masuk ke dalam jaringan tumbuhan mangrove dengan cara mendegradasi selulosa dinding sel tumbuhan dengan bantuan enzim selulolitiknya. Pada saat melakukan penetrasi ke dalam jaringan tumbuhan enzim selulolitik akan mendegradasi dinding sel tumbuhan yang mengandung selulosa. Keberadaan ke dua isolat C-15 dan C-18 di

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](#)

akar, dapat terjadi masuk ke dalam jaringan mangrove Ceriops tagal (Perr) C. B. Rob melalui jaringan tumbuhan yang terbuka atau luka dan bukan karena adanya aktivitas selulase atau terjadinya penetrasi ke dalam jaringan tumbuhan karena jaringan dari dinding sel tumbuhan yang mengandung selulosa sudah rusak atau luka sehingga bakteri ini mudah masuk ke dalam jaringan tumbuhan mangrove.

### 3.3. Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulolitik

Produksi enzim selulolitik dari isolat bakteri endofit ini dilakukan dalam media produksi cair menggunakan substrat CMC 1% sebagai sumber karbohidrat dan sekaligus sebagai induser. Enzim selulolitik/selulase pada umumnya merupakan jenis enzim ekstraseluler sehingga enzim yang dihasilkan berada dalam media produksi dan dengan mudah dapat dipisahkan dari sel dengan cara sentrifugasi. Ekstrak kasar enzim diperoleh dengan cara mensentrifugasi media produksi dalam keadaan dingin (4°C) yang bertujuan agar enzim tidak terdenaturasi. Supernatan yang diperoleh kemudian disaring filter glass fiber (Whatman GF/C) agar ekstrak kasar enzim terpisah dengan substrat yang masih terdapat dalam supernatan.

Data aktivitas selulolitik pada Tabel 2. dan Gambar 1. setelah diuji secara statistic dengan metode Duncan jarak berganda, ternyata dari 22 isolat bakteri endofit dari akar mangrove Ceriosptagal (Perr) C. B. Rob diperoleh ada 3 isolat yang aktivitas enzimnya relatif lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Tiga isolat ini aktivitas selulolitiknya berbeda secara nyata dengan isolat yang lain yaitu isolat C-9, C-23 dan isolat C-30 dengan aktivitas selulolitik berturut-turut  $572 \times 10^{-4} \pm 0,0069$  U/mL,  $423 \times 10^{-4} \pm 0,0027$  U/mL, dan  $384 \times 10^{-4} \pm 0,0003$  U/mL, sedangkan kelompok isolat lainnya yang aktivitas selulolitiknya secara statistik tidak berbeda nyata yaitu; isolat C-22 dengan aktivitas selulolitik sebesar  $344 \times 10^{-4} \pm 0,0001$  U/mL tidak berbeda nyata dengan aktivitas isolat C-11, C-24, C-26, C-27, C-28, C-29, C-31, C-32. Kelompok lainnya yaitu isolat C-10 aktivitas enzim selulotiknya sebesar  $159 \times 10^{-4} \pm 0,0002$  U/mL yang tidak berbeda nyata dengan isolat C-12, dan C-25. Selanjutnya kelompok isolate dengan aktivitas terendah yaitu isolat C-20 sebesar  $80 \times 10^{-4} \pm 0,0001$  U/mL tidak berbeda nyata dengan isolat C-13, C-14, C-16, C-17, C-19, dan C-21.

Ketiga isolat yang memiliki aktivitas selulolitik tertinggi yaitu C-9; C-23 dan C-30 dengan aktivitas selulotik yang berbeda secara nyata, dapat diduga bahwa ke-3 isolat ini spesies memang berbeda, sedangkan untuk isolat yang memiliki aktivitas secara statistik tidak berbeda secara nyata, ada beberapa kemungkinan antara lain, pertama isolat ini adalah isolat dengan spesies yang sama, atau spesiesnya berbeda tapi menghasilkan enzim selulolitik dengan aktivitas yang sama, oleh karena itu perlu dilakukan analisis botaninya untuk memastikan apakah isolat ini berbeda atau sama spesiesnya.

## 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil seleksi dari 24 isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan mangrove Ceriops tagal (Perr) C. B. Rob. pada media selektif diperoleh 22 isolat hidup positif menghasilkan enzim selulase dan aktivitas enzim selulase 3 tertinggi dari 22 isolat berturut-turut adalah isolat C-9 sebesar  $572 \times 10^{-4} \pm 0,0069$  U/mL > isolat C-23 sebesar  $423 \times 10^{-4} \pm 0,0027$  U/mL > isolat C-30 sebesar  $384 \times 10^{-4} \pm 0,0003$  U/mL aktivitas berbeda nyata dengan isolat yang lainnya.

## Daftar Pustaka

- Compan, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4).

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.1128/AEM.71.4.1685-1693.2005>

Deshmukh, S. K., Verekar, S. A., & Bhave, S. V. (2014). Endophytic fungi: A reservoir of antibacterials.

In *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00715>

Hasanah, N., & Iwan, S. (2015). Aktivitas selulase isolat jamur dari limbah media tanam jamur merang.

Jurnal Prosedium Seminar Masyarakat BIODIV Indonesia, 1(Imas 2009), 1110–1115.

<https://doi.org/10.13057/psnmbi/m010524>

Hidayat, A. (2009). Sumberdaya Lahan Indonesia: Potensi, Permasalahan, dan Strategi Pemanfaatan.

Jurnal Sumberdaya Lahan, 3(2), 107–117.

<https://media.neliti.com/media/publications/133835-ID-none.pdf>

Ingle, S. S., Panchal, V., & Chhatpar, H. S. (2006). Studies on carbohydrate metabolism in *Bacillus sphaericus* 1593. *African Journal of Biotechnology*. <https://doi.org/10.5897/AJB06.054>

Kaga, H., Mano, H., Tanaka, F., Watanabe, A., Kaneko, S., & Morisaki, H. (2009). Rice Seeds as Sources of

Endophytic Bacteria. *Microbes Environ*, 24(2), 154–162.

<https://doi.org/10.1264/jmse2.ME09113>

Kavitha, S., & Nagarajan, P. (2011). Production of Endoglucanase in Mixed Culture of *Trichoderma viride* and *Aspergillus niger*-Kinetics and Modeling. *International Journal of ChemTech Research*.

Meryandini, A., Widosari, W., Maranatha, B., Sunarti, T. C., Rachmania, N., & Satria, H. (2010). Isolasi

Bakteri Selulolitik Dan Karakterisasi Enzimnya. Makara of Science Series.

<https://doi.org/10.7454/mss.v13i1.369>

Nurrochman, F. (2015). Eksplorasi Bakteri Selulolitik Dari Tanah Hutan Mangrove Kretek, Bantul, Yogyakarta. Naskah Publikasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Okunowo, W. O., Gbenle, G. O., Osuntoki, A. A., Adekunle, A. A., & Ojokuku, S. A. (2010). Production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by a phytopathogenic *Myrothecium roridum* and some avirulent fungal isolates from water hyacinth. *African Journal of Biotechnology*.

Pimentel, M. R., Molina, G., Dionísio, A. P., Maróstica Junior, M. R., & Pastore, G. M. (2011). The Use of Endophytes to Obtain Bioactive Compounds and Their Application in Biotransformation Process. *Biotechnology Research International*. <https://doi.org/10.4061/2011/576286>

Pranoto, E., Fauzi, G., & Hingdri. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Tanaman Teh (*Camellia Sinensis* (L.) O.Kuntze) Produktif dan Belum Menghasilkan klon GMB 7 Dataran Tinggi. *Biospecies*, 7(1), 1–7.

Pratiwi, Y. H., Ratnayani, O., & Wirajana, I. N. (2018). Perbandingan Metode Uji Gula Pereduksi Dalam Penentuan Aktivitas  $\beta$ -L-Arabinofuranosidase Dengan Substrat Janur Kelapa (Cocos Nucifera). *Jurnal Kimia*, 134. <https://doi.org/10.24843/jchem.2018.v12.i02.p07>

Qu, Y., Zhu, M., Liu, K., Bao, X., & Lin, J. (2006). Studies on cellulosic ethanol production for sustainable supply of liquid fuel in China. In *Biotechnology Journal*.

Received: 31 Januari 2022, Accepted: 19 Juni 2022 - Jurnal Photon Vol.12 No.2

DOI: <https://doi.org/10.37859/jp.v12i2.3371>

PHOTON is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.1002/biot.200600067>

Rafi, M. I., & Cheah, Y. K. (2018). Bacterial Endophytes: A Reservoir of Bioactive Anti-Microbial Compounds. *Life Sciences, Medicine and Biomedicine*.

<https://doi.org/10.28916/lsmb.2.1.2018.8>

Retno, D. T., & Nuri, W. (2011). Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia, E11-1-E11-7.

Saropah, D. A., Jannah, A., & Maunatin, A. (2012). Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Dari Bekatul. *Alchemy*, 2(1-2), 34-45.

Yogyaswari, S. A., Rukmi, M. G. I., & Raharjo, B. (2016). Ekplorasi Bakteri Selulolitik Dari Cairan Rumen Sapi Peranakan Fries Holland (PFH) Dan Limousine Peranakan Ongole (Limpo). *Jurnal Biologi*, 5(4), 70-80.