

## Seleksi Aktinomisetes Penghasil Protease dari Tanah Gambut Desa Langkai, Siak, Riau

TETTY MARTA LINDA\*, ATRIA MARTINA, BERNADETA LENI FEBRIANTI,  
HERLINDA, TABRI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Riau, Pekanbaru 28293

\*email: tetty.martalinda@yahoo.com

### ABSTRAK

Aktinomisetes dikenal sebagai produsen metabolit sekunder dan karena itu memiliki nilai farmakologis tinggi dan kepentingan komersial. Dalam penelitian ini, total 14 isolat actinomycetes dari tanah gambut di Desa Langkai, Siak, Riau telah dipilih untuk mengetahui kemampuannya dalam menghasilkan protease. Protease ekstraseluler dari isolat aktinomisetes dapat dilihat dengan menginkubasi isolat pada media *Nutrient Agar* yang mengandung kasein 1%. Skrining dari isolat aktinomisetes menunjukkan bahwa lima isolat memiliki kemampuan untuk menghasilkan zona bening dengan nilai indeks proteolitik (IP) berkisar 5,73-11,15. Isolat L313 menunjukkan nilai IP tertinggi (11,15), serta produksi protease tertinggi (0,041 U / ml) pada media *Nutrient Broth* yang mengandung kasein 1% setelah 6 hari inkubasi pada suhu kamar.

**Kata kunci:** aktinomisetes, zona bening, tanah gambut, protease, indeks proteolitik

### ABSTRACT

Actinomycetes is well known as secondary metabolites producer and hence it has high pharmacological and commercial interest. In this study, a total of 14 isolates of actinomycetes from peat soils in Langkai Village, Siak, Riau had been selected for their ability to produce protease. Extracellular protease from Actinomycetes isolates was characterized by incubating the isolate in Nutrient Agar media containing casein 1%. Screening of actinomycetes isolates showed that five isolates had the ability to produce a clear zone with the value of proteolytic index (IP) ranged from 5.73 to 11.15. Isolates L313 showed the highest IP value (11.15), as well as the highest protease production (0.041 U/ml) in Nutrient Broth media containing casein 1% after 6 days incubation at room temperature.

**Key words:** actinomycetes, clear zone, peat soil, protease, proteolytic index

### PENDAHULUAN

Aktinomisetes adalah bakteri berfilamen, Gram positif yang memiliki morfologi hampir mirip dengan jamur. Umumnya, aktinomisetes dapat hidup di tanah dan air yang diketahui sangat potensial menghasilkan senyawa bioaktif; antibiotik, anti kanker dan enzim; kitinase, glukosa isomerase, selulase, xilanase dan protease yang digunakan untuk industri (Kavitha & Vijayalakshmi, 2007; Astalakshmi *et al.*, 2014). Protease merupakan enzim penting yang memiliki aplikasi luas di industri bidang farmasi, penyamakan kulit, makanan, pengolahan limbah (Vonothini *et al.*, 2008), pengembangan pengobatan sel kanker (Balachandran *et al.*, 2012) dan laundry (Ghorbel *et al.*, 2014).

Protease yang dihasilkan oleh mikroba dapat diklasifikasikan sebagai protease serin, protease aspartik, metalloprotease, dan sistein protease (Rao *et al.* 1998). Beberapa peneliti sebelumnya telah berhasil

mengisolasi aktinomisetes penghasil protease yaitu *Streptomyces* sp. SLW8-1 dan 451-3 (Yuratmoko *et al.*, 2007), *Streptomyces albidoflavus*, *S. exfoliatus*, *S. lydicus*, *S. microflavus*, *S. atroolivaceus*, *S. cromofuscus*, *S. lavendulae*, *Streptomyces* sp., *S. violaceus* dan *S. Anulatus* (Rifaat *et al.*, 2007) dan *Streptomyces reseiscleroticus* (Vonothini *et al.*, 2008). Selain itu aktinomisetes juga diketahui dapat menghasilkan selulase seperti *Micromonospora*, *Nocardia*, *microtetraspora*, *microbiospora*, *Streptomyces*, *Streptosporangium* (Nurkanto, 2007). Begitu pentingnya enzim ini sehingga perlu mencari enzim dari kelompok mikroba dengan habitat yang berbeda. Salah satu sumber enzim protease ini adalah aktinomisetes dari tanah gambut di Riau yang berpotensi menghasilkan enzim yang memiliki karakter unik yang dapat dikembangkan ke depan untuk memenuhi kebutuhan industri pertanian, kimia, dan medis.

## METODE PENELITIAN

### Sumber isolat

Isolat aktinomisetes yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil isolasi dari tanah gambut di Desa Langkai, Siak Riau (Herlinda 2008). Isolasi menggunakan medium Gliserol Arginin Agar (GAA) dengan komposisi 12,5 g gliserol, Arginin (FSA) 1 g, NaCl 1 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Fisons) 1 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,5 g, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,01 g, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O 0,01 g dan 15 g agar, 1000 ml akuades (Pandey *et al.*, 2002).

### Seleksi aktinomisetes penghasil protease

Empat belas (14) isolat aktinomisetes diseleksi secara kualitatif untuk melihat kemampuannya menghasilkan protease berdasarkan kemampuan hidrolitik. Masing-masing isolat ditumbuhkan pada cawan petri yang berisikan medium NA dan kasein 1% (w/v) yang diinkubasi selama 7-14 hari pada temperatur ruang. Pengukuran isolat aktinomisetes yang menghasilkan protease ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni pada media kultur (Yuratmoko *et al.* 2007). Indeks proteolitik (IP) diukur dengan menggunakan rumus perbandingan diameter zona bening dengan diameter koloni.

### Aktivitas protease dalam media fermentasi

Isolat aktinomisetes yang akan diuji aktivitas proteasenya dipersiapkan dengan menumbuhkan 1 lup dari masing-masing isolat aktinomisetes ke dalam media kaldu nutrien (NB) hingga populasinya 10<sup>6</sup> cfu/ml. Selanjutnya, 1 ml dari masing-masing isolat aktinomisetes (10<sup>6</sup> cfu/ml), ditumbuhkan pada 50 ml media NB yang mengandung kasein 1% (w/v) di dalam Erlenmeyer 250 ml. Kultur diinkubasi dalam inkubator bergoyang dengan kecepatan 240 rpm pada temperatur ruangan. Uji aktivitas protease diamati pada hari ke 2, 4, 6, dan 8 (Rao & Narasu 2007; Yuratmoko *et al.* 2007).

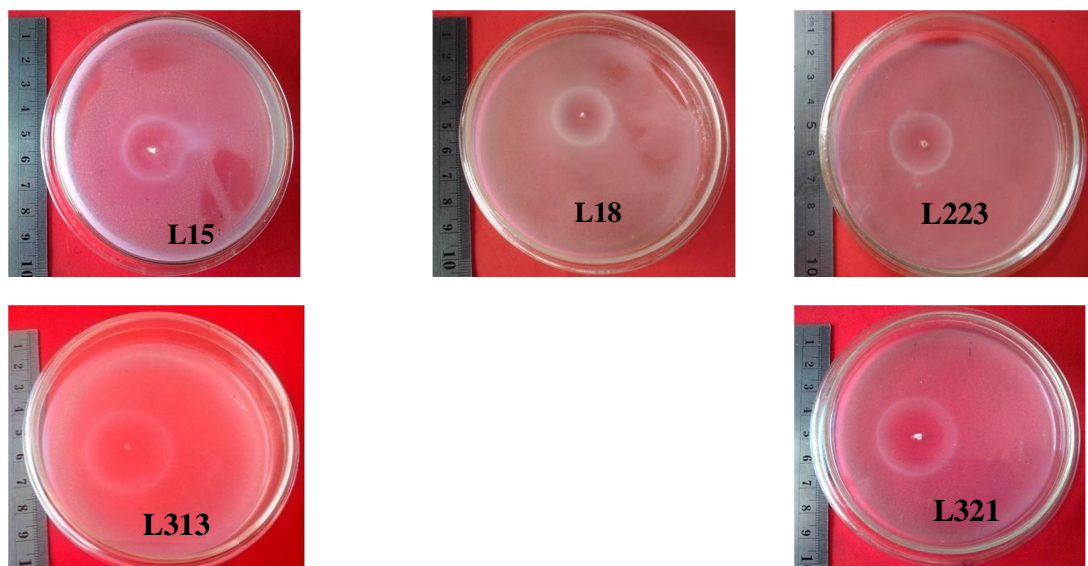
### Penentuan aktivitas protease

Pengukuran aktivitas protease merujuk pada kaidah Rao & Narasu (2007) dan Yuratmoko *et al.* (2007). Aktivitas protease dilakukan dengan menginkubasi 0,5 ml supernatan yang ditambahkan dengan 0,5 ml kasein 1% (w/v) dan 0,5 ml buffer fosfat 200 mM pH 7 pada suhu 37°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 ml Asam Trikloro Asetat (TCA) 10% dan diinkubasi kembali selama 10 menit. Selanjutnya, larutan tersebut disentrifus. Sebanyak 0,5 ml supernatan ditambahkan dengan 2,5 ml NaOH 0,1 N dan 0,5 ml reagen Folin Ciocalteau. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 670 nm menggunakan spektrofotometer. Satu unit aktivitas enzim protease didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1 µg tirosin per menit

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Seleksi aktinomisetes penghasil protease

Hasil seleksi secara kualitatif diperoleh 5 isolat aktinomisetes dari tanah gambut Desa Langkai, Siak Riau yang mampu menghasilkan enzim protease yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media NA yang mengandung kasein 1% (w/v) (Gambar 1).



**Gambar 1.** Aktivitas hidrolisis isolat aktinomisetes yang membentuk zona bening dalam media *Nutrient Agar* + kasein 1%, inkubasi 10 hari.

Sejalan dengan penelitian Vonothini *et al.* (2008) yang berhasil menyeleksi 6 isolat aktinomisetes dari perairan Vellar, India yang memiliki zona bening dalam medium agar gelatin. Zona bening yang terbentuk merupakan adanya protease ekstraseluler yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes yang menyebabkan kandungan protein pada media NA terhidrolisis menjadi peptida dan asam amino. Zona bening merupakan indikator bahwa isolat baktinomisetes mampu memanfaatkan protein pada media sebagai sumber nutrisinya.

**Tabel 1.** Nilai indeks proteolitik dari isolat aktinomisetes yang mampu menghasilkan enzim protease secara semi-kuantitatif

No	Kode Isolat	Diameter Zona Bening (cm)	Diameter Koloni (cm)	Nilai Indeks Proteolitik (IP)
1.	L11	-	0.22	-
2.	L12	-	0.30	-
3.	L13	-	0.33	-
4.	L15	1.66	0.29	5.73
5.	L17	-	0.24	-
6.	L18	2.83	0.30	9.43
7.	L121	-	0.24	-
8.	L223	2.51	0.30	8.37
9.	L225	-	0.27	-
10.	L311	-	0.27	-
11.	L313	2.9	0.26	<b>11.15</b>
12.	L321	3.5	0.33	10.61
13.	L421	-	0.21	-
14.	L513	-	0.25	-

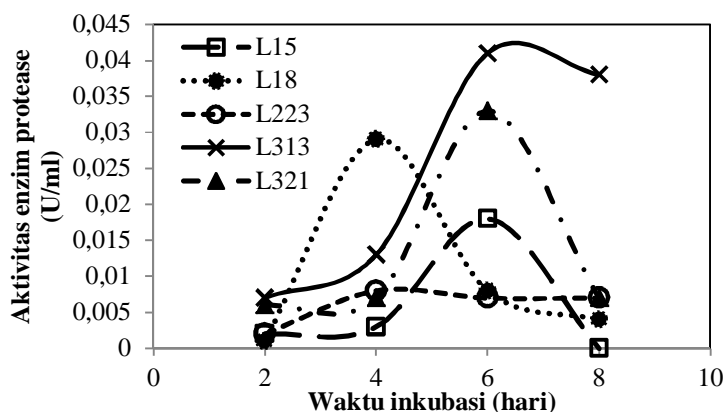
Ket: L= Langkai, (-) = Tidak ada zona bening

Nilai indeks proteolitik (IP) dari kelima isolat berkisar antara 5,73 hingga 11,15. Nilai IP tertinggi dijumpai pada isolat aktinomisetes L313 dengan nilai 11,15. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai IP isolat L313 lebih tinggi berbanding nilai IP dari 3 (tiga) isolat bakteri yang diisolasi dari tanah rawa Indralaya, Sumatera Selatan yang dilaporkan oleh Baehaki *et al.* (2011) dengan nilai IP tertinggi hanya 2.0 maupun

penelitian yang dilaporkan oleh Mahdiyah (2015) memperoleh 5 isolat bakteri yang diisolasi dari tanah gambut Banjarmasin, Kalimantan Selatan, dengan nilai IP 3 pada media NA yang mengandung kasein 1%. Penelitian lain pada uji kualitatif diperoleh zona bening dari isolat *Streptomyces fungicidicus* MML1614 pada 5 hari inkubasi dalam media gelatin agar yang mengandung kasein 1% (Ramesh *et al.*, 2009). Isolat yang mempunyai nilai IP > 5 dipilih untuk dilanjutkan analisis aktivitas proteasenya (Tabel 1). Besarnya nilai IP dari masing-masing mikroorganisme sangat bergantung dari jenis isolat, medium, pH dan waktu inkubasi yang digunakan.

### Pengukuran Aktivitas Protease

Semua isolat aktinomisetes dari tanah gambut Desa Langkai, Siak, Riau sudah menunjukkan aktivitas protease pada 2 hari inkubasi dalam media kaldu nutrien. Isolat aktinomisetes memiliki waktu produksi optimum yang berbeda-beda, untuk isolat L313, L321 dan L15 adalah 6 hari dan untuk isolat L18 dan L223 adalah 4 hari inkubasi pada suhu ruang. Pada Gambar 1. tampak bahwa protease isolat L313 memiliki aktivitas tertinggi yaitu 0.041 U/ml, isolat L321 0.033 U/ml dan isolat L15 0.018 U/ml setelah diinkubasi selama 6 hari dalam media kaldu nutrien yang mengandung kasein 1% (w/v). Aktivitas protease pada isolat L223 dan isolat L18, waktu aktivitas tertinggi dijumpai lebih awal berbanding ketiga isolat uji lainnya yaitu pada 4 hari inkubasi, masing-masing adalah 0,029 U/ml dan 0.007 U/ml. Lima isolat aktinomisetes yang diuji protease menunjukkan aktivitas menurun pada 8 hari inkubasi. Aktivitas protease yang dihasilkan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilaporkan Baehaki *et al.* (2011) menggunakan isolat bakteri dalam medium kaldu Luria Bertani. Hal ini mungkin disebabkan karena belum optimalnya suhu, pH dan waktu inkubasi yang diperlukan untuk melihat aktivitas protease.



**Gambar 2.** Aktivitas enzim protease dari isolat aktinomisetes pada media kaldu nutrien yang mengandung kasein 1% (w/v).

Pada penelitian ini terlihat diameter zona bening yang dihasilkan pada medium padat tidak selalu berkorelasi dengan tingginya aktivitas protease pada medium cair. Penelitian lain produksi protease aktinomisetes didapatkan dengan waktu produksi protease optimum lebih lambat yaitu selama tujuh hari inkubasi menggunakan isolat aktinomisetes SLW8-1 dan 45I-3 dalam medium kaldu nutrien yang mengandung susu skim (Yuratmoko *et al.*, 2007) dibanding dengan isolat L313, L321, dan L15.

### KESIMPULAN

Lima isolat aktinomisetes dari Desa Langkai, Siak Riau memiliki kemampuan dalam menghasilkan protease. Isolat L313 memberikan nilai IP tertinggi yaitu 11.15 dan aktivitas protease 0.41 U/ml dalam media kaldu nutrien yang mengandung kasein 1% (w/v) selama inkubasi 6 hari pada temperatur ruang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Astalakshmi A., V. Thangapandian, K. Lingakumar. 2014. Isolation and characterization of Actinomycetes from the Soil of Devathanam – A Foot-hill of Western Ghats International Journal of Pharma Research & Review. 3(1): 15-20.
- Baehaki A., Rinto, A. Budiman. 2011. Isolasi Dan Karakterisasi Protease Dari Bakteri Tanah Rawa Indralaya, Sumatera Selatan. J. Teknol. dan Industri Pangan. 12(1): 37-42.
- Balachandran C., V. Duraipandiyan, S. Ignacimuthu. 2012. Purification and characterization of protease enzyme from actinomycetes and its cytotoxic effect on cancer cell line (A549). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 392-400.
- Ghorbel S., M. Kammoun, H. Soltana, M. Nasri, N. Hmidet. 2014. *Streptomyces flavogriseus* HS1: Isolation and Characterization of Extracellular Proteases and Their Compatibility with Laundry Detergents. BioMed Research International. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/345980> [25 Oktober 2015].
- Herlinda. 2006. Isolasi dan Uji Daya Hambat Aktinomisetes Asal Tanah Gambut Desa Langkai Kecamatan Siak Terhadap *Rhizoctonia solani* Kuhn dan *Sclerotium rolfsii* Sacc. (Skripsi): Pekanbaru Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.
- Kavitha, M. Vijayalakshmi. 2007. Studies on culture, physiological and Antimicrobial Activities of *Streptomyces rochei*. Journal of Applied Science Research 3(12):2026-2029.
- Mahdiyah D. 2015. Isolasi Bakteri Dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. Jurnal Pharmascience 2(2):71 – 79.
- Nurkanto A. 2007. Identifikasi Aktinomisetes tanah hutan pasca kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan potensinya sebagai pendegradasi selulosa dan pelarut fosfat. Biodiversitas 8 (4): 314-319.
- Pandey B., Ghimire P., Agrawal V.P. (2002). Studies on The Bacterial Activity of The Actinomycetes Isolated From The Khumbu Region of Nepal. *Academy of Science and Technology*. Tribuvan University. Nepal.
- Ramesh S., M. Rajesh, N. Mathivanan. 2009. Characterization of a Thermostable Alkaline Protease Produced by Marine *Streptomyces fungicides* MML1614. Bioprocess Biosyst. 32: 791-800.
- Rao MM., AM. Tanksale, MS, Gatge, VV Desphande. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiol. And Mol. Biol. Rev.* 62(3):597-635.
- Rao K, L. Narasu. 2007 Alkaline protease from *Bacillus firmus* 7728. African Journal of Biotechnology, 6, 2493-2496
- Rifaat HM., OH. El-Said, SM. Hassanein, MSM. Selim. 2007. Protease activity of Some Mesophilic *Streptomyces* Isolated from Egyptian Habitats. Journal of Culture Collections 5:16-24.
- Yuratmoko D., NR. Mubarik, A. Meryandini. 2007. Screening of Proteolytic Enzymes of *Streptomyces* sp. Local Strain and Their Characterization. Microbiology Indonesia. 1(2): 69-73.
- Vonothini G., M. Murugan, K. Sivakumar, Sudhas. 2008. Optimization of Protease Production by an Actinomycetes Strain PS-18A Isolated from Estuarine Shrimp Pond. African Journal of Biotechnology. 7(18): 3225-3230.