



## Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri *Staphylococcus epidermis* pada Rusip Udang Windu (*Penaeus monodon*) Pasca Fermentasi 24 Jam Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA

### *Isolation and Identification Of Molecular Bacteria Staphylococcus epidermis on Rusip Udang Windu (Penaeus monodon) 24 Hour Post-Fermentation Based on Gen 16S rRNA Sequence*

Muhamad Fazri<sup>1</sup>, Aprilia Indra Kartika<sup>1</sup>, Sri Darmawati<sup>2</sup>, Stalis Norma Ethica<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

<sup>2</sup>Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Semarang  
Corresponding author: norma@unimus.ac.id\*

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

#### Abstrak

Enzim protease penting karena banyak di gunakan dalam bidang industri dan kesehatan sebagai katalisator, tetapi produsen masih bergantung dengan produk impor. Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi enzim protease adalah mencari sumber baru protease terutama dari kelompok bakteri yang di isolasi dari rusip udang windu. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri penghasil protease yang ditemukan pada rusip udang paska fermentasi 24 jam, dan untuk mengidentifikasi bakteri tersebut berdasarkan analisis sekuen gen 16S rRNA. Proses isolasi dan pemurnian koloni bakteri dilakukan pada media *nutrient agar* dengan teknik *spread*, uji produksi enzim protease dilakukan menggunakan media selektife *skim milk agar (SMA)*. Proses identifikasi molekuler dilakukan melalui analisis sekuen fragmen gen 16S rRNA yang di amplifikasi menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, dilanjutkan sekuensing gen 16S rRNA. Hasil isolat memiliki kemampuan menghasilkan proteolitik dengan diameter zona bening proteolitik 16 mm. Analisis kesamaan berdasarkan urutan gen 16S rRNA menunjukkan bahwa RS.Ab<sup>2</sup> memiliki tingkat homologi 99,93% dengan fragmen gen 16S rRNA dari bakteri *Staphylococcus epidermis* strain GTC 1228, sehingga di beri nama *Staphylococcus epidermis* IRSWD1 (*Indonesian Rusip Windu Day-1*). Dapat disimpulkan pada rusip udang windu pasca fermentasi 24 di temukan bakteri penghasil protease dengan kemampuan proteolitik terbaik adalah *S. hominis* IRSD1.

**Kata kunci:** Enzim protease, gen 16S rRNA, rusip udang windu, *Penaeus monodon*

#### Abstract

*Protease enzymes are important because many are used in industrial and health as catalysts, but manufacturers still rely on imported products. One attempt to increase the enzyme production of protease is to find a new source of protease especially of a bacterial group that is isolated from the Uadang of Windu Rusip. The purpose of this study was to obtain isolates of protease-producing bacteria found in the 24-hour fermented shrimp rusip, and to identify the bacteria based on 16S rRNA gene sequence analysis. Process of isolation and purification of bacterial colonies carried out on the media nutrient in order with the technique of spread, test production of protease enzyme is conducted using the media selektife skim milk (SMA). The molecular identification process was carried out through a sequence analysis of 16S rRNA genes fragment amplified using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method, followed by a 16S rRNA gene sequencing. Isolates results have the ability to produce proteolytic Degan diameter of a 16 mm proteolytic clear zone. Analysis of similarities based on the gene sequence 16S rRNA indicates that the RS. The AB2 has a homology level of 99,93% with a gene fragment of 16S rRNA from the Staphylococcus epidermis strain GTC 1228, so it is named Staphylococcus epidermis IRSWD1 (Indonesian Rusip Windu Day-1). It can be stored in post-fermented windu shrimp RUSIP 24 in the find of protease-producing bacteria with the best proteolytic ability is S. hominis IRSD1.*



*Keywords: Protease enzyme, 16S rRNA gene, shrimp rusip, Penaeus monodon*

## PENDAHULUAN

Industri enzim telah berkembang pesat dan menempati posisi penting dalam bidang industri. Enzim sebagai biokatalisator karena sifat efisien, selektif, mengkatalisis reaksi tanpa produk samping dan ramah lingkungan. Kemajuan bioteknologi, teknologi fermentasi, rekayasa genetika dan aplikasi enzim menyebabkan penggunaan enzim semakin luas khususnya dalam bidang industri dan kesehatan (Safitri dkk., 2018; Pamaya dkk., 2018; Lestari dkk., 2018).

Salah satu enzim yang sering digunakan dibidang industri dan kesehatan adalah enzim protease. Protease merupakan enzim yang berfungsi menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi oligopeptida dan asam amino. Sebagian besar Protease dalam bidang industri, farmasi, kulit, detergen, makanan dan pengolahan limbah. Protease yang digunakan di dalam industri jumlahnya sekitar 60% dari penjualan enzim di dunia (Fatoni, 2008). Protease memegang peran utama didalam banyak fungsi hayati, mulai dari tingkat sel, organ, sampai organisme, yaitu dalam melangsungkan reaksi metabolisme, protease juga berfungsi sebagai reaksi-reaksi yang menghasilkan sistem berantai (cascade) untuk menjaga normal homeostatis maupun kondisi patofisiologis abnormal serta proses kematian sel terencana (Baehakl, 2011).

Peminatan protease dalam bidang industri makin meningkat, namun produsen masih bergantung dengan bahan impor. Padahal Indonesia berpotensi untuk dapat memenuhi kebutuhan protease dalam bidang industri. Salah satu cara mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut perlu adanya usaha untuk memproduksi enzim protease (Naiola, 2002).

Sumber protease dapat di peroleh dari tumbuhan, hewan dan mikroba. Protease mikrobial dapat diklasifikasikan sebagai protease serin (E.C. 3.4.21), protease sulfhydryl (E.C.3.4.22), protease asam (E.C.3.4.23) dan metaloprotease (E.C.3.4.24). Beberapa mikroorganisme yang telah diketahui sebagai penghasil protease untuk aplikasi komersial adalah *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pyrococcus*, *Termonospora*, *Rhizopus*, *Mucor*, dan *Endothia* (Baehakl, 2011).

Enzim protease di peroleh dari isolasi bakteri proteolitik. Uji aktivitas proteolitik bakteri penghasil protease dilihat dengan mengisolasi bakteri tersebut menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA) Isolasi bakteri penghasil enzim protease ini dapat dilakukan pada sampel makanan olahan hasil fermentasi yang kaya protein seperti pada tempe gembus, kimchi, oncom, rusip dan produk fermentasi lainnya (Safitri, 2018).

Rusip terdiri dari ikan atau udang, garam, dan gula merah yang direndam. Proses fermentasinya spontan selama 7-14 hari secara anaerob. Rusip terutama diproduksi di Provinsi Bangka Belitung dan banyak digunakan sebagai bumbu atau dicampur dengan saus cabai dan dikonsumsi dengan nasi dan sayuran. Rusip terutama mengandung bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, dan terkadang di temukan juga *Staphylococcus aureus* pada rusip (Kusmarwati, 2014).

Hasil fermentasi oleh bakteri tersebut menghasilkan bakteriosin yang sensitif terhadap enzim proteolitik, yaitu proteinase K dan papain tetapi tidak terhadap RNase. Identifikasi enzim proteolitik dapat dilakukan secara molekuler untuk mendapatkan informasi genetika mengenai gen bakteri tersebut yang nantinya dapat dimanfaatkan dalam skala besar (Yusuf, 2011).

Salah satu metode deteksi molekuler berbasis DNA yang paling populer adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan metode enzimatik untuk amplifikasi



DNA dengan cara *in vitro* (Ethica dkk., 2017; Ethica dkk., 2013). Amplifikasi DNA pada PCR dapat dicapai bila menggunakan primer oligonukleotida. Identifikasi bakteri penghasil protease dapat menggunakan analisis PCR 16S rRNA. Keunggulan PCR dalam hal kecepatan, spesifisitas dan sensitifitasnya dalam mendeteksi suatu mikroorganisme menjadikan PCR sebagai “*method of choice*” (Safitri, 2018).

Penelitian Safitri (2018) terdapat isolat OC.24, yang memiliki aktivitas protease ditandai dengan terbentuknya zona bening berdiameter 85 mm di sekeliling koloni bakteri pada media Skim Milk Agar. Proses identifikasi molekuler fragmen gen 16S rRNA bakteri strain IROD3 hasil isolasi memiliki kemiripan 99% dengan fragmen gen 16S rRNA bakteri *Bacillus thuringiensis*. Dengan demikian strain TERI SID4 (Genbank kode akses: KX822158.1) teridentifikasi secara molekuler sebagai *Bacillus thuringiensis*.

Penelitian ini perlu dilakukan karena isolasi bakteri proteolitik pada rusip udang pasca fermentasi belum pernah dilaporkan. Sementara kebutuhan akan enzim protease terus meningkat, sehingga diperlukan sumber-sumber protease yang baru. Penelitian ini adalah penelitian tentang keanekaragaman bakteri proteolitik yang terdapat pada bahan makanan sumber protein hasil fermentasi yang ada di Indonesia. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi molekuler bakteri proteolitik pada rusip udang windu pasca fermentasi 24 jam berdasarkan gen 16S rRNA

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis deskriptif untuk mendapatkan data yang diperlukan. Penelitian ini dilaksanakan di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang, Jawa Tengah. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April – Agustus, Tahun 2019. Dalam penelitian digunakan sampel rusip udang pasca fermentasi 24 jam.

Sampel rusip udang pasca fermentasi 24 jam ditimbang sebanyak 1 gram, rusip udang diencerkan dengan NaCl fisiologis 9 ml sampai dengan pengenceran  $10^5$ , masing-masing pengenceran diratakan pada media Nutrient Agar menggunakan triangel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Proses penanaman pada media Nutrient Agar diulang sebanyak 3 kali hingga diperoleh isolat murni (Safitri, 2018).

Setelah didapat isolat tunggal dilakukan uji aktivitas proteolitik. Uji skrining ini dilakukan pada media Skim Milk Agar. Pada pengujian ini dilihat zona bening yang dihasilkan. Isolat yang menghasilkan zona bening di re-cultur ke media Nutrient Agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Baehaki, 2011).

Kemudian dilakukan isolasi DNA genom, isolat bakteri diambil secukupnya lalu dimasukkan dalam tabung mikrotube yang berisi 100 µl ddH<sub>2</sub>O dan 1 ml saponin 0,5% dalam PBS 1x, biakan bakteri kemudian di inkubasi selama 24 jam (suhu 4 °C), campuran yang sudah diinkubasi kemudian disentrifuse 12000 rpm selama 10 menit lalu dibuang supernatnya, 1 ml Phosphate Buffer Lysis dimasukkan ke campuran, kemudian campuran disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 12000 rpm lalu supernatnya dibuang, lalu ditambahkan 100 µl ddH<sub>2</sub>O dan 50 µl chelex 100 20% , kemudian dimasukkan ke dalam waterbath selama 10 menit , campuran divortex setiap 5 menit, campuran kemudian disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 12000 rpm, pellet yang terdapat disupernatan dasar tabung mikrotube dipindahkan kedalam microtube dan ditambahkan larutan TE sebanyak 100 µl, pellet DNA kemudian simpan dalam suhu -20 °C, didapat stok DNA untuk dilanjutkan ke tahap uji kuantifikasi DNA. Kemudian uji kuantitas ekstrak DNA dengan spektrofotometer NanoDrop, Ekstrak DNA dipipet 1 µl dan dibaca pada panjang gelombang λ 260 nm dan 280 nm (Ethica, 2018; Safitri, 2018).

DNA di amplifikasi dengan primer gen 16S rRNA (27F dan 1491R), dimasukkan ddH<sub>2</sub>O 6 µl, Promega Master Mix 12,5 µl, Primer forward 2 µl, Primer reverse 2 µl, DNA template, 2,5 µl ke dalam mikrotube, dimasukkan mikrotube berisi campuran ke alat PCR lalu di tunggu selama kurang lebih 2 jam (Darmawati dkk., 2014; Lestari dkk., 2018).

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni bakteri dari rusip udang

Kode	Bentuk	Warna	Ukuran	Tepi	Elevasi	Konsistensi
RS.KP	Bulat	Putih	Kecil	Rata/licin	Cembung	Kering
RS.KG1	Bulat	Kuning	Kecil	Rata/licin	Cembung	Berlendir
RS.KG2	Berserabut	Putih	Besar	Rata/licin	Cembung	Berlendir
RS.KAb <sup>2</sup>	Bulat	Abu-abu	Kecil	Rata/licin	Cembung	Berlendir

1. RS.KP (Rusip Koloni putih)
2. RS.KG1 (Rusip Koloni Kuning 1)
3. RS.KG2 (Rusip Koloni Kuning 2)
4. RS.Ab<sup>2</sup> (Rusip Koloni Abu-abu)

Setelah proses PCR selesai, hasil amplifikasi di lanjutkan ke proses elektroforesis, Loading dye dipipet sebanyak 4 µl, sampel ditambahkan sebanyak 6 µl kemudian larutan disuspensi, larutan dimasukkan ke dalam sumuran menggunakan mikropipet, marker dipipet sebanyak 5 µl lalu di masukkan ke dalam sumuran gel agarose, kemudian dihubungkan alat elektroforesis pada sumber listrik (power supply) tegangan 100 volt selama ± 1 jam. hasil running elektroforesis dibaca di UV Transluminator. Sekuen hasil sekuensing dianalisis secara bioinformatika dan dicocokkan hasilnya pada Gen bank [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) melalui program BLAST (Ethica dkk., 2018).

## HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian didapatkan total jumlah bakteri koloni yang diperoleh dari proses isolasi dari sampel rusip udang pasca fermentasi 24 jam adalah 4 koloni bakteri murni dengan morfologi koloni yang berbeda. Karakteristik morfologi masing – masing isolat dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.



A

B

Gambar 1. Karakteristik morfologi koloni bakteri dari rusip udang (A: Koloni bakteri rusip udang  $10^{-1}$ ; B: Koloni bakteri rusip udang  $10^3$ )

Karakterisasi morfologi untuk mengidentifikasi bakteri meliputi bentuk warna ukuran elevasi dan konsistensi. Koloni rata-rata yang diperoleh adalah bulat kecil dan bergerigi besar. Bentuk tepian koloni rata. Karakteristik elevasi semua bakteri cembung dengan

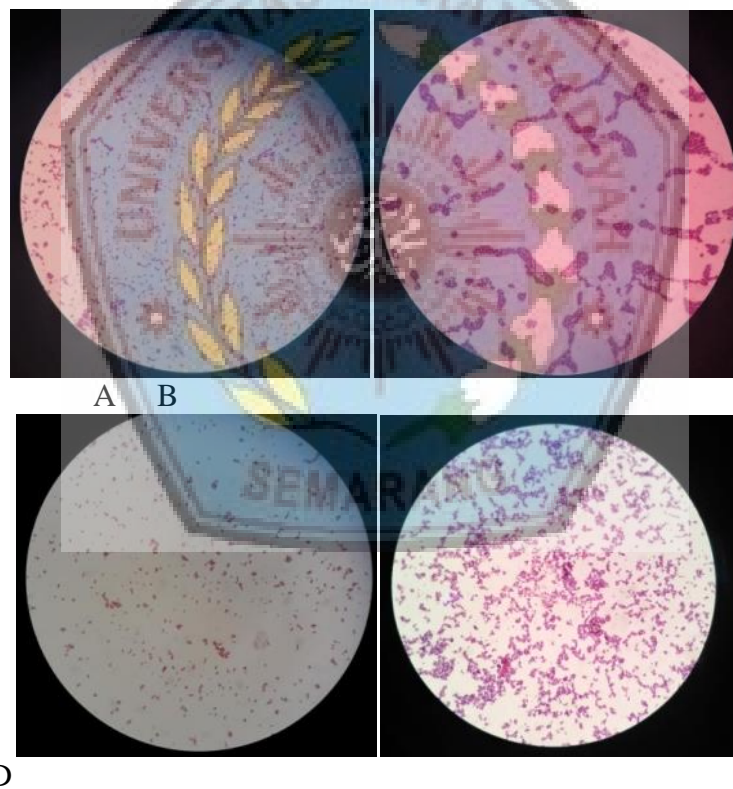


konsistensi berlendir dan kering. Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 1 dapat diketahui bahwa mayoritas bentuk koloni yang ditemukan adalah bulat, dari segi karakteristik warna, koloni yang berwarna terdapat 2 koloni putih, 1 kuning dan 1 abu-abu. Sedangkan berdasarkan karakteristik ukuran ditemukan rata koloni memiliki ukuran yang sama yaitu kecil. Berdasarkan karakteristik tepi koloni diketahui bahwa tepi rata/licin lebih mendominasi dibandingkan tepi koloni yang tidak rata. Berdasarkan karakteristik elevasi koloni, semua koloni mempunyai elevasi cembung. Sedangkan berdasarkan konsistensi, 3 koloni mempunyai konsistensi berlendir dan 1 lainnya mempunyai konsistensi kering.

Koloni bakteri yang ditemukan pada isolasi bakteri pada sampel rusip udang pasca fermentasi 24 jam diidentifikasi karakteristik dan jenisnya berdasarkan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2. Karakteristik isolat bakteri pada pewarnaan garam

Kode sampel	Karakteristik koloni pada pewarnaan gram
RS.KP	Negatif (-) coccus
RS.KG1	Negatif (-) coccus
RS.KG2	Negatif (-) coccus
RS.KAb <sup>2</sup>	Gram (+) coccus



Gambar 2. Karakteristik koloni bakteri pada pewarnaan garam (A) Hasil pewarnaan Gram dari isolat bakteri RS.KP ; (B) Hasil pewarnaan Gram dari isolat bakteri RS.KG1; (C) Hasil pewarnaan Gram dari isolat bakteri RS.KG2; (D) Hasil pewarnaan Gram dari isolat bakteri RS.Ab<sup>2</sup>.

Selain dibedakan secara morfologinya, bakteri juga diidentifikasi berdasarkan jenisnya dalam pewarnaan Gram. Bakteri digolongkan berdasarkan dua jenis yaitu bakteri Gram positif (+) dan bakteri Gram negatif (-). Pewarnaan ini didasarkan pada tebal atau

tipisnya lapisan peptidoglikan pada dinding sel dan banyak sedikitnya lapisan lemak pada membran sel bakteri.

Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan membran sel selapis dan menahan iodine. Bakteri Gram negatif mengandung lemak dalam persentasi lebih tinggi dan dinding selnya tipis berada di antara dua lapis membran sel dan menahan safranin (Khotimah, 2013). Pewarnaan Gram dilakukan dari 4 isolat bakteri dan didapatkan, 3 bakteri bersifat gram (-) dan 1 bakteri bersifat gram (+) dengan bentuk yang seragam yaitu kokus.

Isolat bakteri murni yang telah didapatkan kemudian dilakukan uji penghasilan enzim protease untuk mengetahui apakah isolat bakteri tersebut merupakan kelompok proteolitik atau penghasil enzim protease, dari ke 4 isolat hanya 1 isolat potensial yang menunjukkan adanya aktifitas enzim protease dengan diameter yang bagus yaitu isolat RS.Ab<sup>2</sup>. Hasil uji enzimatis isolat bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Uji enzimatis pada media susu skim (A: Adanya aktifitas enzim protease; B: Tidak ada aktifitas enzim protease)

Bakteri yang menghasilkan enzim protease akan mendegradasi protein sehingga menimbulkan zona bening pada media susu skim, dari 4 koloni murni hanya 1 koloni saja yang menunjukkan adanya aktifitas enzim protease yang potensial dan membentuk zona bening berdiameter 16 mm dengan kode sampel RS.Ab<sup>2</sup>. Zona bening bakteri disebabkan adanya aktivitas enzim proteolitik ekstraseluler yang dihasilkan bakteri dalam menghidrolisis kasein yang berada didalam susu skim pada media. Zona bening tersebut merupakan indikator bahwa isolat bakteri mampu memanfaatkan protein pada media sebagai sumber nutrisinya (Asril, 2019). Isolasi DNA bakteri merupakan tahap ketika satu bakteri terpilih hasil pemeriksaan isolasi dan identifikasi bakteri diekstrak atau diisolasi DNA genomnya untuk mendapatkan DNA murni. Hasil ekstraksi ini selanjutnya dilakukan pengukuran kemurnian ekstrak DNA bakteri menggunakan spektrofotometer Nanodrop. Hasil uji kemurnian ekstrak DNA dapat dilihat pada Tabel 3.

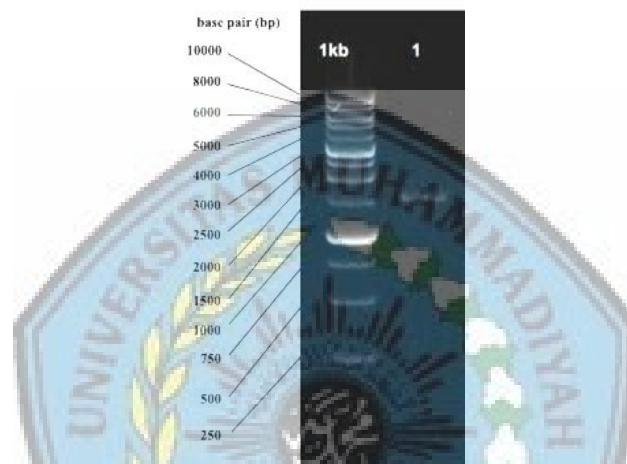
Tabel 3. Hasil kuantifikasi nilai absorbansi isolat RS.Ab<sup>2</sup>

Kode Sampel	Nucleic Acid Conc	A260	A280	269/280
RS.Ab <sup>2</sup>	6.5 ng/ $\mu$ l	0.13	0.061	2,14

Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa sampel RS.Ab<sup>2</sup> mempunyai konsentrasi DNA sebesar 6.5 ng/ $\mu$ l. Sedangkan hasil uji kemurniaan DNA pada panjang gelombang 260/280 adalah 2,14. Nilai ini jauh berada diatas nilai standar yaitu antara rasio 1,8-2,0. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh sampel DNA yang tidak murni disebabkan oleh adanya sisa-sisa etanol atau adanya sisa kandungan metabolit sekunder bakteri yang diekstrak. Namun pada hasil dengan rasio di atas 2,0, selama visualisasi ekstrak DNA masih

menunjukkan pita yang tebal , maka isolat DNA dapat digunakan sebagai templat PCR (Harun, 2018).

Produk amplifikasi fragmen DNA 16S rRNA pada PCR konvensional divisualisasikan dan kualitasnya divisualisasikan menggunakan gel elektroforesis. Hasil gel elektroforesis produk amplifikasi fragmen gen 16S rRNA bakteri isolat RS.Ab<sup>2</sup> dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4. Pita DNA isolat RS.KAb<sup>2</sup>

Menurut Gambar 4. dapat diketahui bahwa sampel 1 yaitu isolat RS.Ab<sup>2</sup> menghasilkan pita tunggal dengan ukuran sekitar 1500 bp (*base pair*) sesuai dengan nilai yang ditunjukkan oleh marker DNA. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran yang diharapkan dari gen-gen 16S rRNA bakteri yaitu 1500 bp. Penentuan urutan DNA (sekuensing) dilakukan melalui jasa komersial 1 st Base DNA Sequencing, Jakarta. Pemeriksaan hasil sekuens dilakukan dengan menggunakan MEGA 7.0, kemudian hasil dimasukkan ke program BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool – for nucleotide) melalui website NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Sekuen yang diperoleh dari 1st Base DNA Sequencing ditampilkan pada lampiran 2. Urutan basa nitrogen yang diperoleh oleh sekuensing dengan program BLAST menunjukkan kemiripan 99% dengan fragmen gen 16S rRNA isolat bakteri *Staphylococcus epidermis* strain GTC 1228. Sehingga di beri nama *Staphylococcus epidermis* IRSWD1 (*Indonesian Rusip Windu Day-1*). Nilai *bootstrap* menunjukkan kekerabatan yang dekat apabila memiliki nilai yang tinggi, yaitu lebih dari 70%. Bahwa hasil identifikasi bakteri berdasarkan sekuen gen 16S rRNA dapat diterima sebagai satu genus bila memiliki homologi lebih dari 97% dan sebagai satu spesies jika homologinya lebih dari 99% sementara kurang dari 97% dinyatakan similaritas (Widyadnyana, 2015).

Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus epidermis* adalah sebagai berikut.

Kingdom : *Bacteria*  
Phylum : *Firmicutes*  
Class : *Bacil*



Order : *Bacillales*  
Family : *Staphylococcaceae*  
Species : *S. epidermis*

Bakteri *S. epidermis* ditemukan pada rusip pasca fermentasi 24 jam. Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya kontaminasi akibat pengolahan dengan tangan pada proses pembuatan rusip, sehingga terjadi kontak kulit manusia dengan rusip. Hal ini sejalan dengan kenyataan bahwa saat ini pembuatan rusip masih banyak dilakukan secara tradisional dan manual di rumah-rumah sebagai bagian dari industri rumah tangga. Dengan kemampuan menghasilkan zona bening protease yang telah ditunjukkan dan dengan memperhatikan sifat bahayanya, *Staphylococcus epidermis* strain GTC 1228 berpotensi menjadi sumber protease non pangan, yang diharapkan dapat dieksplorasi dalam skala yang lebih besar.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa. Hasil isolasi koloni bakteri dari sampel rusip udang pasca fermentasi 24 jam adalah 4 isolat dengan kode RS.KP, RS.KG1, RS.KG2, dan RS.Ab<sup>2</sup>. Dari 4 isolat hanya RS.Ab<sup>2</sup> mempunyai aktivitas proteolitik yang mampu mendegradasi susu skim dengan diameter zona bening 16 mm. Isolat RS.Ab<sup>2</sup> mempunyai ukuran basa nukleotida sebesar 1500 bp. DNA ekstraksi dari Isolat RS.Ab<sup>2</sup> menunjukkan tingkat kesamaan 99,93% dengan urutan nukleotida gen 16S rRNA bakteri *Staphylococcus epidermis* strain GTC 1228.

## SARAN

Perlu dilakukan uji patogenitas dari bakteri yang ditemukan dan Perlu dilakukan pula karakterisasi enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang ditemukan.

## REFERENSI

- Asril, M. (2019). Isolasi dan Seleksi Bakteri Proteolitik Asal Limbah Cairan Tahu Sebagai Dasar Penentuan Agen Pembuatan Biofertilizer. *IO*, 5(2), 1–14.
- Baehakl, A. (2011). Isolasi dan Karakteristik Protease dari Bakteri Tanah Rawah Indralaya Sumatra Selatan, *XXII* (1), 1–6.
- Darmawati, S. dkk., 2014. Phylogenetic relationship of Gram Negative Bacteria of Enterobacteriaceae Family in the Positive Widal Blood Cultures based on 16S rRNA Gene Sequences. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 19(I), pp.64–70
- Ethica, S.N., Oedjijono, O., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2018. Genotypic and Phenotypic Characterization of *Alcaligenes javaensis* JG3 Potential as an Effective Biodegrader. *Biotropia -The Southeast Asian Journal of Tropical Biology*, 25(1), pp.1-10.
- Ethica, S.N., Semiarti, E., Widada, J., Oedjijono, O. and Joko Raharjo, T., 2017. Characterization of moaC and a nontarget gene fragments of food-borne pathogen *Alcaligenes* sp. JG3 using degenerate colony and arbitrary PCRs. *Journal of food safety*, 37(4), p.e12345.
- Ethica, S.N., Nataningtyas, D.R., Lestari, P., Istini, I., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2013. Comparative evaluation of conventional versus rapid methods for amplifiable genomic DNA isolation of cultured *Azospirillum* sp. JG3. *Indonesian Journal of Chemistry*, 13(3), pp.248-253.
- Fatoni, A. (2008). Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Nature Indonesia*, 10(55), 83–88.
- Gaffar, Shabarni., 2007. Buku Ajar Biologi Molekul. Bandung Jurusan Kimia.





FMIPAUNPAD.

- Harun, A. (2018). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Proteasi *Staphylococcus hominis* pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 120 Jam. *Edusainstek, Seminar Nasional*, (2011), 23–30.  
<https://doi.org/10.22373/ekw.v5i2.4356>
- Khotimah, S. (2013). Kepadatan Bakteri Coliform di Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1), 339–349.
- Koesoemawardani, D. (2015). Perubahan Sifat Mikrobiologi dan Kimia Rusip dengan Perbedaan Waktu Penambahan Gula Aren Cair, 2–3.
- Kusmarwati, A. (2014). Production and characterization of bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from rusip. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 8(1), 13. <https://doi.org/10.15578/squalen.v8i1.77>
- Lestari, D.A., Muchlissin, S.I., Mukaromah, A.H., Darmawati, S. and Ethica, S.N., 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus Megaterium* IROD3 Dari Oncom Merah Pasca Fermentasi 72 Jam. In *Prosiding Seminar Nasional & Internasional* (Vol. 1, No. 1).
- Naiola, E. (2002). Isolasi, Seleksi dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Berita Biologi*, 6(3), 467–473.
- Nurrahman, M. (2015). Ekstraksi Asama Deoksiribonukleat Dari Sampel Jaringan Otot. *Oseana*, XL, 1–9.
- Pamaya, D., Muchlissin, S.I., Maharani, E.T.W., Darmawati, S. and Ethica, S.N., 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus Amyloliquefaciens* Irod2 Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 48 Jam. In *Prosiding Seminar Nasional & Internasional* (Vol. 1, No. 1).
- Raya, L. (2006). Gambaran Patologi Insang dan Kulit Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fab.) yang Terserang Ciliata Patogen dari Famili Vorticellidae (*Zoothomnium* Sp.). Skripsi.
- Rinanda, T. (2011). Analisis sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jks*, 3, 172–177.
- Safitri, R., Muchlissin, S.I., Mukaromah, A.H., Darmawati, S. and Ethica, S.N., 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus Thuringiensis* Irodi Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 24 Jam. In *Prosiding Seminar Nasional & Internasional* (Vol. 1, No. 1).
- Sukartiningrum, S. D. (2012). Penentuan Pohon Filogenetik Bakteri Xilanolitik Sistem Abdominal Rayap Tanah Berdasarkan 16S rRNA. Skripsi.
- Widyadnyana, D. G. A. (2015). Identifikasi Bakteri Asam Laktat Isolat 9A dari Kolon Sapi Bali sebagai Probiotik melalui Analisis Gen 16S rRNA, 33(2), 56–61.
- Wijaya, H. (2018). Deteksi Daging Babi pada Tiga Merk Kernet Sapi Berdasarkan Gen Cytochrome b dengan Metode PCR. *Skripsi*, 1, 157–162.
- Yusuf, K. Z. (2011). Polymerase Chain Reaktion (PCR), 20(5), 110–113. Retrieve from <http://ci.nii.ac.jp/naid/40018819470/>