



Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Proteolitik *Staphylococcus cohnii* Strain IRLV5 pada Rusip Udang Putih (*Litopeaneus Vannamei*) Pasca Fermentasi 120 Jam Berdasarkan Analisis Gen 16s rRNA

Isolation and Molecular Identification of Proteolytic Staphylococcus cohnii Strain IRLV5 in White Shrimps (Litopeaneus vannamei) Rusip After 120 Hours Fermentation Based on 16S rRNA Gene Analysis

**Nur Annisa Japri¹, Ayu Rahmawati Sulistyanningtyas², Sri Darmawati³,
Stalis Norma Ethica³**

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

²Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

³Program Studi Magister Sains Laboratorium Medis Program Studi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

Corresponding author: nur_annisa@poltekkes-mks.ac.id

Riwayat Artikel: Dikirim; Diterima; Diterbitkan

Abstrak

Pemanfaatan enzim protease semakin pesat dan menempati posisi penting di berbagai bidang industri. Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi enzim protease adalah dengan mencari sumber baru penghasil enzim protease, khususnya dari kelompok bakteri. Rusip udang putih mengandung protein yang cukup tinggi, sehingga diperkirakan terdapat bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat bakteri penghasil protease yang terdapat pada rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam dan mengidentifikasi bakteri penghasil protease yang diperoleh berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Proses isolasi dan purifikasi koloni bakteri dilakukan pada media *Nutrient Agar*, sedangkan uji produksi enzim protease dilakukan pada media *Skim Milk Agar*. Proses identifikasi molekuler berdasarkan analisis gen 16S rRNA dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dan dilanjutkan dengan sekuensing. Dari proses isolasi diperoleh hasil berupa satu isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik yang ditunjukkan oleh adanya zona bening pada media SMA yang memiliki diameter sebesar 10,00 mm. Berdasarkan analisis sekuen gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat bakteri proteolitik pada penelitian ini, yaitu isolat RLV.5.2 yang memiliki kemiripan 99% dengan fragmen gen 16S rRNA dari *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* strain CK27 (Genbank kode akses: NR_037046.1). Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat RLV.5.2 berpotensi sebagai penghasil enzim proteolitik dan diberi nama *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* IRLV5 (*Indonesian Rusip Litopeaneus vannamei* Day-5)

Kata kunci: Enzim protease, gen 16S rRNA, rusip udang putih

Abstract

The use of protease enzymes is increasingly fast and important in various fields of industry. One effort to increase the production of protease enzymes are to look for new sources of it, specifically from group of bacteria. Rusip white shrimp protein that is high enough, it is estimated that there are bacteria which produce proteolytic enzyme protease. The purpose of this study is to obtain protease-producing bacterial isolates found in the rusip of white shrimps after 120-h fermentation and to manage protease-producing bacteria obtained based on 16S rRNA gene analysis. The process of isolation and purification of bacterial colonies was carried out on Agar Nutrient media, whereas the test of protease enzymes production was carried out on Skim Milk Agar (SMA) media. The molecular identification process based on 16S rRNA gene analysis was carried out by the



Polymerase Chain Reaction (PCR) method and carried out by the sequence. From the isolation process, the results consist of one bacterial isolate that has proteolytic activity associated with the presence of a clear zone on the SMA media which has a diameter of 10.00 mm. Based on 16S rRNA gene sequence analysis showed proteolytic bacterial isolates from this study, namely isolate RLV.5.2 which has 99% similarity with 16S rRNA gene fragments of *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* CK27 strain (Genbank kode akses: NR_037046.1access options). Based on the results of this study it can be concluded that the isolate RLV.5.2 was proposed as a producer of proteolytic enzymes and named *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* IRLV5 (*Indonesian Rusip Litopenaeus vannamei* Day-5)

Keywords: *Protease enzymes, 16S rRNA gene, white shrimps rusip*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan enzim sudah semakin pesat dan menempati posisi penting di berbagai bidang industri. Enzim memiliki sifat biokatalisator, selektif, efisien dan mengkatalisis reaksi tanpa produk samping dan ramah lingkungan menjadi alasan pentingnya enzim dalam perkembangan industri (Putri, 2012). Saat ini produksi dan perdagangan enzim didominasi oleh kelompok enzim hidrolitik, seperti amilase, katalase, lipase dan protease. Enzim protease digunakan sebagai bahan dalam industri pangan seperti industri bir, keju dan daging sedangkan di bidang non pangan enzim ini dimanfaatkan dalam pembuatan detergen, fotografi, farmasi dan tekstil. Enzim protease digunakan dalam bidang kesehatan untuk pengobatan radang, tumor, kelainan darah dan pengaturan kekebalan (Rahayu, 2014). Pentingnya industri enzim ini ditunjukkan dengan besarnya persentase kebutuhan protease yang mencapai 60-65% dari pasar dunia enzim. (Melliawati, 2016). Kebutuhan enzim protease di Indonesia terus meningkat. Namun sumber enzim protease masih tergantung dari produksi impor (Naiola dan Widhyastuti, 2002). Kondisi ini tentunya akan sangat merugikan jika ditinjau dari segi ekonomi. Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan sumber alam hayati, terutama mikroba penghasil enzim, termasuk enzim protease. Oleh karena itu, pencarian mikroorganisme penghasil protease perlu dilakukan di Indonesia Untuk mendapatkan produksi enzim yang banyak maka harus digunakan mikroorganisme dengan kemampuan menghasilkan protease yang tinggi. Salah satu jenis mikroorganisme penghasil protease adalah bakteri. (Hanafiarti, 2015).

Bakteri penghasil protease didapatkan melalui isolasi bakteri proteolitik menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA). Bakteri proteolitik biasanya banyak ditemukan pada makanan yang mengandung protein. Sampel olahan makanan hasil fermentasi yang kaya protein adalah tempe gembus, oncom, rusip udang dan produk fermentasi lainnya.

Udang merupakan salah satu produk perikanan yang digemari oleh masyarakat. Udang mempunyai nilai gizi yang cukup baik dengan kandungan protein yang cukup tinggi, yaitu sebesar 20,3 g (Ibrahim, 2014). Salah satu udang yang banyak dibudidayakan dan dikonsumsi masyarakat adalah udang putih (*Litopenaeus vannamei*). Udang putih biasanya diolah menjadi rusip dengan cara difermentasikan menggunakan garam koser dan gula aren. Olahan fermentasi ini dikenal sebagai rusip udang. Rusip udang putih mengandung protein yang cukup tinggi, sehingga diperkirakan terdapat bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease.

Metode deteksi secara molekuler berbasis DNA yang paling banyak dilakukan adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR adalah suatu teknik untuk memperbanyak fragmen DNA tertentu secara eksponensial menggunakan enzim secara *in vitro* (Darmawati, 2019). Analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri penghasil enzim protease adalah analisis PCR gen 16S rRNA. Identifikasi dengan analisis PCR gen 16S rRNA dinilai dapat memberikan hasil yang akurat dan hasilnya dapat digolongkan pada genus atau spesies tertentu (Sihombing, 2018).



Penelitian yang dilakukan oleh Hanafiarti (2015) mengenai isolasi dan identifikasi bakteri penghasil protease dari terasi udang rebon (*Mysis relicta*), diketahui bahwa 3 dari 8 isolat menunjukkan aktivitas proteolitik yang cukup tinggi (Hanafiarti, 2015). Namun, dalam penelitian tersebut belum dilakukan identifikasi bakteri hasil isolasi sehingga belum diketahui identitas bakteri yang diperoleh.

Penelitian mengenai isolasi bakteri penghasil enzim protease pada rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu penelitian mengenai isolasi dan identifikasi molekuler bakteri proteolitik pada rusip udang pasca fermentasi 120 jam berdasarkan gen 16S rRNA penting untuk dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh sumber enzim protease baru yang berasal dari kelompok bakteri.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis penelitian deskriptif eksperimental untuk mendapatkan data yang diperlukan dengan objek penelitian yaitu bakteri penghasil enzim protease yang terdapat pada rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Dipeonegoro pada bulan April sampai September 2019.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, tabung reaksi, rak tabung, ose, *vortex*, pipet tetes, cawan petri, inkubator, kaca objek, gelas ukur, *beaker glass*, spatula, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, tabung ependorf, sentrifugator, *waterbath*, mikrotube, spektrofotometer, mesin PCR (*thermocycler*), *microwave*, cetakan gel agarosa, sisiran, *power supply*, elektroforesis *chamber*, dan UV transiluminator. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri yang berasal dari rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam, kapas, tisu, plastik dan plastik *wrap*, media *Brain Heart Infusion* (BHI), *Nutrient Agar* (NA), *Carbol Gentian Violet* (CGV), garam Iodin, alkohol 96%, safranin 1%, *Skim Milk Agar* (SMA), NaCl fisiologis, *aquadest* steril, *buffer lysis*, resin Chelex 100 (Bio Rad), *My Taq Red Mix*, *unisafe acid stain*, TE Buffer, etanol 75%, ddH₂O, Primer 27F dan primer 1492R 16S rRNA, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), *marker* 1500bp, dan agarosa. Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan data sekuensing yang berasal dari perusahaan komersial *Genetika Science*.

HASIL

Hasil Fermentasi Sampel

Rusip udang putih yang telah ditambahkan gula aren dan garam koser disimpan dalam wadah tertutup selama 120 jam. Hasil dari pasca fermentasi rusip udang putih selama 120 jam adalah bau rusip udang putih seperti bau khas asam dan air fermentasi berwarna kecoklatan agak keruh.



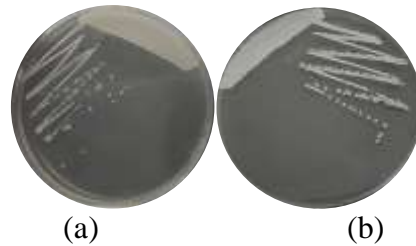
Gambar 1. Rusip udang putih (a) Sebelum fermentasi (b) Pasca fermentasi 120 jam

Hasil Isolasi dan Identifikasi Koloni Bakteri

Berdasarkan nisolasi rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam ditemukan total koloni sebanyak 2 koloni, yaitu koloni RLV.5.1 (Rusip *Litopeaneus vannamei* hari-5 koloni-



1) dan koloni RLV.5.2 (Rusip *Litopeaneus vannamei* hari-5 koloni-2. Koloni RLV.5.1 (Rusip *Litopeaneus vannamei* Hari-5 Koloni-1) berbentuk bulat, warna putih, ukuran kecil, tepi koloni rata/licin, elevasi cembung, konsistensi *smooth* dan bersifat kering. Koloni RLV.5.2 (Rusip *Litopeaneus vannamei* Hari-5 Koloni-2) berbentuk bulat, warna putih, ukuran sedang, tepi koloni rata/licin, elevasi cembung, konsistensi *smooth* dan bersifat kering. Perbedaan antara koloni RLV.5.1 dan RLV.5.2 adalah hanya dari ukuran koloni. Koloni RLV.5.1 dan RLV.5.2 dipurifikasi 3 kali untuk mendapatkan isolat murni bakteri. Hasil purifikasi koloni RLV.5.1 dan RLV.5.2 ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil purifikasi koloni-koloni dengan morfologi yang berbeda. (a) Koloni RLV.5.1 (b) Koloni RLV.5.2

Hasil Identifikasi Koloni Bakteri dengan Pewarnaan Gram

Karakteristik isolat murni bakteri dengan morfologi yang berbeda dari hasil purifikasi koloni diidentifikasi secara mikroskopik berdasarkan pewarnaan Gram. Hasil dari pewarnaan Gram dapat dilihat pada Tabel 1 berikut

Tabel 1. Hasil Pewarnaan Gram

Kode sampel	Karakteristik Koloni pada Pewarnaan Gram
RLV.5.1	Gram (+) <i>coccus</i> (+)
RLV.5.2	Gram (+) <i>coccus</i> (+)

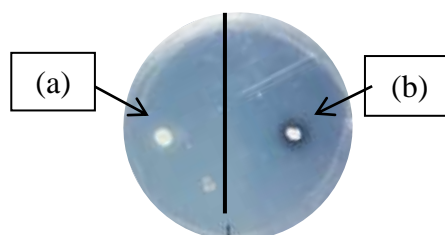


Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram. (a) Koloni RLV.5.1 (b) Koloni RLV.5.2

Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 3 diketahui bahwa karakteristik semua koloni sama, yaitu bakteri jenis Gram-positif berbentuk kokus. Berdasarkan Gambar 11, isolat RLV.5.1 memiliki susunan soliter sedangkan RLV.5.2 memiliki susunan bergerombol. Isolat RLV.5.1 dan RLV.5.2 diuji produksi enzim proteasenya menggunakan media susu skim.

Hasil Uji Penghasilan Enzim Protease

Hasil uji penghasilan enzim protease dari isolat RLV.5.1 dan RLV.5.2 adalah sebagai berikut :



Gambar 4. Hasil uji penghasilan enzim protease (a) Isolat RLV.5.1 (b) Isolat RLV.5.2

Sifat proteolitik bakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media susu skim. Berdasarkan Gambar 4, isolat RLV.5.1 tidak mampu menghasilkan zona bening pada media susu skim sehingga RLV.5.1 tidak termasuk bakteri penghasil enzim protease. Isolat RLV.5.2 mampu menghasilkan zona bening pada media susu skim sehingga RLV.5.2 termasuk bakteri penghasil enzim protease. Pengujian penghasilan enzim protease isolat RLV.5.2 dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil uji penghasilan enzim protease isolat RLV.5.2

Berdasarkan Gambar 5, isolat RLV.5.2 dapat menghasilkan enzim protease. Diameter zona bening diukur menggunakan jangka sorong. Ukuran diameter zona bening isolat bakteri RLV.5.2 adalah 10 mm. Ukuran diameter zona bening tersebut termasuk kecil namun sudah dapat membuktikan bahwa isolat RLV.5.2 adalah bakteri penghasil enzim protease.

Hasil Uji Kuantifikasi Nilai Absorbansi DNA Bakteri

Ekstrak DNA bakteri proteolitik diukur nilai absorbansi DNA bakteri menggunakan spektrofotometer Nanodrop. Hasil uji kuantifikasi nilai absorbansi DNA bakteri proteolitik adalah sebagai berikut.

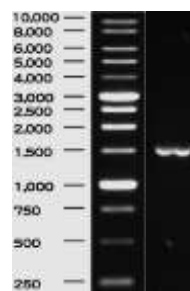
Tabel 2. Hasil uji kuantifikasi nilai absorbansi DNA bakteri

Sample ID	Konsentrasi Asam Nukleat	260/280	260/230
NJ	3,9 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	1,97	0,24

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa ekstrak DNA bakteri proteolitik mempunyai konsentrasi DNA sebesar 3,9 $\text{ng}/\mu\text{l}$. Hasil uji kuantifikasi DNA pada panjang gelombang 260/280 adalah 1,97.

Hasil Amplifikasi Gen 16S rRNA

Hasil amplifikasi gen 16S rRNA dari ekstrak DNA divisualisasi melalui gel elektroforesis yang dapat dilihat pada Gambar 6.



(a) (b)



Gambar 6. Hasil Gel Elektroforesis amplifikasi gen 16S rRNA. (a) Marker (b) Isolat RLV5.2.

Hasil amplifikasi gen 16S rRNA (Gambar 6) menunjukkan pita DNA marker dengan ukuran ± 1500 bp sejajar dengan produk amplifikasi gen 16S rRNA isolat RLV.5.2. Berdasarkan hasil yang didapatkan maka dapat dikatakan gen 16S rRNA isolat bakteri dapat diamplifikasi.

Hasil Sekuensing Gen 16S rRNA

Hasil sekuensing DNA bakteri dianalisis dan dicocokkan dengan data yang tersedia di *Gen Bank Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada NCBI dan diperoleh informasi bahwa sekuen DNA bakteri isolat RLV.5.2 mempunyai kemiripan 99% dengan fragmen gen 16S *ribosomal RNA* isolat bakteri *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus strain CK27* (Genbank kode akses: NR_037046.1). Dengan demikian isolat RLV.5.2 diberi nama *Staphylococcus cohnii* IRLV5 (IRLV5= *Indonesian Rusip Litopeaneus vannamei Day-5*).

DISKUSI

Penelitian ini diawali dengan fermentasi sampel rusip udang putih selama 120 jam dilanjutkan pengenceran bertingkat menggunakan NaCl fisiologis. Dari masing-masing tabung hasil pengenceran diambil satu mata ose lalu ditanam pada media *Nutrient Agar* (NA) (Lestari dkk., 2018; Inayatul dkk., 2018). Berdasarkan pengenceran yang telah dilakukan, koloni bakteri pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} tidak ada yang terpisah, sedangkan pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} didapatkan koloni yang terpisah sehingga pengamatan morfologi koloni yang berbeda dapat dilakukan.

Pengamatan morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media NA meliputi warna koloni, bentuk, tepi, elevasi, ukuran, sifat dan konsistensi (Putri, 2012). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh 2 koloni terpisah yang memiliki karakteristik morfologi yang berbeda. Perbedaan kedua koloni tersebut hanya terdapat pada ukuran koloni. Semua koloni yang ditemukan berbentuk bulat dan berwarna putih. Dari segi ukuran, ditemukan koloni berukuran kecil dan koloni berukuran sedang. Berdasarkan tepi, semua koloni yang ditemukan mempunyai tepi yang rata. Berdasarkan elevasi, ditemukan koloni dengan permukaan yang cembung dengan konsistensi *smooth*. Sedangkan berdasarkan sifat, semua koloni yang ditemukan mempunyai sifat kering.

Selain pengamatan morfologi secara visual terhadap koloni bakteri, bentuk sel bakteri dapat diamati secara mikroskopis melalui pewarnaan Gram. Selain untuk mengamati bentuk sel bakteri, pewarnaan Gram juga dapat digunakan untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar yaitu Gram-positif dan Gram-negatif berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram-positif tersusun dari 60-100% peptidoglikan. Dinding sel bakteri Gram-negatif mengandung 10-20% peptidoglikan (Fifendy, 2017). Berdasarkan pewarnaan Gram yang telah dilakukan, kedua koloni bakteri yang ditemukan adalah bakteri Gram-positif berbentuk kokus. Susunan koloni RLV.5.1 berbentuk soliter sedangkan susunan koloni RLV.5.2 berbentuk bergerombol.

Satu isolat diuji penghasilan enzim proteasenya menggunakan media susu skim. Enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri menyebabkan kasein terhidrolisis menjadi asam amino yang larut sehingga warna putih akan menghilang dan terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri (Choirunnisa dkk, 2017). Isolat RLV.5.2 menghasilkan zona bening dengan diameter 10 mm. Penelitian Borla (2010) menyatakan zona bening dengan diameter 12 mm atau lebih pada media susu skim menandakan adanya bakteri penghasil enzim protease (Borla dkk, 2010). Namun, menurut Muchtadi dan Betty (1983) kemampuan bakteri dalam menguraikan protein berbeda antara 1 spesies dengan yang lainnya (Muchtadi dan Betty, 1983, Paskandani dkk., 2014). Berdasarkan hasil yang didapatkan maka dapat dikatakan isolat RLV.5.2 merupakan bakteri proteolitik karena dapat membentuk zona bening pada



media susu skim.

Hasil isolasi DNA genom kemudian diuji kuantifikasi nilai absorbannya menggunakan spektrofotometer Nano drop dengan panjang gelombang 260 atau 280 nm. Kemurnian DNA dikatakan tinggi jika nilai absorbansinya pada 260 nm atau 280 nm adalah 1,8. Nilai absorbansi yang kurang dari 1,8 menandakan masih adanya kontaminasi protein pada DNA. Nilai absorbansi yang lebih dari 1,8 menandakan adanya kontaminasi RNA pada DNA (Darmawati, 2019). Pada penelitian ini didapatkan hasil 1,97 ng/ μ l sehingga dapat dikatakan ekstrak DNA yang didapatkan mempunyai kemungkinan masih terkontaminasi RNA. Untuk menghilangkan kontaminasi RNA, dapat ditambahkan enzim RNase.

Ekstrak DNA genom diamplifikasi menggunakan PCR berdasarkan gen 16S rRNA. Hasil amplifikasi PCR dari ekstrak DNA divisualisasikan menggunakan gel elektroforesis untuk melihat pita yang terbentuk (Gambar 6) (Ethica dkk., 2013). Hasil amplifikasi gen 16S rRNA menunjukkan pita DNA marker dengan ukuran \pm 1500 bp sejajar dengan produk amplifikasi gen 16S rRNA ekstrak DNA RLV.5.2. Secara universal primer 16S rRNA yang digunakan dalam amplifikasi PCR berukuran 1500 bp dapat mengamplifikasi daerah 16S rRNA dari seluruh bakteri (Rinanda, 2011). Berdasarkan hasil yang didapatkan maka dapat dikatakan gen 16S rRNA isolat bakteri dapat diamplifikasi dan primer yang digunakan sudah sesuai. Pita yang didapatkan terlihat jelas tanpa adanya *smear*. Menurut Mulyani (2011), pita yang *smear* dapat disebabkan karena adanya sisa-sisa larutan yang masih terbawa selama proses isolasi atau juga karena masih terdapatnya kontaminan seperti protein atau RNA (Mulyani dkk, 2011, Ethica, 2014). Berdasarkan hasil yang didapatkan dapat dikatakan ekstrak DNA bakteri tidak terkontaminasi protein atau RNA.

Hasil amplifikasi PCR ini kemudian dikirim ke *Genetika Science*, Singapura untuk disekuensing. Hasil sekuensing ini berupa sekuen atau urutan basa nitrogen dari sampel ekstrak DNA tersebut. Urutan basa nitrogen yang didapatkan lalu dicocokkan dengan data yang tersedia di *Gen Bank Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada NCBI dan diperoleh informasi bahwa sekuen DNA bakteri isolat RLV.5.2 mempunyai kemiripan 99,93% dengan fragmen gen 16S *ribosomal* RNA isolat bakteri *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* strain CK27 (Genbank kode akses: NR_037046.1). Dengan demikian isolat rlv.5.2 diberi nama *Staphylococcus cohnii* IRLV5 (*Indonesian Rusip Litopeaneus vannamei Day-5*). Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* adalah sebagai berikut (Cole *et al*, 2019):

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus cohnii</i>

Bakteri *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* merupakan bakteri Gram-positif, bentuk kokus dengan diameter sekitar 0,6-1,2 μ m, susunan tunggal atau berpasangan. Koloni dari bakteri ini memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, halus, biasanya berkilau, sedikit cembung, biasanya berwarna abu-abu putih dan berukuran sekitar 1-3 mm (Kloos dan Wolfshohl, 1991). Bakteri ini non-motil, tidak membentuk spora, koagulase negatif dan katalase positif (Soldera *et al*, 2013). Menurut Fatoni (2012), salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim protease ekstraseluler adalah *Staphylococcus sp* (Fatoni dan Lestari, 2012). *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* dianggap sebagai bagian flora normal yang ada di kulit. Bakteri ini termasuk sebagai bakteri patogen oportunistik yang dapat menyebabkan bakteremia yang terkait dengan infeksi saluran kemih (Shahandeh *et al*, 2015). Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil enzim protease pada rusip udang putih pasca



fermentasi 120 jam berbasis molekuler yang telah dilakukan dapat menjadi sumber informasi tentang bakteri yang dapat menjadi acuan sumber enzim protease yang baru. Bakteri penghasil enzim protease yang terdapat pada rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam diharapkan dapat digunakan secara luas untuk memenuhi kebutuhan enzim protease yang semakin meningkat

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pada rusip udang putih pasca fermentasi 120 jam terdapat 1 isolat yang dapat menghasilkan enzim protease dengan diameter proteolitik 10,00 mm yaitu isolat RLV.5.2 (Rusip *Litopeaneus vannamei* Hari-5 Koloni-2). Berdasarkan hasil identifikasi molekuler berbasis sekuen gen 16S rRNA, diketahui isolat RLV.5.2 memiliki kemiripan 99% dengan bakteri *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* strain CK27. Dengan demikian isolat RLV.5.2 teridentifikasi secara molekuler sebagai *Staphylococcus cohnii* IRLV5 (*Indonesian Rusip Litopeaneus vannamei* Day-5).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka untuk peneliti selanjutnya perlu melakukan uji patogenitas terhadap bakteri *Staphylococcus cohnii subsp. urealyticus* RLV.5.2. Selain itu, perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri penghasil enzim protease pada makanan olahan fermentasi, seperti dangke, pekasam dan peuyeum untuk memperbanyak sumber penghasil enzim protease yang baru.

REFERENSI

- Borla, OP., Davidovich, L.A., dan Roura, S.I. 2010. Isolation dan Characterization of Proteolytic Microorganisms from Fresh and Fermented Cabbage. *LWT-Food Science and Technology*. 43 (2). 298-301
- Choirunnisa, H. Sari, R.Y. dan Hastuti, U.S., 2017. Identifikasi dan Uji Kemampuan Hidrolisis pada Bakteri Amilolitik dan Proteolitik yang Diisolasi dari Wadi, Makanan Khas Kalimantan Tengah. *Jurnal Bionature*. 18 (2). 99-109
- Cole, K., Foster, D., Russell, J.E., Golubchik, T., Llewelyn, M., Wilson, D.J., Crook, D., and Paul, J. 2019. Modernising Medical Microbiology Consortium. "Draft genome sequences of 64 type strains of 50 species and 25 subspecies of the genus *Staphylococcus* Rosenbach 1884." *Microbiol. Resour. Announc.* 8:e00062-19.
- Darmawati, S., 2019. Monograf: Sistematika Polifasik Untuk Deteksi Keanekaragaman Genetik *Salmonella typhi*. ED I. Salma Idea: Yogyakarta.
- Ethica, S.N., 2014. *Detection of genes involved in glycerol metabolism of Alcaligenes sp. JG3* (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Ethica, S.N., Hammi, M.K., Lestari, P., Semiarti, E., Widada, J. and Raharjo, T.J., 2013. Amplification of *Azospirillum* sp. JG3 *glpd* gene fragment using degenerate primers generated by web-based tools. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(3), p.231.
- Fatoni, A. dan Lestari, P. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(02), pp.83-88
- Fifendy, M., 2017. Mikrobiologi. ED I. Kencana: Depok
- Hanafiarti, D., 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Protease dari Terasi Udang Cirebon (*Mysis relicta*). Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ibrahim, B., Zahiruddin, W., Sastra, W., 2009. Fermentasi Rusip. *Seminar Nasional Perikanan Indonesia*. 314-320.
- Inayatul, W.O., Muchlissin, S.I., Mukaromah, A.H., Darmawati, S. and Ethica, S.N., 2018. Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Protease *Pseudomonas*



- Stutzeri Istd4 dari Tempe Gembus Pasca Fermentasi 1 Hari. In Prosiding Seminar Nasional & Internasional (Vol. 1, No. 1).
- Lestari, D.A., 2018. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Protease pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 72 Jam Berdasarkan Analisis Gen 16S rRNA. Skripsi. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang
- Melliawati, R. Rohmatussolihat dan Nuryati, 2016. Seleksi dan Identifikasi Bakteri Endofit Potensial Penghasil Enzim Protease dari Taman Nasional Gunung Halimun. *Biopropal Industri*. 7 (2). 73-82
- Mubarok, A., 2015. Profil Protein Ikan Tongkol yang Direndam Larutan Tawas Berbasis SDS-PAGE. Skripsi. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang
- Muchtadi, D. dan Betty, S.L. 1983. Petunjuk Praktek Mikrobiologi Hasil Perikanan 2. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan: Jakarta
- Mulyani, Y., Purwanto, A., dan Nurruhwati, I., 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L.*). *Jurnal Akuatika*. 2 (1).
- Paskandani, R., Ustadi dan Husni, A., 2014. Isolasi dan Pemanfaatan Bakteri Proteolitik untuk Memperbaiki Kualitas Limbah Cair Pengolahan Bandeng Presto. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 21(3). 310-316
- Putri, Y.S., 2012. Skrining dan Uji Aktivitas Enzim Protease Bakteri dari Limbah Rumah Pemotongan Hewan. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Surabaya
- Rahayu, S., 2014. Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Sumber Air Panas Tamalantik Mamasa Sulawesi Barat. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Makassar
- Riani, H. Rostika, R. dan Lili, W., 2012. Efek Pengurangan Pakan Terhadap Pertumbuhan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) PL-21 yang Diberi Bioflok. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3). 207-211
- Rinanda, T., 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 11 (3). 172-177
- Shahandeh, Z., Shafi, H. and Sadighian, F. 2015. Association of *Staphylococcus cohnii subspecies urealyticum* infection with recurrence of renal staghorn stone. *Caspian Journal Internal Medicine*. 6(1). 40-42
- Soldera, J., Nedel, W.L., Cardoso, P.R.C. and d'Azevedo, P.A., 2013. Bacteremia due to *Staphylococcus cohnii ssp. Urealyticus* caused by infected pressure ulcer: case report and review of the literature. *Sao Paulo Medical Journal*. 131 (1).