



## **IDENTIFIKASI BAKTERI ENDOFIT BUAH TIN (*Ficus carica L.*) YANG MENUNJUKKAN AKTIVITAS ENZIM EKSTRASELULER**

### **IDENTIFICATION OF FIG FRUIT ENDOPHYTE BACTERIA (*Ficus carica L.*) WHICH SHOW EXTRACELLULAR ENZYME ACTIVITY**

**Ulfah Rianda Wijaya<sup>1\*</sup>, Endang Sulistyarini Gultom<sup>2</sup>**

*\*) Corresponding Author*

<sup>1,2</sup>Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Medan

\*Email: [ulfahriandawijaya@gmail.com](mailto:ulfahriandawijaya@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri endofit yang terdapat pada buah Tin (*Ficus carica L.*) yang menunjukkan aktivitas enzim ekstraseluler. Penelitian dilakukan secara deskriptif eksploratif dengan isolasi bakteri endofit dari buah Tin. Lima isolat bakteri berhasil diperoleh dan dianalisis karakteristik morfologinya secara makroskopis dan mikroskopis. Pengujian aktivitas enzim ekstraseluler dilakukan terhadap empat jenis enzim, yaitu amilase, protease, selulase, dan lipase. Hasil menunjukkan bahwa seluruh isolat menghasilkan enzim protease dengan variasi tingkat aktivitas. Dua isolat (E1 dan E2) menghasilkan enzim lipase, satu isolat (E4) menghasilkan enzim selulase, dan tidak ditemukan isolat yang menghasilkan enzim amilase. Identifikasi biokimia menunjukkan bahwa empat isolat (E1, E2, E4, E5) diduga berasal dari genus *Clostridium* dan *Bacillus* sp, sedangkan satu isolat (E3) dari genus *Neisseria*. Hasil ini menunjukkan bahwa buah Tin berpotensi sebagai sumber isolat bakteri endofit penghasil enzim ekstraseluler yang dapat dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi dan industri.

**Kata Kunci:** Amilase, Bakteri Endofit, Buah Tin, Lipase, Protease, Selulase.

#### **ABSTRACT**

This study aimed to identify endophytic bacteria present in fig fruit (*Ficus carica L.*) that exhibit extracellular enzyme activity. The research was conducted using a descriptive-explorative approach by isolating endophytic bacteria from fig fruit. Five bacterial isolates were successfully obtained and analyzed for their morphological characteristics, both macroscopically and microscopically. Extracellular enzyme activity was tested for four types of enzymes: amylase, protease, cellulase, and lipase. The results showed that all isolates produced protease with varying levels of activity. Two isolates (E1 and E2) produced lipase, one isolate (E4) produced cellulase, and no isolate was found to produce amylase. Biochemical identification suggested that four isolates (E1, E2, E4, E5) likely belong to the *Clostridium* and *Bacillus* sp genus, while one isolate (E3) belongs to the *Neisseria* genus. These findings indicate that fig fruit has potential as a source of endophytic bacterial isolates that produce extracellular enzymes, which can be utilized in biotechnology and industry.

**Keywords:** : Amylase, Cellulase, Endophytic Bacteria, Fig Fruit, Lipase, Protease.

#### **PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis dan subur dimana banyak tanaman tumbuh dan beranekaragam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dalam aspek kehidupan manusia terutama dalam bahan aktif pada obat-obatan (Sriwati et al, 2019). Tanaman menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologi yang beraneka

ragam serta berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat berbagai penyakit (Santa dan Ahmad, 2025). Tin (*Ficus carica*) merupakan tanaman berbunga yang termasuk kedalam genus *ficus* ( Suherman, 2019). Buah Tin dikenal juga sebagai buah ara di Indonesia. Di negara-negara semenanjung India, buah tin merupakan tanaman yang dipakai untuk keperluan pengobatan dan menjadi ikon dalam indeks pengobatan India sejak zaman pra sejarah (Paarakh, 2009). Buah tin merupakan sumber penting komponen bioaktif seperti fenol, benzaldehida, terpenoid, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki sifat antioksidan. Dalam pengambilan senyawa bioaktif secara langsung dari tanamannya dibutuhkan sangat banyak biomassa atau bagian dari tanamannya. Untuk mengefisiensikan cara memperoleh bioaktif tersebut, maka digunakan mikroba endofit spesifik yang diperoleh dari bagian dalam tanaman yang diharapkan mampu menghasilkan sejumlah senyawa bioaktif yang dibutuhkan tanpa harus mengekstrak dari tanamannya (Santa dan Ahmad,2025).

Bakteri endofit dapat diisolasi dari berbagai jenis tumbuhan mulai dari monokotil hingga dikotil. Isolasi bakteri endofit telah dilakukan lebih dari 20 tahun yang lalu dan setiap bagian tanaman ditemukan adanya mikroba endofit, baik pada daun, akar maupun batang. Isolasi bakteri endofit dapat memproduksi protein dan enzim yang penting bagi fungsi biologis sebagai metabolit sekunder dan bermanfaat bagi tanaman inang.

Kajian terkait identifikasi bakteri endofit pada tanaman tin telah dilaporkan. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan oleh Jasmine *et al.* (2014), dimana ekstrak etanol dan metanol buah tin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, *Enterobacter* sp., *E. Coli*, *Streptococcus* sp., dan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, buah tin juga mengandung serin, resin, albumin, enzim lipase, enzim peroksidai dan asam malat ( Rahimah & Pujiastuti, 2016). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri endofit yang terdapat pada buah Tin (*Ficus carica* L.) yang menunjukkan aktivitas enzim ekstraseluler.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan pada bulan Januari 2025 hingga Juli 2025.

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, timbangan analitik, pisau, petridish, tabung reaksi, jarum ose, pinset, bunsen, inkubator, lemari pendingin, *laminar air flow*, kertas label, plastik *wrap*, alumunium foil, tisu, mikroskop cahaya, kaca objek, dan kertas Koran. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah tin (*Ficus carica* L.),skim milk, etanol 96% dan 70%, aquades steril, iodin, media

NA, NaoCl 5,25%, ciprofloxacin, kloampenikol,medium agar diperkaya CMC (Carboxy Methyl Cellulose), tepung kanji , agarose, Larutan Congo Red, NaCl 1M, Tween 80 1%, Larutan H2O2, Sulfide Indole Moltility (SIM) dan TSIA (Triple Sugar Iron Agar).

### **Pengambilan Sampel**

Buah tin yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah tin dengan varietas adriatic didapatkan dari Jalan Budi Luhur Gang Keluarga Baru No.99 Kelurahan Dwikora, Kecamatan Medan Helvetia, Kota Medan. Pengambilan buah tin dilakukan memakai alat yakni pisau steril. Sampel dibungkus dengan menggunakan plastik klip dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan untuk sterilisasi permukaan dan diisolasi serta dilakukan pengidentifikasi bakteri endofit.

### **Sterilisasi Buah Tin**

Sampel yang digunakan adalah beberapa bagian dari buah tin (*Ficus carica* L.) kemudian dicuci dibawah air mengalir hingga bersih. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil. Potongan sampel kemudian disterilisasi permukaan. Mula-mula sampel direndam didalam etanol 96% selama 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam larutan natrium hipoklorit 5,25% selama 5 menit, dan terakhir dibilas kembali menggunakan etanol 96% hingga tiga kali pengulangan (Leonita *et al.*, 2015).

### **Isolasi dan Pemurniaaan Bakteri Endofit**

Sampel yang telah disterilkan kemudian ditanam pada media isolasi Nutrien Agar (NA) yang mengandung nystatin di tiap cawan petri, selanjutnya diinkubasi selama 1 X 24 jam bersuhu ruang. Selama masa tersebut dilakukan pengamatan tingkat pertumbuhan koloni endofit (modifikasi Leonita *et al.*, 2015). Bakteri endofit yang tumbuh pada media NA, dimurnikan satu per satu pada media NA dengan metode streak pada suhu 37°C selama 1 X 24 jam, sampai diperoleh koloni murni.

### **Identifikasi Bakteri Endofit**

#### **1). Pengamatan Makroskopik**

Isolat bakteri endofit yang telah murni diidentifikasi secara makroskopis, dilakukan dengan mengamati morfologi dan pertumbuhan koloni. Pengamatan yang dilakukan meliputi warna koloni, bentuk koloni, bentuk tepi dan bentuk permukaan.

#### **2). Pengamatan Mikroskopik**

Karakterisasi mikroskopis dilakukan pengamatan dengan metode pewarnaan Gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan cara membersihkan kaca objek menggunakan alkohol 95% yang kemudian difiksasi dengan api bunsen lalu ditunggu hingga dingin. Isolat bakteri diambil secara aseptik seanyak satu jarum vial yang ditebarkan secara merata pada permukaan kaca objek yang kemudian difiksasi diatas api bunsen dengan cara dilewatkan diatas api sebanyak

3 kali. Kaca objek ditetes kristal violet hingga semua preparat tertutup dan didiamkan 30-60detik pada suhu kamar. Cuci preparat menggunakan aquades. Setelah dilakukan pencucian preparat diteteskan dengan larutan Lugol dan dibiarkan selama 1 menit lalu dibilas dengan aquades. Kemudian dilakukan delarisasi dengan cara meneteskan alkohol 95% pada kaca objek setelah itu dibilas kembali dengan aquades. Selanjutnya safranin diteteskan pada kaca objek dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas kembali dengan aquades dan dianginkan hingga kering. Setelah itu dilakukan pengamatan dengan mikroskop. Bakteri dengan warna ungu menunjukkan bakteri gram positif sedangkan jika berwarna merah menunjukkan bakteri gram negatif (Rahmatullah, dkk, 2021).

### **3). Peremajaan Bakteri Endofit dan Bakteri Uji**

Peremajaan bakteri endofit dilakukan dengan metode Anjum & Chandra, (2015) yaitu bakteri diremajakan dalam media lempeng NA. Satu koloni bakteri endofit diambil dengan jarum ose steril, lalu diinokulasi pada media lempeng NA dengan metode cawan gores dan diinkubasi pada suhu 37oC selama 24-48 jam.

### **Uji Aktivitas Enzim Ekstraselular Bakteri Endofit Buah Tin**

#### **1). Uji Aktivitas Enzim Protease**

Uji aktivitas enzim protease dilakukan dengan menggunakan Medium NA yang diperkaya dengan susu skim 1% sebagai media penguji. 1 gram susu skim dan 2,3 gram media NA dicampur dengan 100ml aquades. Media dipanaskan dan diaduk hingga homogen, kemudian disterilkan lalu media dituang ke dalam cawan petri secara aseptik kemudian ditunggu hingga memadat. Isolat Bakteri endofit dambil masing-masing 1 dosis kemudian diinokulasikan pada media agar yang diperkaya susu skim menggunakan metode titik ( spot method ) dan ditumbuhkan pada suhu 37oC.

#### **2). Uji Aktivitas Enzim Amilase**

Uji aktivitas enzim amilase dilakukan dengan menggunakan Medium NA yang diperkaya dengan pati 1%. Media NA sebanyak 2,3 gram dicampur dengan 100mL aquades yang kemudian dipanaskan dan diaduk hingga homogen. 1 gram tepung kanji ditimbang kemudian dicampurkan ke dalam media yang sedang dipanaskan lalu diaduk hingga homogen kemudian disterilisasi dan di tuang secara aseptik ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Isolat bakteri endofit diambil masing-masing sebanyak 1 dosis yang kemudian diinokulasi pada media pati agar dengan metode titik ( spot method) dan ditumbuhkan pada suhu 37oC selama ± 24 - 48 jam. Aktivitas enzim amilase dapat dilihat dengan tanda terbentuknya zona bening disekitar koloni dengan latar belakng biru tua ( Remijawa *et al.*, 2020).

### **3). Uji Aktivitas Selulase**

Uji aktivitas selulase dilakukan dengan medium agar diperkaya CMC (Carboxy Methyl Cellulose). 1 gram CMC dan 2,3 gram media NA dicampur dengan 100ml aquades. Media dipanaskan dan diaduk hingga homogen, kemudian disterilkan lalu media dituang ke dalam cawan petri secara aseptik kemudian ditunggu hingga memadat. Isolat bakteri endofit diambil masing-masing sebanyak 1 dosis yang kemudian diinokulasi pada media agar yang diperkaya CMC dengan metode titik (spot method) dan ditumbuhkan pada suhu 37oC selama ±48 jamSetelah inkubasi. Larutan Congo Red dituang ke atas kultur untuk mengetahui adanya aktivitas selulase, selanjutnya dibilas dengan NaCl 1M selama ±15 menit. Adanya aktivitas enzim selulase ditunjukkan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri.

### **4). Uji Aktivitas Lipase**

Aktivitas produksi lipase dilakukan dengan Media NA yang diperkaya dengan Twen 80 1%. Sebanyak 2,3 gram media NA dicampur dengan 100mL aquades ditambah 1 mL Tween 80 yang kemudian dipanaskan dan diaduk hingga homogen lalu disterilisasi dan dituang secara aseptik ke dalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Isolat bakteri endofit diambil masing-masing sebanyak 1 dosis yang kemudian diinokulasi pada media agar yang diperkaya Tween 80 dengan metode titik (spot method) dan ditumbuhkan pada suhu 37oC selama ± 24 - 48 jam.

### **5). Uji Motilitas**

Uji motilitas bakteri endofit dilakukan berdasarkan metode Sardiani, dkk (2015) yaitu isolat bakteri diambil masing masing 1 dosis yang kemudian diinokulasikan dengan metode tusuk pada media SIM ( Sulphide Indole Motility) dan diikubasi pada suhu 37 oC 1 x 24 jam yang kemudian bakteri yang bersifat motil akan ditunjukkan dengan adanya tanda perkembang biakan disekitar media yang ditusukkan jarum.

### **6). Uji TSIA ( Triple Sugar Iron Agar)**

Uji TSIA merupakan uji biokimia dengan tujuan untuk mengetahui apakah mikroorganisme yang ditemukan termasuk kedalam kelompok bakteri yang mampu memfermentasikan beberapa jenis gula sehingga membentuk asam atau basa (Antariana, 2014). Uji TSIA ini dilakukan dengan menginokulasikan bakteri kedalam media TSIA miring dengan cara ditusuk menggunakan jarum ose lalu kemudian di inkubasi di suhu 37 oC selama 1X 24jam (Sardiani, dkk., 2015).

## 7). Uji Katalase

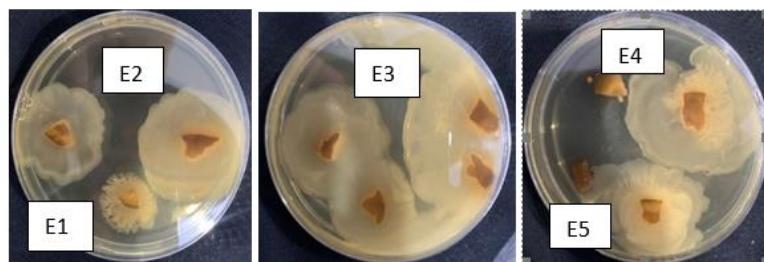
Uji katalase bakteri endofit buah tin dilakukan dengan mengikuti cara Sardiani, dkk (2015) yaitu dengan mengambil masing-masing satu dosis isolat bakteri endofit buah tin yang kemudian diinokulasikan pada kaca objek yang sudah ditetesi larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Terbentuknya gelembung gas pada kaca objek menunjukkan hasil positif sedangkan jika tidak adanya gelembung menandakan hasil negatif pada isolat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Isolat Bakteri Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*)

#### 1. Karakteristik Makroskopik

Hasil dari isolat endofit pada buah Tin yang berasal dari Kec. Medan Helvetia, Kota Medan diperoleh sebanyak lima koloni endofit yang tumbuh disekitar sampel pada beberapa cawan petri dengan karakteristik makroskopik yang berbeda. Kelima koloni endofit tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Koloni Endofit yang Berhasil (a. Isolat E1 dan E2; b. Isolat E3; c. Isolat E4 dan E5)

Hasil pengamatan karakteristik makroskopik kelima isolat endofit buah tin disajikan pada Tabel 1. berikut ini.

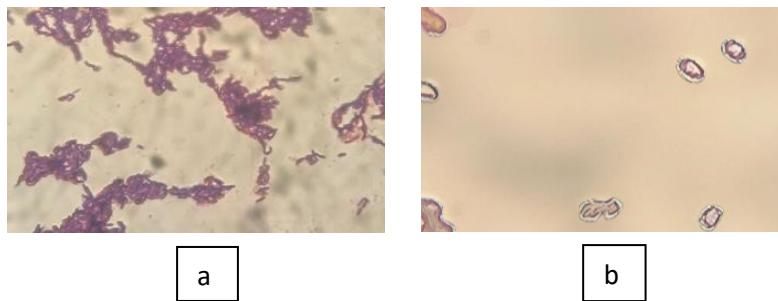
**Tabel 1.** Karakteristik Maksroskopik Koloni Isolat Endofit Buah Tin.

Kode Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
<b>E1</b>	Rizoid	Berserabut	Datar	Putih
<b>E2</b>	Tak beraturan	Bergelombang	Timbul	Putih
<b>E3</b>	Tak beraturan	Bergelombang	Timbul	Putih
<b>E4</b>	Tak beraturan	Bergelombang	Timbul	Putih
<b>E5</b>	Tak beraturan	Bergelombang	Timbul	Putih

Berdasarkan Tabel 1. diperoleh karakteristik makroskopik isolat endofit buah tin sebagai berikut yaitu terdapat 4 isolat yang karakteristik makroskopiknya sama yakni bentuk Tak beraturan, tepian bergelombang dan elevasi timbul 1 isolat berbentuk rizoid, tepian berserabut, dan elevasi datar. Warna koloni endofit untuk semua isolat sama yaitu putih. Perbedaan karakteristik dari tiap-tiap isolat endofit dikarenakan ekspresi gen yang berasal dari jenis yang berbeda-beda (Fakhruddin et al., 2013)

## 2. Karakteristik Mikroskopik

Hasil dari isolat endofit pada buah Tin yang berasal dari Kec. Medan Helvetia, Kota Medan diperoleh sebanyak lima koloni endofit yang tumbuh disekitar sampel pada beberapa cawan petri dengan karakteristik mikroskopik yang berbeda. Kelima koloni endofit tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Endofit Buah Tin (a. Isolat E2 dan b. isolat E3).

Hasil pengamatan karakteristik makroskopik kelima isolat endofit buah tin disajikan pada Tabel 2. berikut ini.

**Tabel 2.** Karakteristik Mikroskopik Isolat Endofit pada Buah Tin

Kode Isolat	Bentuk Sel	Warna	Gram
E1	Batang (Basil)	Ungu	(+)
E2	Batang (Basil)	Ungu	(+)
E3	Bulat (Kokus)	Pink Tua	(-)
E4	Batang (Basil)	Ungu	(+)
E5	Batang (Basil)	Ungu	(+)

Berdasarkan Tabel 2. diketahui bahwa isolat endofit E1, E2, E4 dan E5 berbentuk batang (basil) kemudian isolate E3 berbentuk bulat (kokus). Empat isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari buah tin merupakan bakteri gram positif sedangkan satu isolate bakteri endofit pada buah tin yang berhasil diisolasi merupakan bakteri gram negatif. Pada Gambar 2a dapat dilihat bahwa sel endofit berbentuk batang dan berwarna ungu dan Gambar 2 b dapat dilihat bahwa sel endofit berbentuk bulat dan berwarna pink tua. Hasil pewarnaan gram bergantung pada reaksi dinding sel bakteri terhadap zat warna yang diberikan. Bakteri gram positif berwarna ungu meskipun dibilas alkohol, sedangkan bakteri gram negatif melepas kompleks tersebut sewaktu pemberian alkohol dan menyerap zat warna kedua (safranin) yang berwarna merah namun bisa juga terjadi bakteri gram negative dikarenakan isolate kultur sudah tua yang mana kultur tersebut kehilangan kemampuan untuk mempertahankan warna ungunya saat pewarnaan gram. (Fatimawali, 2013).

## **Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler Bakteri Endofit Buah Tin**

### **Uji Aktivitas Enzim Protease**

Aktivitas enzim protease dihasilkan oleh bakteri endofit buah tin pada semua isolat bakteri yaitu isolate E1 sampai E5. Aktivitas enzim protease ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni akibat hidrolisis media susu skim sebagai substrat oleh bakteri endofit (Rori *et al.*, 2020). Hasil penelitian Bhutani dkk. (2021), diperoleh 9 isolat bakteri endofit kacang hijau yang mampu menghasilkan enzim protease. Enzim protease mampu menghidrolisis ikatan peptida pada molekul protein sehingga menghasilkan asam amino atau peptida (Susilowati dkk, 2020). Sumber protein yang digunakan dalam uji aktivitas enzim protease adalah susu skim. Susu skim mengandung kasein yang baik untuk mengisolasi bakteri endofit penghasil enzim. Mikroorganisme memanfaatkan susu skim sebagai substrat untuk pertumbuhan biomassa, menghasilkan produk metabolit, pemeliharaan dan pembelahan sel. Fungsi enzim protease adalah memutus ikatan peptida yang terdapat pada kasein pada susu sehingga terbentuk zona bening disekitar koloni bakteri.

### **Uji Aktivitas Enzim Amilase**

Aktivitas enzim amilase tidak ditemukan pada semua isolate bakteri endofit yang dihasilkan. Aktivitas enzim amilase diperoleh dengan meneteskan iodium pada media uji yang mengandung pati. Yodium bereaksi dengan pati membentuk warna biru tua kehitaman pada media dan membentuk zona bening disekitar koloni bakteri endofit buah tin, hal ini disebabkan kemampuan bakteri endofit tin dalam menghidrolisis pati sehingga interaksi antara yodium dan pati berkurang. Enzim amilase mampu menghidrolisis pati menjadi gula sederhana seperti glukosa, dekstrin dan maltosa (Ginting *et al.*, 2018). Enzim amilase secara acak memutus ikatan glikosida ada molekul pati, kemudian menghidrolisisnya dan menghasilkan gula sederhana seperti oligosakarida dan adekstrin.

### **Uji Aktivitas Enzim Selulase**

Aktivitas enzim selulase dhasilkan oleh bakteri endofit buah tin sebanyak satu isolat bakteri yaitu isolat E4. Aktivitas enzim selulase ditandai dengan terbentuknya zona bening kekuningan di sekitar koloni. Enzim selulase bekerja mengubah substrat selulosa menjadi glukosa (Purkan dkk, 2015). Sumber substrat selulosa pada uji aktivitas enzim selulase adalah CMC (Carboxyl methyl cellulose). CMC (Karboksil metil selulosa ) adalah turunan selulosa larut air yang mampu mendeteksi produksi endol 1,4- $\beta$ -D-glukanase dan cepat terdegradasi oleh mikroorganisme. Aktivitas enzim selulase diperoleh dengan meneteskan Congo Red pada media uji yang mengandung selulosa. Congo red berinteraksi dengan (1,4)-  $\beta$  -glukan dan (1,3)-  $\beta$ -D-glukkan pada proses hidrolisis selulosa membentuk zona bening kekuningan disekitar koloni bakteri.

### **Uji Aktivitas Enzim Lipase**

Aktivitas enzim lipase dihasilkan oleh bakteri endofit buah tin sebanyak 2 isolat bakteri yaitu isolate E1 dan E2. Adanya aktivitas enzim lipase ditandai dengan terbentuknya zona putih keruh di sekitar koloni bakteri yang merupakan endapan asam lemak (Adelita et al., 2019). Aktivitas enzim lipase diperoleh dari Tween 80 pada media uji yang berperan sebagai substrat dan dihidrolisis oleh bakteri endofit menjadi asam monooleat yang berikatan dengan kalsium (Evrinaet al., 2020). Enzim lipase mampu menghidrolisis lemak trigliserida, digliserida dan monogliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas (Sarjono dkk, 2022). Sumber lemak atau lipid yang digunakan dalam uji aktivitas enzim lipase adalah Tween 80.

Kemampuan Tween 80 dalam meningkatkan permeabilitas dinding sel memudahkan pelepasan enzim dari dinding sel (Moentamaria et al., 2016). Tween 80 merupakan asa oleat monoester dari polioksietilen sorbitan. Kandungan ester pada Tween 80 akan dihidrolisis oleh bakteri menjadi asam mono-oleat, kemudian asam mono-oleat tersebut berikatan dengan kalsium (dari CaCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O) sehingga menghasilkan warna keruh disekitar koloni bakteri (Ervina dkk, 2020). Hasil penelitian Dogan dan Taskin (2021), menunjukan bahwa bakteri endofit dari tanaman Poaceae mampu menghasilkan enzim lipase.

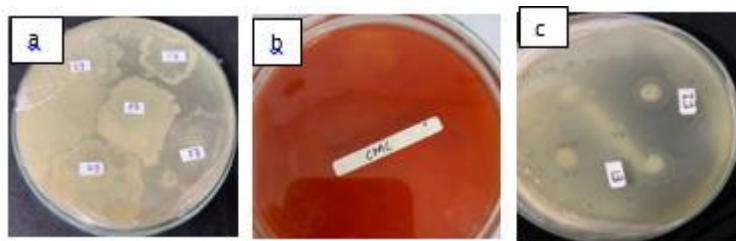
**Tabel 3.** Indeks Aktivitas Enzim Ekstraseluler Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*)

<b>Kode Isolat</b>	<b>Indeks Aktivitas Enzim</b>			
	<b>Amilase</b>	<b>Lipase</b>	<b>Protease</b>	<b>Selulase</b>
E1	-	1	1,7	-
E2	-	1	2	-
E3	-	-	0,6	-
E4	-	-	1,3	3
E5	-	-	0,5	-

**Keterangan :** Tanda “-“ menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil indeks aktivitas enzim ekstraseluler yang didapatkan pada Tabel 3. terdapat 2 isolat yang menghasilkan enzim lipase dengan indeks aktivitas enzim kategori sedang. Sedangkan pada enzim amylase tidak ditemukan aktivitas enzim pada semua isolate sehingga indeks aktivitas enzim nya tidak ada. Pada enzim protease kelima isolate menghasilkan indeks aktivitas enzim yang mana 1 isolat termasuk enzim kategori tinggi, 2 isolat termasuk enzim kategori sedang dan 2 isolat termasuk enzim kategori rendah. Pada enzim selulase hanya terdapat 1 isolat yang menghasilkan aktivitas enzim yang mana indeks aktivitas enzimnya termasuk kedalam enzim kategori tinggi. Hal ini dibuktikan dengan dihasilkannya bakteri endofit isolat E1 dan isolat E2 buah tin yang hanya menghasilkan enzim lipase dan protase. Bakteri endofit E4 isolat buah tin hanya

mampu menghasilkan enzim protase dan selulase. Bakteri endofit isolate E3 dan isolat E5 buah tin hanya menghasilkan enzim protase yang disajikan dalam Gambar 3.



**Gambar 3.** Hasil Uji Aktivitas Enzim Ekstraseluler (a. Enzim Protase, b. Enzim Selulase dan c. Enzim Lipase)

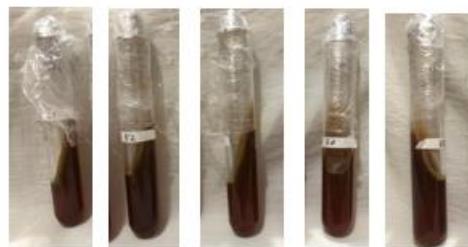
#### Identifikasi Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*)

Identifikasi bakteri endofit dilakukan dengan menggunakan uji biokimia untuk mengetahui genus bakteri endofit penghasil enzim ekstraseluler. Uji biokimia yang digunakan adalah uji motilitas, uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar) dan uji katalase. Hasil uji biokimia Motilitas bakteri endofit dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Hasil Identifikasi Bakteri Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*) dengan Uji Biokimia Pada Uji Motilitas.

Berdasarkan Gambar 4. hasil uji motilitas yang dilakukan, ditemukan hasil negatif pada isolat E1, E2, E3, E4, E5 bakteri endofit buah tin (*Ficus carica L.*). Hasil negatif ini ditunjukkan dengan tidak adanya bakteri yang tumbuh menyebar ke semua media melainkan hanya tumbuh disekitar bekas tusukan jarum pada media SIM. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat bakteri endofit buah tin tidak memiliki kemampuan untuk bergerak secara aktif atau bersifat non-motil.



**Gambar 5.** Hasil Identifikasi Bakteri Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*) dengan Uji Biokimia Pada Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Berdasarkan Gambar 5. hasil dari uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) yang dilakukan, ditemukan hasil positif pada isolat E1, E2, E3, E4, E5 bakteri endofit buah tin (*Ficus carica L.*). Hasil berupa K/A, H<sub>2</sub>S+ yang menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut hanya dapat memfermentasi glukosa (K/A) namun dengan fermentasi yang tergolong lemah karena perubahan warna yang tidak terlalu signifikan dan juga adanya endapan berwarna hitam pada bagian atas media yang artinya isolat tersebut mampu menghasilkan hidrogen sulfida (H<sub>2</sub>S+).



**Gambar 6.** Hasil Uji Biokimia pada Uji Katalase.

Berdasarkan Gambar 6. hasil dari uji katalase yang dilakukan, ditemukan hasil positif pada isolat E1, E2, E3, E4, E5 bakteri endofit buah tin yang ditunjukkan dengan munculnya gelembung pada media uji yang menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut memiliki enzim katalase yang mampu mengurai hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) menjadi air (H<sub>2</sub>O) dan oksigen (O<sub>2</sub>). Bakteri endofit yang menunjukkan hasil positif pada uji katalase umumnya diklasifikasikan sebagai bakteri aerob, karena mereka mampu hidup dan tumbuh pada lingkungan yang mengandung oksigen. Hal ini dikarenakan enzim katalase membantu mereka bertahan dari toksitas hidrogen peroksida yang dihasilkan selama metabolisme aerob.

## Pembahasan

### Karakteristik Isolat Bakteri Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*)

#### Karakteristik Makroskopik

Berdasarkan hasil isolasi diperoleh 5 koloni endofit pada buah tin. Banyaknya koloni yang didapat berbeda dengan penelitian terdahulu. Abid et al., (2022) berhasil mengisolasi 9 strain endofit pada buah tin kering (*Ficus carica*). Berdasarkan hasil karakterisasi makroskopik isolat endofit diketahui bahwa terdapat perbedaan morfologi koloni endofit pada buah tin. **Tabel 4.1** menunjukkan adanya 2 isolat yang karakteristik makroskopiknya sama yakni bentuk Tak beraturan ,tepian bergelombang dan elevasi timbul, 2 isolat berbentuk bulat, tepian rata, dan elevasi timbul, 1 isolat berbentuk filamen, tepian berbentuk benang, dan elevasi datar serta 1 isolat berbentuk tak beraturan, tepian bergelombang, dan elevasi datar. Warna koloni endofit untuk semua isolat sama yaitu putih. Beragamnya ciri makroskopik isolat endofit ini kemungkinan karena media tumbuh yang digunakan. Media agar yang digunakan untuk isolasi dalam penelitian ini adalah media NA (nutrient agar) yang kaya akan yeast extract, pepton, NaCl, dan agar. Endofit mampu hidup pada media NA

karena komposisi dari media tersebut yang serupa atau mirip dengan kondisi di dalam tanaman (Purwanto, et al., 2014).

Bhore dan Satisha (2010) menyebutkan bahwa endofit pada satu tanaman inang terbagi ke dalam beberapa genus dan spesies. Perbedaan yang dinampakkan tiap isolat endofit juga dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan tanaman. Beberapa kasus menyebutkan bahwa tanaman dengan jenis yang sama tidak selalu memiliki endofit yang sama. Tanaman tertentu justru mengandung endofit yang spesifik dan khas

### **Karakteristik Mikroskopik**

Pewarnaan gram dilakukan untuk menggolongkan endofit menjadi dua bagian yakni bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu karena kompleks zat berwarna kristal violet tetap terikat pada dinding sel bakteri meskipun dibilas alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah disebabkan kompleks tersebut luntur sewaktu pemberian alkohol dan menyerap zat warna kedua (safranin) yang berwarna merah (Fatimawali, 2013).

Bakteri gram positif mampu mempertahankan warna ungu karena dinding selnya mengalami dehidrasi sehingga ukuran pori-pori sel mengecil dan daya permeabilitasnya menurun maka zat warna kristal violet terperangkap di dalam sel. Berbeda dengan gram positif, bakteri gram negatif justru tidak mampu mempertahankan warna ungu karena lipid dinding sel akan terekstraksi saat dibilas dengan alkohol 95%, pori-pori sel mengembang dan zat warna kristal violet akan keluar dan sel menyerap warna selanjutnya. Kondisi ini berkorelasi dengan senyawa penyusun dinding sel. Bakteri gram positif mengandung peptidoglikan lebih banyak dan sedikit lemak dibandingkan bakteri gram negatif (Fatimawali, 2013).

### **Aktivitas Enzim Ekstraseluler Bakteri Endofit Buah Tin**

Berdasarkan hasil penelitian, Bakteri endofit isolat E1, E2 dan E4 hanya mampu menghasilkan dua enzim ekstraseluler sedangkan isolate E3 dan E5 hanya mampu menghasilkan satu enzim ekstraseluler yang mana kelima isolate tersebut menunjukkan adanya aktivitas enzim ekstraseluler meskipun tidak ditemukan isolate yang mampu menghasilkan keempat enzim ekstraseluler seperti pada penelitian Habsari et. Al 2023 bahwa Bakteri Gram Positif *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler termasuk 6 protease yang berbeda, amilase, levansukrase, beberapa glukanase dan setidaknya dua enzim lipolitik yang berbeda. Bakteri ini dapat direkomendasikan untuk digunakan dalam produk makanan sebagai cara pencegah dalam mengurangi penyakit bawaan makanan.

### **Identifikasi Endofit Buah Tin (*Ficus carica L.*)**

Uji Biokimia aktivitas enzim ekstraseluler pada buah tin bertujuan untuk mengidentifikasi jenis bakteri dan juga mengukur kemampuan enzim yang dihasilkan oleh isolat bakteri endofit pada buah tin dalam memecah substrat di luar sel. Uji ini juga penting dilakukan guna memahami peranan

bakteri endofit dalam karakteristik metabolisme bakteri endofit buah tin dan potensinya dalam berbagai aplikasi. Hasil uji biokimia juga dikombinasikan dengan karakterisasi morfologi seperti pewarnaan gam dan membantu dalam klasifikasi bakteri endofit.

Hasil uji biokimia akan menunjukkan apakah bakteri endofit mampu menghasilkan enzim yang diuji dan seberapa aktif enzim tersebut. Aktivitas enzim yang tinggi menunjukkan potensi besar untuk aplikasi bioteknologi, sementara aktivitas enzim rendah mungkin mengindikasikan bahwa enzim tersebut tidak terlalu penting dalam metabolisme buah tin atau bahwa kondisi inkubasi perlu dioptimalkan ( Habsari, dkk., 2023).

Berdasarkan hasil Uji Biokimia yang dilakukan meliputi uji motilitas, uji TSIA dan uji katalase kemudian dibandingkan dengan beberapa jurnal yang menunjukkan hasil uji dan karakteristik yang sama. Berdasarkan hasil uji yang sudah dilakukan kemungkinan isolat bakteri endofit E1,E2,E4 dan E5, termasuk kedalam genus Clostridium atau Bacillus sp. Hal ini sesuai dengan penelitian Pattuju I., (2014), Ingratubun *et al.*, (2013), Rondunuwu *et al.*, (2014) dan Adriyanto & Yulianti, (2020) yang menyatakan bahwa bakteri Bacillus sp. Memiliki bentuk batang dengan pewarnaan gram bersifat positif, bakteri Bacillus sp. Mampu membentuk spora (endospora). Bakteri yang dihasilkan pada penelitian menunjukkan hasil positif pada uji katalase, uji indol, uji sitrat, sedangkan untuk uji motilitas, uji lysine dan uji TSIA menunjukkan hasil positif maupun negatif.

Pada isolat E3 bakteri endofit yang diperoleh kemungkinan isolat tersebut masuk kedalam genus Niesseria, hal ini dapat dilihat berdasarkan hasil makroskopis isolat E3 yang memiliki kesamaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Ningsih *et al* (2014) karakteristik koloni genera Neisseria berwarna putih,bentuk circular, elevasi convex, dan tepi entire. Secara mikroskopis juga dapat dilihat memiliki kesamaan dengan genera Neisseria yaitu dengan bentuk sel coccus, dengan susunan sel berpasangan dan merupakan bakteri gram negatif. Untuk uji biokimia pada isolat E3 juga memiliki kesamaan dengan genera Neisseria berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Antriana (2014) yang menunjukkan hasil positif pada uji TSIA dan tidak menghasilkan gas dan positif pada uji katalase serta bersifat nonmotil. Namun untuk identifikasi lebih lanjut perlu dilakukan uji tambahan seperti uji biokimia lainnya dan juga uji tambahan yang meliputi analisis 16S rRNA juga dengan melakukan pengujian dengan media selektif.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan yaitu:

1. Spesies bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari buah tin (*Ficus carica L.*) yang mempunyai aktivitas enzim ekstraselular pada isolat E1, E2, E4 dan E5 kemungkinan masuk kedalam genus *Clostridium* atau *Bacillus* sp dan isolat E3 kemungkinan masuk kedalam genus *Niesseria*.
2. Aktivitas enzim ekstraseluler pada semua isolat terbukti ada namun dengan enzim ekstraseluler yang berbeda di tiap isolat. Dari 5 isolat yang tidak ditemukan isolat yang menghasilkan keempat enzim ekstraseluler berupa enzim amilase, protease, selulase dan lipase. 3 isolat menghasilkan dua enzim ekstraseluler berupa lipase, protease dan selulase. 2 isolat lainnya hanya menghasilkan satu enzim ekstraseluler berupa protase.
3. Keanekaragaman endofit yang diperoleh dari buah tin dapat dilihat dari karakteristik makroskopik dan mikroskopiknya, sebagai berikut: 2 isolat yang karakteristik makroskopiknya sama yakni bentuk Tak beraturan ,tepian bergelombang dan elevasi timbul, 2 isolat berbentuk bulat, tepian rata, dan elevasi timbul, 1 isolat berbentuk filamen, tepian berbentuk benang, dan elevasi datar serta 1 isolat berbentuk tak beraturan, tepian bergelombang, dan elevasi datar. Warna koloni endofit untuk semua isolat sama yaitu putih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anjum, N. & Chandra, R. 2015. Endophytic bacteria: Optimizaton of isolation procedure from various medicinal plants and their preliminary characterization. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(4), 233-238.
- Andriyanto., & Yulianti, E. 2020. Identifikasi Bakteri Probiotik Pada Saluran Pencernaan Ikan Semah (*Tor sp.*) *Jurnal pendidikan biologi dan sains*. 3(2): 120-131. ISSN:2598-7453. DOI: 10.31539/bioedusains.v3i2.1804.
- Bhore, S.J. & Sathisa, G. 2010. Screening of Endophytic Colonizing Bacteria For Cytokinin-like Compounds: Curde Cell-Free Broth of Endophytic Colonizing Bacteria is Unsuitable in Cucumber Cotyledon Bioassay. *World J. Agric. Sci.* 6(4): 345-352.
- Fatimawali. 2013. Identifikasi Mikrobiologi dan Analisis Gen 16 Rrna Bakteri Resisten Merkuri Isolat S3.2.2. yang Diperoleh Dari Limbah Tambang Rakyat. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT, 2(4).
- Habsari, L., Endang Sulistyarini G., M. Yusuf N., Marlinda Nilam S. R., Ahmad S. P. 2023. Fin Fruit Endophyte Bacteria Produces The Enzymes Amylase, Lipase, Protease, Cellulase. *Journ of biosciences*. ISSN 2443-1230. 8 (3) : 172-185.

- Ingratubun, J.A., Ijong, F.G., & Onibala, H. 2013. Isolation and Identification of Lactid Acid Bavteria in Bakasang as Fermented Microbe Starter. *Jurnal aquatic science & management*. Edisi khusus (1):48-56. ISSN:2337-4403. DOI: 10.35800/jasm.0.0.2013.2278.
- Jasmine, R., Manikandan, K., Brinda, N., Kalviani, T., & Manikandan, G. 2014. Evaluating The Efficiency of *Ficus carica* Fruits Against a Few Drug Resistant Bacterial Pathogens. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, Vol.3 : 1394-1400.
- Leonita, S., Maria Bintang., Fachriyan Hasmi P. 2015. Isolation and Identification of Endophytic Bacteria from *Ficus variegata* Blume as Antibacterial Compounds Producer. *Curent Biochemistry* 2(3): 116-128.
- Paarakh, P. M. 2009. *Fiscus racemosa* Linn : An Overview. *Nat Prod Radiance*. 8: 84-90.
- Priscilla LeMone, Bauldoff, Gerene, Karen M. Burke,.2016. *Keperawatan Medikal Bedah* (Ed. 5).Jakarta: EGC.
- Pattuju, S.M., Fatimawali., & Manampiring,A. 2014. Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urine, Feses dan Kalkulus Gigi pada Individu di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal e-biomedik*. 2(2): 52. DOI:10.30649/obj.v2i2.28.
- Purwanto, U.M.S., F.H. Pasaribu, M. Bintang. 2014. Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan POTENSINYA Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry* 1(1) :51-57. E-ISSN : 2355-7877.
- Rahimah, DD, & Pujiastuti, E. 2016. Fig Fruit Bussiness Prospect. Tribus Wardaya: Jakarta.
- Rahmatullah, W., Novianti, E., & Sari, ADL. 2021. Identification of Airborne Bacteria Using Gram Staining Techniques. *Bhakti Setya Medica Journal of Health Sciences*, Vol, 6(2) : 8391. <https://www.jurnal.poltekkesb>.
- Rondunuwu, G., Kepel, B.J., & Widhi, B.2014. Gambaran Bakteri Resistensi Hgcl2 Dan Fenil Merkuri yang di Ambil dari Feses, Urin, dan Karang Gigi pada Individu yang Tinggal di Daerah Pesisir Pantai di Desa Kema II. *Jurnal e-biomedik*. 2(3). DOI: 10.35790/ebm.v2i3.6007.
- Sardiani, N., Litaay, M., Budji, R. G., Priosambodo, D., Syahribulan, & Dwyana, Z. 2015. Potensi Tunikata Rhopaleae sp. Sebagai Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri 1. Karakteristik Isolat. *Jurnal Alam dan Lingkungan*, 6 (11).
- Siregar, S. G., & Ahmad S., S., P. 2025. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit pada Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan Potensi Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *BIO-CONS: Jurnal Biolodi dan Konservasi*. 7(1):82-90. p-ISSN: 2620-3510, e-ISSN: 2620-3529. DOI:<https://doi.org/10.31537/biocons.v7il.2196>.
- Sriwati, E., & Anitasari, D. S. 2019. Potensi Daun Tembelek (*Lantana camara* L.) untuk Sediaan Krim Wajah. *BIO-CONS: Jurnal Biologi dan Konvservasi*, 1(2) : 83-88.