



AKTIVITAS ENZIM AMILASE, LIPASE DAN PROTEASE PADA PROBIOTIK INDIGENUS KELOMPOK *Lactobacillus casei*

AMYLASE, LIPASE AND PROTEASE ACTIVITY IN *Lactobacillus casei* GROUP INDIGENOUS PROBIOTICS

Nur Kusmiyati^{1*}, Cici Rafita Sari², Ulfah Utami²

¹Jurusan Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya,
Jl. Veteran, Lowokwaru, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

²Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang,
Jl. Gajayana No.50, Dinoyo, Lowokwaru, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

*Corresponding author: nurkusmiyati@ub.ac.id

Naskah Diterima: 19 April 2019; Direvisi: 10 Agustus 2023; Disetujui: 13 Oktober 2023

Abstrak

Amilase, lipase, dan protease merupakan biokatalisator yang dapat digunakan untuk mempermudah penyerapan nutrisi dalam saluran pencernaan. Enzim tersebut dapat diproduksi oleh bakteri indigenus. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease pada probiotik indigenus kelompok *Lactobacillus casei* (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, dan *Lactobacillus rhamnosus*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini dimulai dari menumbuhkan bakteri uji pada media selektif amilase, lipase, dan protease. Selanjutnya analisis aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease yaitu penghitungan zona bening dan indeks aktivitas enzim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga spesies memiliki aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease, yang ditandai dengan zona bening di sekitar koloni. Indeks hidrolisis menunjukkan kelompok *L. casei* menghasilkan nilai beragam dan menunjukkan reaksi kuat. Indeks hidrolisis aktivitas protease tertinggi dihasilkan oleh *L. rhamnosus* memiliki indeks hidrolisis aktivitas protease tertinggi (3,36 mm), *L. casei* indeks hidrolisis aktivitas amilase tertinggi (1,76 mm), dan *L. paracasei* memiliki indeks hidrolisis aktivitas lipase tertinggi (1,82 mm). Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa kelompok *L. casei* dapat dimanfaatkan sebagai sumber enzim untuk meningkatkan kesehatan sistem pencernaan.

Kata kunci: Amilase; *Lactobacillus casei*; Lipase; Protease

Abstract

Amylase, lipase and protease are biocatalysts that can be used to facilitate the absorption of nutrients in the digestive tract. These enzymes can be produced by indigenous bacteria. This study aims to analyze the activity of amylase, lipase, and protease enzymes in the indigenous probiotics of the *Lactobacillus casei* group (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, and *Lactobacillus rhamnosus*). The method used in this study started with growing the test bacteria on amylase, lipase, and protease selective media. Furthermore, analysis of the activity of amylase, lipase, and protease enzymes, namely the calculation of the clear zone and the index of enzyme activity. The results showed that the three species had amylase, lipase, and protease enzyme activity, which was indicated by a clear zone around the colony. The hydrolysis index showed that the *L. casei* group produced various values and showed a strong reaction. *L. rhamnosus* had the highest hydrolysis index of protease activity (3.36 mm), *L. casei* had the highest hydrolysis index of amylase activity (1.76 mm), and *L. paracasei* had the highest hydrolysis index of lipase activity (1.82 mm). Based on this, it can be concluded that the *L. casei* group can be used as a source of enzymes to improve the health of the digestive system.

Keywords: Amylase; *Lactobacillus casei*; Lipase; Protease

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v18i2.25724>

PENDAHULUAN

Perubahan gaya hidup dan pola konsumsi makanan banyak menimbulkan masalah kesehatan seperti gangguan saluran pencernaan sehingga dapat mengganggu penyerapan nutrisi. Menurut Montoro-Huguet et al. (2021), pemberian enzim seperti amilase, lipase, dan protease dapat mempermudah penyerapan nutrisi. Enzim tersebut akan menghidrolisis senyawa kompleks (karbohidrat, lipid, dan protein) menjadi senyawa sederhana sehingga dapat diserap tubuh dengan mudah (Vachher et al., 2021). Menurut Yuan et al. (2017), aktivitas amilase, lipase, dan protease memiliki potensi untuk memperbaiki efisiensi pencernaan dan penyerapan makanan.

Produksi enzim amilase, lipase, dan protease di Indonesia masih terbatas sehingga upaya untuk meningkatkan produksi dapat diperoleh dari bakteri indigenus. Beberapa spesies bakteri asam laktat (BAL) penghasil amilase dan protease adalah *L. brevis*, *L. pentosus*, *L. plantarum* yang diperoleh dari hasil isolasi fermentasi zaitun dalam air garam (Abouloifa et al., 2020), *L. plantarum* dan *L. brevis* yang diisolasi dari roti gandum Bulgaria (Petkova et al., 2021), *L. paracasei* KK 008 dan KK 160 yang diisolasi dari kotoran anak babi sehat (Marchwińska & Gwiazdowska, 2022), dan lipase diperoleh dari *L. casei* yang ditumbuhkan pada media natrium agar yang diperkaya minyak zaitun (Rizky et al., 2017).

Lactobacillus merupakan genus terbesar dan paling beragam dalam kelompok BAL. Menurut Hill et al. (2018), kelompok *Lactobacillus casei* yang terdiri dari *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, dan *Lactobacillus rhamnosus* merupakan salah satu dari beberapa spesies *Lactobacillus* yang banyak diteliti karena berpotensi sebagai probiotik. Kelompok *L. casei* hasil isolasi dari air susu ibu (ASI) bersifat probiotik sehingga dapat memberikan dampak menyehatkan pada individu karena mampu meningkatkan keseimbangan mikroba yang menguntungkan dalam saluran pencernaan. Pemberian probiotik dapat menyeimbangkan mikrobiota intestinal dan menjadi terapi potensial dalam mengatasi gejala dan gangguan pencernaan (Kumar et al., 2020). Selain itu, probiotik yang memiliki aktivitas enzimatis dapat membantu inang dalam proses pencernaan makanan.

Aktivitas enzim bakteri dapat diketahui dengan melihat ada atau tidaknya zona hidrolisis di sekitar koloni. Zona hidrolisis yang terbentuk menunjukkan bahwa isolat dapat menghasilkan enzim ekstraselular seperti amilase, protease, dan lipase (Kusumaningrum et al., 2019). Menurut Yang et al. (2018), makronutrien utama penting yang ditemukan dalam ASI adalah protein, lipid, dan karbohidrat. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya, kelompok *L. casei* yang berasal dari ASI diduga mampu menghasilkan ketiga enzim tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease pada kelompok *L. casei* hasil isolasi dari ASI sebagai sumber enzim untuk memelihara kesehatan sistem pencernaan.

MATERIAL DAN METODE

Pembuatan Media Selektif Amilase, Lipase, dan Protease

Pembuatan media selektif Amilase, Lipase dan Protease dilakukan dengan mengikuti metode yang telah dilakukan oleh Kusmiyati et al. (2022). Media selektif amilase menggunakan bahan yang mengandung pati 1%, kemudian dibuat dengan menggunakan media mMRSA (Unban et al., 2017). Media selektif lipase menggunakan bahan yang mengandung lemak dari minyak zaitun 2%, dan dibuat dengan media mMRSA (Agustina et al., 2022). Media selektif protease menggunakan protein dari susu skim 3%, dan dibuat dengan menggunakan media mMRSA (Yip et al., 2021). Setiap media diatur tingkat keasamannya (pH 7) dan disterilisasi. Media yang sudah tercampur dituang di cawan petri steril sebanyak 25 mL dan ditunggu sampai padat. Selanjutnya media-media tersebut dapat digunakan untuk analisis aktivitas enzim.

Pembuatan Larutan Standar McFarland 0,5 dan Pengukuran Jumlah Bakteri Berdasarkan Metode Turbidity (Spektrofotometri)

Larutan standar McFarland 0,5 unit dibuat dari larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Metode yang digunakan berdasarkan penelitian Rosmania dan Yanti (2020). Sebanyak 0,05 mL larutan BaCl₂ 1% dimasukkan ke dalam tabung reaksi tutup ulir. Selanjutnya, ditambahkan Larutan H₂SO₄ 1%. sebanyak 9,95 mL. Larutan divortex sampai tercampur sempurna. Larutan disimpan dalam lemari pendingin dan siap digunakan untuk penelitian.

Disiapkan larutan standar McFarland 0,5 unit dan suspensi bakteri uji yang diukur nilai absorbannya. Jika nilai absorbansi suspensi bakteri uji lebih besar, maka dilakukan pengenceran menggunakan NaCl 0,9% sehingga didapatkan nilai absorbansi suspensi uji sama dengan larutan standar McFarland yaitu 0,08–0,1 pada panjang gelombang 625 nm. Jumlah bakteri yang sudah memenuhi standar kekeruhan McFarland selanjutnya digunakan untuk analisis aktivitas enzim.

Analisis Aktivitas Amilase, Lipase, dan Protease

Setiap cawan petri yang berisi media mMRSA selektif amilase, mMRSA selektif lipase, dan mMRSA selektif protease dibagi menjadi empat bagian. Di setiap bagian dibuat lubang sumuran menggunakan *blue tip*. Sebanyak 10 µL spesies kelompok *L. casei* (*L. casei*, *L. paracasei*, dan *L. rhamnosus*) umur 24 jam dan kontrol negatif diletakkan dalam lubang sumuran menggunakan mikropipet (Mangia et al., 2021). Pada uji amilase, ditetesi iodine dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam, sedangkan pada uji protease dan lipase dilakukan inkubasi suhu 30 °C selama 96 jam (Yip et al., 2021; Unban et al., 2017; Dincer & Kivang, 2018). Setiap cawan diamati zona bening yang terbentuk. Zona bening diukur diameternya menggunakan jangka sorong dengan cara membandingkan zona bening terhadap ukuran koloni. Zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran menandakan bahwa spesies tersebut bisa menghasilkan enzim amilase, lipase, dan protease (Unban et al., 2017; Agustina et al., 2022; Yip et al., 2021).

Zona bening yang terbentuk digunakan untuk menentukan indeks aktivitas enzim (IAE). IAE digunakan untuk mengetahui tingkat kemampuan setiap spesies dalam menghidrolisis substrat. Menurut Alkahfi et al. (2021), rumus perhitungan indeks aktivitas enzim adalah sebagai berikut $\text{indeks aktivitas enzim} = \frac{DZ-DC}{DK}$. DC= diameter koloni (mm); DZ= diameter zona bening (mm).

Analisa Data

Data indeks aktivitas enzim diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas menggunakan *Levene Test*. Apabila data yang diuji normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika sidik ragam pada data memberikan perbedaan nyata, maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf $\alpha = 5 \%$.

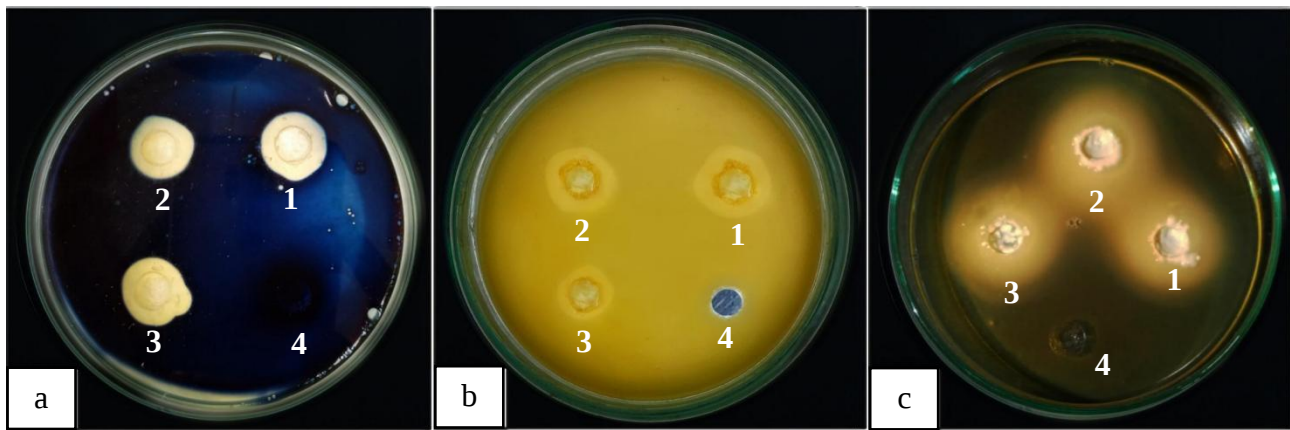
HASIL

Aktivitas Amilase, Lipase dan Protease Kelompok *Lactobacillus casei*

Kelompok *Lactobacillus casei* digunakan dalam proses fermentasi produk susu dan seringkali menghasilkan makanan dengan rasa dan tekstur yang lebih baik sehingga disukai oleh konsumen. Secara taksonomi, kelompok *L. casei* berkerabat dekat dengan beberapa spesies lainnya seperti *L. paracasei*, dan *L. rhamnosus*. sehingga karakter masing-masing spesies sulit dibedakan antara satu dengan yang lainnya. Kelompok *L.* memiliki aktivitas katalitik untuk menghasilkan enzim amilase, lipase, dan protease. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening atau hidrolisis berwarna bening sampai putih di sekitar koloni pada setiap spesies kelompok *L. casei* (Gambar 1). Kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona bening.

Aktivitas enzim amilase pada bakteri *Lactobacillus casei* terjadi ketika bakteri tersebut ditumbuhkan pada media yang diperkaya dengan pati. Sementara, *Lactobacillus casei* mampu menghasilkan aktivitas lipase ketika ditumbuhkan pada media yang diperkaya minyak zaitun, dan aktivitas protease pada *Lactobacillus casei* muncul ketika ditumbuhkan pada media diperkaya dengan susu skim.

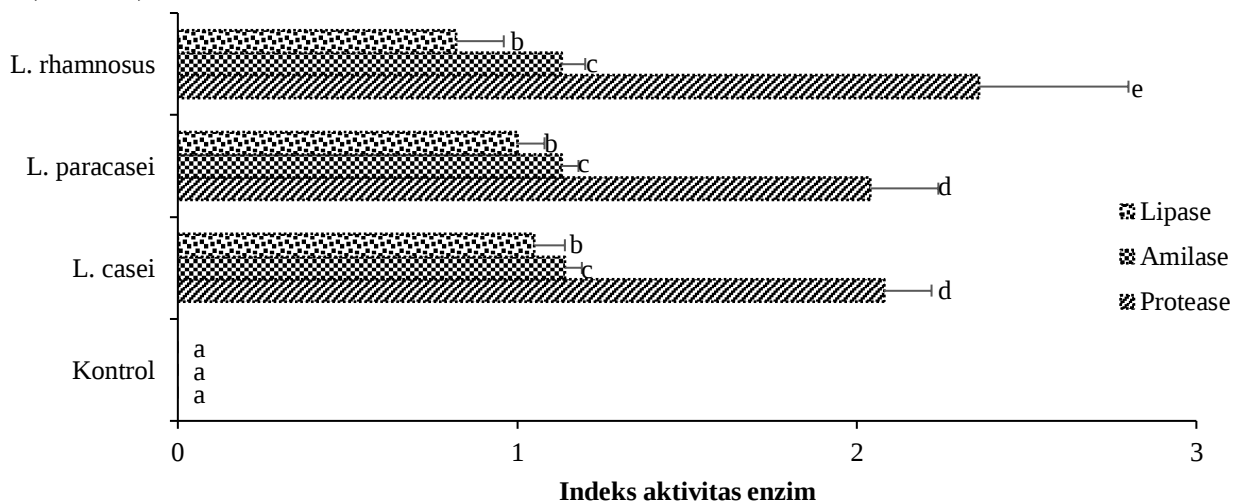
Zona bening yang dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* memiliki beberapa variasi. Spesies *L. casei* memiliki kemampuan menghidrolisis lebih baik dibandingkan *L. paracasei* dan *L. rhamnosus* pada media yang diperkaya pati dan minyak zaitun. Hal ini menyebabkan zona bening yang terbentuk pada media selektif enzim amilase dan lipase lebih besar daripada *L. paracasei* dan *L. rhamnosus*. Aktivitas enzim protease pada kelompok *Lactobacillus casei* menunjukkan hal yang berbeda. Spesies *L. rhamnosus* memiliki kemampuan menghidrolisis susu skim pada media selektif protease lebih baik dari *L. casei* dan *L. paracasei*. Kemampuan tersebut menyebabkan zona bening yang dibentuk oleh *L. paracasei* pada media selektif enzim protease lebih besar dibandingkan dengan kelompok *L. casei*.



Gambar 1. Zona bening kelompok *L. casei* pada media selektif adalah amilase (a), lipase (b), protease (c). Keterangannya adalah *L. casei* (1), *L. paracasei* (2), *L. rhamnosus* (3), dan kontrol negatif (4)

Indeks Aktivitas Amilase, Lipase dan Protease Kelompok *Lactobacillus casei*

Nilai indeks aktivitas amilolitik, lipolitik, dan proteolitik kelompok *L. casei* digunakan untuk mengetahui besarnya aktivitas total enzim amilase, lipase, dan protease pada kelompok *L. casei*. Nilai indeks amilolitik, lipolitik, dan proteolitik disajikan pada Gambar 2. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai indeks aktivitas amilolitik tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *L. casei* (1,76 mm), Sementara nilai indeks aktivitas lipolitik tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *L. paracasei* (1,82 mm), dan nilai indeks aktivitas proteolitik tertinggi ditunjukkan oleh bakteri *L. rhamnosus* (3,36 mm). Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan nilai indeks amilolitik dan proteolitik pada ketiga spesies kelompok *L. casei* ($P > 0,05$), Namun nilai indeks aktivitas lipolitik *L. rhamnosus* menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan *L. paracasei* dan *L. casei* ($P < 0,05$).



Gambar 2. Indeks amilolitik, lipolitik, dan proteolitik kelompok *Lactobacillus casei*. Superskrip yang berbeda menunjukkan perbandingan rata-rata yang berbeda signifikan ($P < 0,05$)

Indeks aktivitas merupakan hasil perhitungan dari zona hambat yang dihasilkan oleh setiap spesies pada kelompok *L. casei*. Uji lanjut DMRT menunjukkan nilai aktivitas enzim tidak berbanding lurus dengan indeks aktivitas. *Lactobacillus casei* memiliki indeks amilolitik dan lipolitik tertinggi tetapi tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$), sedangkan indeks proteolitik tertinggi dimiliki oleh *L. rhamnosus* dan berbeda signifikan dengan spesies yang lain ($P < 0,05$).

PEMBAHASAN

Kelompok *L. casei* memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim ekstraseluler amilase. Hasil penelitian ini sesuai dengan Khusniati et al. (2018) dimana *L. bulgaricus* FNCC 004P

mempunyai aktivitas enzim amilase dengan munculnya zona bening pada media agar yang diperkaya pati pada berbagai substrat seperti amilum, gandum, tapioca, dan taka. Hal serupa juga ditunjukkan oleh penelitian Hattingh et al. (2015) dimana *L. plantarum* B.S1.6, *L. plantarum* A.S1.2, dapat menghasilkan zona bening ketika ditumbuhkan pada MRS starch. Menurut Rori et al. (2020), reaksi enzim ekstraseluler menunjukkan reaksi kuat jika rasio enzim ekstraseluler lebih dari atau sama dengan dua dan reaksi sedang jika rasio enzim ekstraseluler memiliki nilai antara satu sampai dua.

Pati yang telah terhidrolisis akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri tersebut untuk menghasilkan enzim amilase ekstraseluler (Adnan et al., 2017). Amilase ekstraseluler merupakan enzim yang disekresikan oleh bakteri untuk memecah amilum yang berada di luar sel kemudian dimanfaatkan kembali oleh sel bakteri sebagai sumber energi dalam berbagai aktivitas pertumbuhan (Kiti et al., 2020). Nilai indeks aktivitas amilolitik ini merupakan seleksi awal dalam menentukan adanya aktivitas enzim amilase pada suatu bakteri (Melisha et al., 2016). Secara umum, semua bakteri memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim intraseluler, namun hanya beberapa yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler.

Kelompok *L. casei* dapat menghidrolisis minyak zaitun menjadi asam lemak yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media selektif lipase. Asam palmitat dalam minyak zaitun akan dihidrolisis oleh enzim lipase menjadi asam lemak bebas yang berwarna kuning pada media selektif lipase (Suciati et al., 2016). Minyak zaitun berfungsi sebagai inducer untuk aktivitas enzim lipase. Selain sebagai inducer, minyak zaitun juga berperan sebagai sumber karbon bagi bakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Bestari dan Suharjono (2015) yang mengatakan bahwa minyak zaitun digunakan sebagai substrat lipid serta sumber karbon untuk pertumbuhan bakteri. Menurut Rizky et al. (2017), kemampuan bakteri dalam mensekresikan enzim ekstraseluler merupakan mekanisme adaptasi bakteri terhadap lingkungan tempat tumbuh. Lemak yang terdapat pada lingkungan akan dimanfaatkan oleh bakteri untuk mensekresikan lipase ekstraseluler dalam memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol (Rizky et al., 2017).

Menurut Dincer dan Kivang (2018), *L. plantarum* 16, 25, 150, 154; *L. sakei* 5, 28, dan *L. delbrueckii* 156 mampu menghasilkan zona bening ketika ditumbuhkan pada tributyrin agar yang merupakan media agar yang diperkaya lipid dimanahasil tersebut menunjukkan adanya aktivitas lipolitik yang dihasilkan oleh *L. plantarum* 16, 25, 150, 154; *L. sakei* 5, 28, dan *L. delbrueckii* 156. Menurut Mejri dan Hassouna (2016), *L. plantarum* mampu menghasilkan zona bening ketika ditumbuhkan pada substrat lipid (tributyrin dan tween). Menurut Yalcinkaya dan Kilic (2019) menunjukkan bahwa *L. acidiphiscis* Z2A, Z6A, Z49A; *L. plantarum* Z17A, Z20A, Z23A dapat menghasilkan zona bening pada substrat yang sama.

Kelompok *L. casei* memiliki aktivitas proteolitik dengan cara menghidrolisis kasein. Kasein akan terhidrolisis menjadi peptida-peptida dan asam amino larut (Adnan et al, 2017), dan berfungsi sebagai substrat (Hastuti et al., 2017). Sementara itu pada aktivitas proteolitik, kelompok *L. casei* juga memiliki aktivitas koagulasi (penggumpalan) di sekitar koloninya. Ciri-ciri penggumpalan di sekitar koloni menunjukkan adanya indikasi bahwa protease yang dihasilkan memiliki kemampuan untuk menggumpalkan susu yang ditandai dengan dua karakter, yaitu (1) terbentuk pola zona bening di sekitar koloni dan (2) menunjukkan penggumpalan tetapi tidak ada zona bening yang terbentuk di sekitar koloni.

Menurut Wirawati dan Widodo (2021), isolat bakteri yang mempunyai aktivitas proteolitik dapat diketahui dengan adanya zona bening pada media agar diperkaya susu skim antara lain ditemukan pada spesies *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*. Hal yang sama ditunjukkan oleh penelitian Meng et al. (2018) dimana *Lactobacillus paracasei* DII3Sac KY287768.1, *Lactobacillus paracasei* DB8 JQ680434.1, *Lactobacillus paracasei* SK04B2 KJ764645.1, *Lactobacillus rhamnosus* SN6 KP296679.1, *Lactobacillus rhamnosus* LS8 KJ152776.1, dan *Lactobacillus rhamnosus* KLAB7 KM497507.1 mampu menghasilkan zona bening.

Adanya aktivitas penggumpalan menunjukkan bahwa ketiga spesies kelompok *L. casei* tersebut berpotensi untuk menghasilkan *Rennin Like Protease* (RLP). RLP merupakan enzim protease yang memiliki karakteristik seperti *rennin* yang dihasilkan oleh anak sapi. *Rennin* memiliki kemampuan

untuk menggumpalkan susu dengan memutus ikatan peptida antara fenilalanin dan metionin dari polipeptida kasein untuk menghasilkan para-k-kasein dan makropeptida. Makropeptida yang dihasilkan dari pemotongan akan larut dalam air, sedangkan kasein akan mengendap karena ikatan fenilalanin dan metionin terputus (Putranto et al., 2020).

Bakteri memiliki aktivitas proteolitik yang tinggi pada fase logaritmik karena sel berada dalam kondisi optimum untuk metabolisme dan perkembangbiakan (Mahdiyah, 2015). Penelitian ini menunjukkan ketiga isolat bakteri uji memiliki pertumbuhan yang cepat pada waktu 48 jam inkubasi sehingga pada waktu tersebut dikatakan bakteri sudah mencapai fase logaritmik/eksponensial dan memiliki aktivitas protease tertinggi. Menurut Asril dan Leksikowati (2019), kecepatan pembelahan diri bakteri selama fase logaritmik bersifat spesifik bergantung pada jenis bakteri dan faktor lingkungan seperti suhu serta pH. Hasil dari penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut mampu menghasilkan protease karena pengaruh media yang digunakan, pH media, dan suhu pertumbuhan yang sesuai.

Nilai indeks proteolitik kelompok *L. casei* cukup kuat karena zona bening yang dihasilkan cukup besar yaitu sekitar 30–37 cm. Hasil penelitian ini lebih baik jika dibandingkan penelitian Moslehisad et al. (2013) yang menunjukkan bahwa 232solate *L. rhamnosus* PTCC 1637, *L. casei* PTCC 1608, *L. fermentum* PTCC 1638, *L. plantarum* PTCC 1058, *L. acidophilus* PTCC 1643, *L. delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* PTCC 1333, dan *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* PTCC 1737 memiliki nilai indeks proteolitik sebesar 1,2. Nilai indeks amilolitik kelompok *L. casei* juga cukup tinggi apabila dibandingkan dengan penelitian terdahulu. Menurut Moradi et al. (2014), bahwa 232solate *Bacillus cereus* memiliki nilai indeks amilolitik sebesar 1,3, sedangkan *B. Amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, dan *P. lautus* sebesar 1,2. Sedangkan nilai indeks lipolitik kelompok *L. casei* cukup rendah apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Menurut Rizky et al. (2017), *L. coryniformis*, *L. casei*, dan *S. lactis* memiliki nilai indeks lipolitik masing-masing sebesar 1,4, 1,44, dan 1,38.

Perbedaan nilai indeks aktivitas enzim dapat disebabkan oleh enzim yang diekskresikan oleh setiap spesies bakteri memiliki potensi yang berbeda untuk menguraikan substrat dalam media pertumbuhan (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017). Menurut Kartika dan Ibrahim (2021), nilai indeks aktivitas enzim berbeda karena perbedaan spesies. Alkahfi et al. (2021), menegaskan apabila setiap isolat bakteri memiliki mekanisme yang berbeda dalam menghidrolisis substrat, maka akan menghasilkan perbedaan nilai indeks enzim yang dihasilkan. Penelitian ini menunjukkan kelompok *L. casei* hasil isolasi dari Air Susu Ibu (ASI) memiliki aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease ketika diujikan dalam media uji.

SIMPULAN

Kelompok *L. casei* yang terdiri dari *L. casei*, *L. paracasei*, dan *L. rhamnosus* memiliki aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Kelompok *L. casei* menunjukkan reaksi kuat dalam menghasilkan enzim ekstraseluler protease, akan tetapi menunjukkan reaksi sedang dalam menghasilkan enzim ekstraseluler amilase dan lipase. *L. casei* memiliki indeks amilolitik dan lipolitik tertinggi, sedangkan *L. rhamnosus* memiliki indeks proteolitik tertinggi. Kelompok *L. casei* hasil isolasi dari ASI dapat dimanfaatkan sebagai sumber enzim baru untuk memelihara dan meningkatkan kesehatan sistem pencernaan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang yang telah memfasilitasi kegiatan penelitian dan Fakultas Teknologi Pertanian yang memberikan dana Penelitian melalui program PNPB 2023.

REFERENSI

Abouloifa, H., Rokni, Y., Bellaouchi, R., Hasnaoui, I., Gaamouche, S., Ghabbour, N., ... Asehrou, A. (2020). Technological properties of potential probiotic *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermenting green olive. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(5), 884-889. doi: 10.15414/jmbfs.2020.9.5.884-889.

- Adnan, N. S., Wahyuni, S., & Khaeruni, A. (2017). Pengujian sifat amilolitik dan proteolitik dari isolat bakteri asam laktat (bal) hasil fermentasi air cucian beras merah (*Oryza nivara*) kultivar Wakawendu. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 2(5), 759-769. doi: 10.33772/jstp.v2i5.3736.
- Agustina, A., Saptiani, G., & Hardi, E. H. (2022). Isolation and identification of potential lactic acid bacteria as probiotics from the intestines of repang fish (*Puntioplites waandersi*). *AACL Bioflux*, 15(1), 24-33.
- Alkahfi, F., Adiartayasa, W., & Wirawan, I. G. P. (2021). Isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik pada sampah organik di TPA Suwung Denpasar. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 10(2), 153-160.
- Asril, M., & Leksikowati, S. S. (2019). Isolasi dan seleksi bakteri proteolitik asal limbah cair tahu sebagai dasar penentuan agen pembuatan biofertilizer. *Elkawanie: Journal of Islamic Science and Technology*, 5(2), 86-99. doi: 10.22373/ekw.v5i2.4356.
- Bestari, N. C., & Suharjono. (2015). Activity assay and identification of lipolytic bacteria from wastewater fish industry at District Muncar, Banyuwangi Indonesia. *International Journal of ChemTech Research*, 8(11), 377-383.
- Dincer, E., & Kivang, M. (2018). Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from Turkish pastirma. *Anadolu University Journal of Science and Technology C- Life Sciences and Biotechnology 2018*, 7(1), 12-19. doi: 10.18036/aubtdc.306292.
- Hastuti, U. S., Nugraheni, F. S. A., & Al-Asna, P. M. (2017). Identifikasi dan penentuan indeks hidrolisis protein pada bakteri proteolitik dari tanah mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference*, 14(1), 265-270.
- Hattingh, M., Alexander, A., Meijering, Van-Reenen, C. A., & Dicks, L. M. T. (2015). Amylolytic strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from barley. *African Journal of Biotechnology*, 14(4), 310-318. doi: 10.5897/AJB2014.14149.
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* group: History and health related applications. *Frontiers in Microbiology*, 9(2107), 1-12. doi: 10.3389/fmicb.2018.02107.
- Kartika, I. N., & Ibrahim, M. (2021). Efek manipulasi pH pada aktivitas enzim selulase bakteri *Bacillus subtilis* strain fncc 0059 dalam mendegradasi selulosa. *Jurnal Lentera Bio*, 10(1), 51-57. doi: 10.26740/lenterabio.v10n1.p51-57.
- Khusniati, T., Ansya, F. F. Al., & Gangga, E. (2018). The contents of glucose and lactic acid in tube paste flour additional amylolytic *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 004P and *Streptococcus thermophilus* FNCC 1.9.03. *AIP Conference Proceedings 2002*, 020065(2018), 1-7. doi: 10.1063/1.5050161.
- Kiti, A. A., Jamilah, I., & Rusmarilin, H. (2020). Studi kualitatif aktivitas amilolitik bakteri asam laktat yang diisolasi dari pangan tradisional Aceh pliek u. *Health and Contemporary Technology Journal*, 1(1), 5-9.
- Kumar, V. V., Sudha, K. M., Bennur, S., & Dhanasekar, K. R. (2020). A prospective, randomized, open-label, placebo-controlled comparative study of *Bacillus coagulans* gbi-30,6086 with digestive enzymes in improving indigestion in geriatric population. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9(1), 1108-1112. doi: 10.4103/jfmpc.jfmpc.
- Kusmiyati, N., Wicaksono, S. T., Sukarno, A. S. (2022). Isolation and characterization of probiotic lactic acid bacteria from human breast milk. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 21(2), e1053. doi: 10.36547/nbc.1053.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I. B. W., & Wijaya, I. M. M. (2019). Optimasi suhu dan ph terhadap aktivitas enzim endoglukanase menggunakan response surface methodology (rsm). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(2), 243-253. doi: 10.24843/JRMA.2019.v07.i02.p08.
- Mahdiyah, D. (2015). Isolasi bakteri dari tanah gambut penghasil enzim protease. *Jurnal Pharmascience*, 2(2), 71-79.
- Mangia, N. P., Cottu, M., Mura, M. E., Murgia, M. A., & Blaiotta, G. (2021). Technological parameters, anti-listeria activity, biogenic amines formation and degradation ability of *L.*

- Plantarum* strains isolated from sheep-fermented sausage. *Microorganisms*, 9(9). doi: 10.3390/microorganisms9091895.
- Marchwińska, K., & Gwiazdowska, D. (2022). Isolation and probiotic potential of lactic acid bacteria from swine feces for feed additive composition. *Archives of Microbiology*, 204(61), 1-21. doi: 10.1007/s00203-021-02700-0.
- Mejri, L., & Hassouna, M. (2016). Characterization and selection of *Lactobacillus plantarum* species isolated from dry fermented sausage reformulated with camel meat and hump fat. *Applied Biological Chemistry*, 59(4), 533-542. doi:10.1007/s13765-016-0192-5.
- Melisha., Harpeni, E., & Supono. (2016). Produksi dan pengujian aktivitas amilase *Burkholderia cepacia* terhadap substrat yang berbeda. *E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 5(1), 549-566.
- Meng, Z., Zhang, L., Xin, L., Lin, K., Yi, H., & Han, X. (2018). Technological characterization of *Lactobacillus* in semihard artisanal goat cheeses from different Mediterranean areas for potential use as nonstarter lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 2887-2896. doi: 10.3168/jds.2017-14003.
- Montoro-Huguet, M. A., Belloc, B., & Domínguez-Cajal, M. (2021). Small and large intestine (i): Malabsorption of nutrients. *Nutrients*, 13(4), 1-36. doi: 10.3390/nu13041254.
- Moradi, M., Shariati, P., Tabandeh, F., Yakhchali, B., & Khaniki, G. B. (2014). Screening and isolation of powerful amylolytic bacterial strains. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(2), 758-768.
- Moslehishad, M., Mirdamadi, S., Ehsani, M. R., Ezzatpanah, H., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2013). The proteolytic activity of selected lactic acid bacteria in fermenting cow's and camel's milk and the resultant sensory characteristics of the products. *International Journal of Dairy Technology*, 66(2), 279-285. doi: 10.1111/1471-0307.12017.
- Murtiyaningsih, H., & Hazmi, M. (2017). Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik asal tanah sampah, *Agritrop*, 15(2), 293-308.
- Petkova, M., Stefanova, P., Gotcheva, V., & Angelov, A. (2021). Isolation and characterization of lactic acid bacteria and yeasts from typical Bulgarian sourdoughs. *Microorganisms*, 9(7), 1-18. doi: 10.3390/microorganisms9071346.
- Putranto, W., Mustopa, A., Mamangkey, J., & Aritonang, N. (2020). Characteristics of curds with milk clotting enzyme from Indonesian local isolate of lactic acid bacteria. *International Journal of Science, Technology & Management*, 1(2), 79-86. doi: 10.46729/ijstm.v1i2.18.
- Rizky, M. Y., Fitri, R. D., Hastuti, U. S., & Prabaningtyas, S. (2017). Identifikasi uji kemampuan hidrolisis lemak dan penentuan indeks zona bening asam laktat pada bakteri dalam wadi makanan tradisional Kalimantan Tengah. *Jurnal Bionature*, 18(2), 87-98. doi: 10.35580/bionature.v18i2.6137.
- Rori, C. A., Kandou, F. E. F., & Tangapo, A. M. (2020). Aktivitas enzim ekstraseluler dari bakteri endofit tumbuhan mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos*, 10(2), 48. doi: 10.35799/jbl.11.2.2020.28338.
- Rosmania., & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86.
- Suciati, P., Tjahjaningsih, W., Masithah, E. D., & Pramono, H. (2016). Aktivitas enzimatis isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan kepiting bakau (*Scylla* spp.). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 8(2), 94-108. doi: 10.20473/jipk.v8i2.11182.
- Unban, K., Kanpiengjai, A., Takata, G., Uechi, K., Lee, W. C., & Khanongnuch, C. (2017). Amylolytic enzymes acquired from L-lactic acid producing *Enterococcus faecium* K-1 and improvement of direct lactic acid production from cassava starch. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183, 155-170. doi: 10.1007/s12010-017-2436-1.
- Vachher, M., Sen, A., Kapila, R., & Nigam, A. (2021). Microbial therapeutic enzymes: A promising area of biopharmaceuticals. *Current Research in Biotechnology*, 3, 195-208. doi: 10.1016/j.crbiot.2021.05.006.
- Wirawati, C. U., & Widodo, Y. R. (2021). Kajian aktivitas antimikroba dan proteolitik bakteri asam

- laktat isolat dadih: Susu kerbau fermentasi alami dari Sumatera Barat, Indonesia. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 9(3), 346-361. doi: 10.23960/jipt. v9i3.p346-361.
- Yalcinkaya, S., & Kilic, G. B. (2019). Isolation, identification and determination of technological properties of the halophilic lactic acid bacteria isolated from table olives. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 2027-2037. doi: 10.1007/s13197-019-03679-9.
- Yang, T., Zhang, L., Bao, W., & Rong, S. (2018). Nutritional composition of breast milk in Chinese women: a systematic review. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition: APJCN*, 27(3), 491-502. doi: 10.6133/apjcn.042017.13.
- Yip, C.-H., Mahalingam, S., Wan, K.-L., & Nathan, S. (2021). Prodigiosin inhibits bacterial growth and virulence factors as a potential physiological response to interspecies competition. *PLoS ONE*, 16(6), 1-24. doi: 10.1371/journal.pone.0253445.
- Yuan, L., Wang, M., Zhang, X., & Wang, Z. (2017). Effects of protease and non-starch polysaccharide enzyme on performance, digestive function, activity and gene expression of endogenous enzyme of broilers. *PLoS ONE*, 12(3), 1- 13. doi: 10.1371/journal.pone.0173941.