

## Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Protease pada Ikan Baronang (*Siganus sp.*)

### *Isolation and Molecular Identification of Protease Enzyme-Producing Bacteria in Baronang Fish (Siganus sp.)*

Nurul Hadiatun\*, Ni Nyoman Ariwidiani, Dewa Ayu Astya Pratiwi

Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Bima Internasional MFH, Mataram,  
Nusa Tenggara Barat, Indonesia

\*Email: [nurulhadiatunmnatsir04@gmail.com](mailto:nurulhadiatunmnatsir04@gmail.com)

Naskah diterima: 22 Januari 2024, direvisi: 5 November 2025, disetujui: 25 November 2025

#### Abstract

The need for Protease Enzymes in Indonesia is currently very high, especially in the industrial and health sectors, but Indonesia has not been able to produce these enzymes on a large scale. The use of protease enzymes in the health sector is for the treatment of cardiovascular diseases, blood immune regulators, tumors, inflammation, and blood disorders. One potential source of protease enzymes is the digestive tract of fish because its digestive organs play a role in protein metabolism and hydrolysis, so it contains high amounts of proteolytic enzymes. Baronang fish has an advantage over other fish as a source of protease-producing bacterial isolates, Baronang fish consume macroalgae rich in protein and fiber, so that its intestinal microbiota is more diverse and has the potential to produce higher hydrolytic enzymes. This study aims to obtain protease-producing bacterial isolates in the digestive tract of Baronang fish, namely in the intestine and stomach of Baronang fish. The research method used in this study is exploratory supported by literature reviews and experiments. The bacterial isolates obtained were tested for growth characteristics with Mac Conkey (MC) and Blood Agar Plate (BAP) media. Molecular identification of bacteria was carried out by sequencing using 16S rRNA. Protease enzyme production was carried out on Skim Milk Agar media which was marked by the formation of a clear zone. The results showed that five bacterial isolates were successfully obtained, but only four isolates showed protease activity, namely SSI1, SSI2, SSI4, and SSI5. Based on 16S rRNA analysis, the isolates were identified as *Pseudenterobacter timonensis*, *Ralstonia sp.*, *Aeromonas salmonicida*, and *Stenotrophomonas maltophilia*. These protease-producing bacterial isolates have the potential to be tested further to obtain the type of fibrinolytic protease enzyme which is expected to be a potential candidate for application in the health industry, especially in the development of anticoagulant materials.

**Keywords:** bacteria; gastrointestinal tract; proteolytic activity; *siganus sp.*; 16S rRNA PCR

#### Abstrak

Kebutuhan Enzim Protease di Indonesia saat ini sangat tinggi, khususnya di bidang industri dan Kesehatan namun Indonesia belum mampu memproduksi enzim tersebut dalam skala besar. Pemanfaatan enzim protease dalam bidang Kesehatan yaitu untuk pengobatan penyakit kardiovaskuler, pengatur kekebalan darah, tumor, radang, dan kelainan darah. Salah satu sumber potensial enzim protease adalah saluran pencernaan ikan karena organ pencernaannya berperan dalam metabolisme dan hidrolisis protein sehingga mengandung enzim proteolitik dalam jumlah tinggi. Ikan Baronang memiliki keunggulan dibandingkan ikan lain sebagai sumber isolat bakteri penghasil protease, ikan baronang mengonsumsi makroalga kaya protein dan serat, sehingga mikrobiota ususnya lebih beragam dan berpotensi menghasilkan enzim hidrolitik lebih tinggi. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat bakteri penghasil enzim protease pada saluran pencernaan ikan Baronang yaitu

pada usus dan lambung ikan Baronang. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksploratif yang didukung kajian literatur dan eksperimen. Isolat bakteri yang diperoleh diuji karakteristik pertumbuhan dengan media *Mac Conkey (MC)* dan *Blood Agar Plate (BAP)*. Identifikasi bakteri secara molekuler dilakukan dengan sequencing menggunakan 16S rRNA. Produksi enzim protease dilakukan pada media *Skim Milk Agar* yang ditandai dengan pembentukan zona bening. Hasil penelitian menunjukkan terdapat lima isolat bakteri yang berhasil diperoleh, namun hanya empat isolat yang menunjukkan aktivitas protease, yaitu SSI1, SSI2, SSI4, dan SSI5. Berdasarkan analisis 16S rRNA, isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Pseudenterobacter timonensis*, *Ralstonia* sp., *Aeromonas salmonicida*, dan *Stenotrophomonas maltophilia*. Isolat bakteri penghasil protease ini berpotensi diuji lebih lanjut sehingga diperoleh jenis enzim protease fibrinolitik yang diharapkan dapat menjadi kandidat potensial untuk aplikasi di industri kesehatan, khususnya dalam pengembangan bahan antikoagulan.

**Kata kunci:** Aktivitas Proteolitik; PCR 16S rRNA; Bakteri; Saluran cerna; *Siganus* sp.

## Pendahuluan

Kebutuhan enzim diIndonesia semakin meningkat sekitar 7% setiap tahunnya, pada tahun 2015 – 2020. Hampir 99% kebutuhan enzim diIndonesia masih diimpor dari berbagai negara (Muzaifa *et al.*, 2023). Nilai tersebut cukup besar sehingga menyebabkan harga produksi enzim semakin mahal di Indonesia, Sehingga perlu adanya industri produksi enzim lokal dengan memanfaatkan sumber kekayaan alam Indonesia, diharapkan dapat mengantisipasi ketergantungan terhadap produksi impor tersebut (Susanti *et al.*, 2019). Enzim yang sering digunakan di bidang industri dan kesehatan adalah enzim protease (Fuad *et al.*, 2020 & Dhayalan *et al.*, 2022).

Pemanfaatan enzim protease dalam bidang kesehatan yaitu untuk pengobatan penyakit kardiovaskuler, radang, tumor, pengatur kekebalan darah dan kelainan darah (Zafrida *et al.*, 2024). Tubuh yang mengalami kekurangan enzim protease dapat menyebabkan kekebalan dalam tubuh menjadi menurun dan rentan terhadap infeksi bakteri, virus dan jamur. Enzim protease dapat diproduksi dari jamur (15,08%), hewan (11,15%), alga (7,42%), tumbuhan (43,85%), virus (4,41), dan bakteri (18,09) (Zafrida *et al.*, 2024). Sumber yang paling sering digunakan adalah bakteri, karena mempunyai kelebihan harganya yang lebih murah dan didapat diproduksi dalam jumlah besar dan isolasi enzim relatif mudah (Muzaifa *et al.*, 2023). Salah satu mikroorganisme penghasil enzim protease adalah bakteri proteolitik yaitu bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler yang berfungsi dalam

menghidrolisis protein menjadi lebih sederhana berupa asam-asam amino mendegradasi protein dan menghasilkan protease ekstraseluler (Tayachew *et al.*, 2023).

Beberapa spesies bakteri proteolitik disalurkan pencernaan ikan teridentifikasi sebagai penghasil enzim protease adalah bakteri *Bacillus*, *Proteus*, *Streptobacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Tayachew *et al.*, 2023). Ikan baronang (*Siganus* sp) adalah salah satu jenis ikan yang bernilai ekonomis dan banyak digemari Masyarakat. Selain itu, ikan baronang salah satu jenis ikan yang cepat habis terjual di pasar-pasar tradisional seputar kota Mataram (Lombok). Jenis ikan ini memiliki daging yang kenyal dan dimanfaatkan untuk konsumsi (kesehatan) serta perdagangan lokal dan ekspor (ekonomi) (Gili *et al.*, 2020). Ikan baronang memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi, seperti kandungan Omega-3 yang sangat bermanfaat dalam pencegahan penyakit jantung coroner, diabetes, kanker, dan berperan penting dalam sistem syaraf, otak dan mata (Mahrus & Syukur., 2020). Proporsi daging merupakan komposisi terbesar (45,67%) dengan kadar air 77,95%, kadar protein 15,94%, kadar abu 1,01%, kadar lemak 0,93%, kadar karbohidrat 4,33%, vitamin A 187,27 IU/100 g, dan Vitamin B12 1,40/100 g. Menurut Wahyuningtyas (2015) kulit ikan baronang memiliki kandungan protein sebesar 15,98% (Yulianti, 2024). Selain itu, ikan ini bersifat herbivorous dimana dalam habitatnya di alam, ikan ini memakan rumput laut. Saluran pencernaan ikan berpotensi sebagai sumber enzim protease karena pada isi perut ikan terdapat organ pencernaan yang berfungsi

sebagai sistem metabolisme tempat protein terhidrolisis yang mengandung banyak protease (Dhayalan *et al.*, 2022).

Ikan Baronang diduga memiliki keragaman bakteri proteolitik yang tinggi karena karakteristik biologis dan ekologisnya. Sebagai ikan herbivor, Baronang mengonsumsi rumput laut, epifit, dan biofilm yang mengandung polisakarida kompleks (Tayachew *et al.*, 2023). Selain itu, sistem pencernaan ikan herbivor memiliki rasio panjang usus terhadap tubuh yang lebih besar dibandingkan ikan karnivor, sehingga menyediakan ruang kolonisasi yang lebih luas serta lingkungan fermentatif yang mendukung pertumbuhan bakteri pendegradasi protein (Wei *et al.*, 2021). Habitat Baronang di perairan tropis dangkal yang kaya bahan organik juga memperkaya keanekaragaman mikrobiota, termasuk bakteri halotoleran penghasil protease (Kuddus *et al.*, 2024). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ikan herbivor laut didominasi oleh genus *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, dan *Stenotrophomonas*, yang dikenal sebagai penghasil protease ekstraseluler dengan potensi fibrinolitik (Wei *et al.*, 2021). Minimnya penelitian terkait karakterisasi bakteri proteolitik pada ikan Baronang semakin membuka peluang ditemukannya isolat baru dengan aktivitas enzim yang unik. Oleh karena itu, saluran pencernaan ikan Baronang merupakan sumber yang potensial untuk eksplorasi bakteri proteolitik sebagai penghasil enzim protease (Molloy *et al.*, 2019; Taskesenligil *et al.*, 2025).

### Materi dan Metode

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan Baronang yang diperoleh di pasar ikan Ampenan Mataram. Sampel lalu dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Litbanges RSUP NTB untuk diisolasi. Pengambilan Saluran pencernaan ikan baronang sebagai sumber inokulum melalui pembedahan saluran pencernaan (lambung dan usus) dari 2 ekor ikan baronang yang telah dimatikan. Lalu diambil sebanyak 1 gram ditambah dengan 9ml NaCl 0,9% ( $10^{-1}$ ) dan dihomogenkan dengan vortex. Sumber Inokulum diencerkan dengan pengenceran bertingkat hingga pengenceran  $10^{-6}$ . Hasil pengenceran inokulum kemudian

dilakukan isolasi dan pemurnian bakteri proteolitik dengan menumbuhkan 10  $\mu$ L suspensi diambil dan ditumbuhkan dengan metode gores kuadran pada media NA. Lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai terlihat koloni bakteri. Isolat bakteri yang diperoleh pada media NA dilakukan uji karakteristik dan uji hemolisis dengan menggunakan media *Mac Conkey* (MC) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Pengujian aktivitas proteolitik dilakukan dengan menumbuhkan atau digoreskan 1 ose Isolat bakteri murni pada media *Skim Milk Agar* (SMA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati terbentuknya zona bening di sekitar pertumbuhan koloni. Selanjutnya isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzim protease diidentifikasi spesies bakteri secara molekuler berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Proses amplikasi menggunakan *Go Taq Green Master Mix* (Promega). Primer yang digunakan adalah primer universal 27F (5' AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG 3') dan 1492R (5' GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 3') (Zafrida *et al.*, 2024; Zainuddin, 2024). Proses PCR terdiri dari denaturasi awal pada suhu 95°C selama 4 menit, kemudian diikuti oleh 40 siklus denaturasi pada suhu 95°C untuk 30 detik setiap siklus, annealing pada suhu 55°C selama 35 detik, ekstensi pada 72°C selama 45 detik. Hasil PCR diperiksa menggunakan gel agarose 2% elektroforesis berdasarkan kenampakan pita tunggal pada 1500 bp. Visualisasi amplikon menggunakan *Major Science UV Transluminator*. Produk gen 16S rRNA hasil amplifikasi kemudian disekuensing. Hasil sekuensing DNA dianalisis menggunakan perangkat bioinformatik, kemudian diolah secara manual dan dicocokkan dengan data NCBI ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) melalui program BLAST (Zafrida *et al.*, 2024). Analisis data pada penelitian ini menggunakan analisis deskriptif, data yang sudah terkumpul disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

### Hasil dan Pembahasan

Proses isolasi diawali dengan melakukan biakan pada media *Buffered Peptone Water* (BPW) dan NaCl 0,9% untuk pengenceran bertingkat. Bakteri diisolasi pada media NA

dan di purifikasi pada media *Mac Conkey* (MC) dan *Blood Agar Plate* (BAP), proses pemurnian hingga terbentuk koloni tunggal menggunakan metode *Streakplate*. Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi diperoleh 5 isolat dengan morfologi koloni bakteri yang berbeda. Isolat-isolat tersebut kemudian diberikan nama *Siganus sp. Intestine* (SSI). Data hasil karakteristik Isolat dapat disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Berdasarkan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Isolasi bakteri pada media NA menghasilkan lima isolat bakteri dengan kode SSI1–SSI5 yang menunjukkan morfologi koloni berbeda. Koloni umumnya berbentuk bulat, berwarna krem atau putih, dengan permukaan mengkilat. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram (Gambar 1 & Tabel 1), empat isolat (SSI1, SSI2, SSI4, SSI5) merupakan bakteri Gram negatif berbentuk kokobasil, sedangkan SSI3 merupakan Gram positif berbentuk basil panjang. Dominasi isolat Gram negatif ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa mikroflora usus ikan laut banyak didominasi oleh *Pseudomonas*, *Aeromonas*, dan *Stenotrophomonas*, yang berperan penting

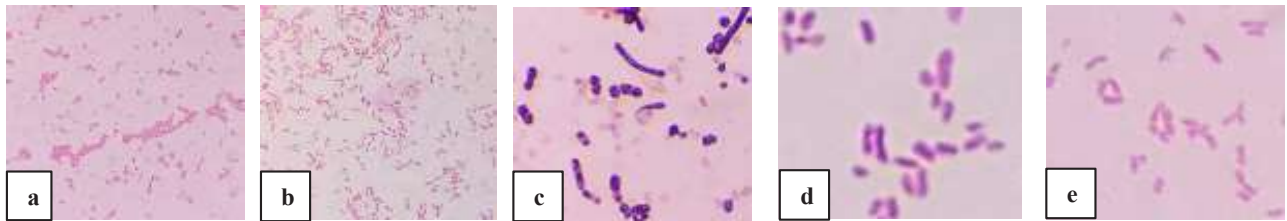
dalam degradasi bahan organik laut dan produksi enzim ekstraseluler (Wei *et al.*, 2021).

Selanjutnya Uji aktivitas enzim protease dilakukan untuk mengetahui kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi substrat protein. Pengujian ini menggunakan media *Skim Milk Agar* (SMA) yang mengandung kasein sebagai sumber protein. Aktivitas proteolitik ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri sebagai hasil hidrolisis kasein oleh enzim protease yang dihasilkan. Langkah awal dalam uji aktivitas proteolitik adalah menumbuhkan satu *loopfull* isolat pada permukaan media selektif SMA (*Skim Milk Agar*) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati terbentuknya zona bening di sekitar pertumbuhan koloni (Zafrida *et al.*, 2024). Dari 5 isolat yang diperoleh, terdapat 4 isolat yang menghasilkan zona bening sekitar koloni yaitu isolat SS1, SS2, SS4 dan SS5. Selanjutnya, dilakukan pengukuran diameter zona bening untuk mengetahui aktivitas proteolitik. Pengamatan uji aktivitas proteolitik dapat dilihat pada Gambar 2.

**Tabel 1.** Karakteristik Makroskopis dan Mikroskopis Bakteri Proteolitik Ikan Baronang (*Siganus sp. Intestines*)

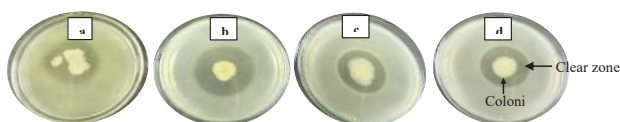
Kode Isolat	Morfologi Koloni					Mikroskopis			
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Permukaan	Bentuk	Susunan	Warna	Sifat
SSI 1	bulat kecil	Krem	Rata	Cembung	mengkilat	Kokobasil kecil-kecil	Menyebar	Merah	Gram -
SSI 2	bulat kecil	Krem bening	Rata	Cembung	Mengkilat	Basil pendek	Menyebar	Merah	Gram -
SSI 3	Bulat kecil	Putih	Tidak rata	Datar	Kering	Bacill, besar panjang	Berantai	Ungu	Gram +
SSI 4	Bulat	Krem bening	Rata	Cembung	Mengkilat	kokobasil	Menyebar	Merah	Gram -
SSI 5	Bulat	Krem bening	Rata	Cembung	Mengkilat	kokobasil	Menyebar	Merah	Gram -

Keterangan:  
Warna : Pewarnaan Gram  
Merah : Gram Negatif  
Ungu : Gram Positif



**Gambar 1.** Hasil Uji Pewarnaan Gram. (a) Bakteri *Siganus sp. Intestine* 1 (SSI1); (b) Bakteri *Siganus sp. Intestine* 2 (SSI2); (c) Bakteri *Siganus sp. Intestine* 3 (SSI3); (d) Bakteri *Siganus sp. Intestine* 4 (SSI4); (e) Bakteri *Siganus sp. Intestine* 5 (SSI5).





**Gambar 2.** Hasil Uji Aktivitas Proteolitik Bakteri *Siganus sp. Intestines* selama 3 hari pada Media Skim Milk Agar.  
(a) Bakteri SSI1; (b) Bakteri SSI2; (c) Bakteri SSI4; (d) Bakteri SSI5.

Berdasarkan Gambar 2, terlihat bahwa isolat bakteri *Siganus sp. Intestines* mampu menghasilkan protease ekstraseluler pada media SMA yang ditandai dengan pembentukan zona bening di sekitar koloni. Media Skim Milk Agar (SMA) mengandung kasein yang disertakan ke dalam medium pertumbuhan bakteri yang berfungsi sebagai substrat enzim. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperlihatkan aktivitas hidrolitik protease. Protease mengkatalisis degradasi kasein yaitu dengan memutuskan ikatan peptida CO-NH dengan masuknya air ke dalam molekul. Reaksi tersebut melepaskan asam amino. Susu skim tersuspensi dalam medium. Setelah inokulasi dan inkubasi kultur plate agar, bakteri mensekresikan protease. Hal ini diperlihatkan dengan adanya zona bening di sekeliling pertumbuhan bakteri. (Fuad *et al.*, 2020).

Diameter zona bening dengan diameter koloni dinyatakan dengan indeks proteolitik (semi kualitatif) dari koloni bakteri *Siganus sp. Intestines*, untuk mengetahui besar aktivitas proteolitik maka dilakukan pengukuran indeks proteolitik dengan rumus perhitungannya yaitu diameter zona bening dibagi diameter koloni. Pengukuran indeks proteolitik ditunjukkan pada Tabel 2.

Berdasarkan nilai indeks yang diperoleh pada (Tabel 2), diperoleh bahwa nilai rata-rata Indeks Proteolitik (IP) dari kelima isolat berkisar antara 1,80 hingga 2,04. Isolat SSI5

menunjukkan nilai IP tertinggi, yaitu 2,04, diikuti oleh SSI2 (1,87), SSI1 (1,82), dan SSI4 (1,80). Hasil tersebut menunjukkan bahwa empat isolat Gram negatif memiliki kemampuan kuat dalam menghasilkan enzim protease. Uji ini merupakan metode skrining awal untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam menghidrolisis kasein, namun tidak secara langsung menggambarkan kemampuan bakteri dalam mendegradasi fibrin (Ravi *et al.*, 2021). Hal ini penting karena kasein dan fibrin merupakan substrat yang berbeda, sehingga aktivitas proteolitik terhadap kasein tidak dapat serta-merta diinterpretasikan sebagai aktivitas fibrinolitik atau antikoagulan (Ćwilichowska *et al.*, 2022). Dengan demikian, klaim kandidat antikoagulan belum dapat disimpulkan pada tahap ini dan memerlukan uji lanjutan menggunakan substrat fibrin, fibrin plate assay, atau pengukuran parameter pembekuan darah (PT/aPTT) (Fuad 2020; Ravi Shankar *et al.*, 2021).

Meskipun demikian, aktivitas proteolitik yang terdeteksi menunjukkan bahwa isolat memiliki potensi awal sebagai sumber enzim ekstraseluler yang relevan untuk aplikasi bioteknologi. Nilai Indeks Proteolitik (IP) yang berkisar antara 1,76–2,04 mengindikasikan kemampuan hidrolisis protein yang cukup tinggi. Indeks tersebut menunjukkan efisiensi sekresi protease, dimana nilai >1,5 umumnya dianggap sebagai indikator kuat aktivitas enzimatik. Dominasi aktivitas enzimatik pada bakteri Gram negatif sejalan dengan hasil penelitian Wei *et al.*, (2021) dan Kuddus *et al.*, (2024), yang menyatakan bahwa bakteri laut Gram negatif umumnya menghasilkan protease halotoleran dengan sistem sekresi enzim yang lebih kompleks dan efisien dibandingkan Gram positif. Oleh karena itu, isolat SSI1, SSI2, SSI4, dan SSI5 dapat dikategorikan sebagai penghasil

**Tabel 2.** Hasil perhitungan indeks proteolitik

Hari Ke-	Diameter Zona Bening (mm)				Diameter Koloni (mm)				(Indeks Proteolitik)			
	SSI1	SSI2	SSI4	SSI5	SSI1	SSI2	SSI4	SSI5	SSI1	SSI2	SSI4	SSI5
1	11	12	14	15	10	9	8	7	1,1	1,33	1,75	2,14
2	27	26	24	24	13	12	14	12	2,07	2,16	1,71	2
3	32	32	31	32	15	15	17	16	2,13	2,13	1,82	2
Rata-rata IP									1,77	1,87	1,76	2,04

enzim protease potensial untuk aplikasi bioteknologi, terutama dalam bidang industri kesehatan (Taskesenligil *et al.*, 2025).

Isolat bakteri yang diperoleh dari uji aktivitas protease diidentifikasi spesies bakteri secara molekuler berdasarkan sekuensing gen 16S rRNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil analisis sekuensing gen 16S rRNA menunjukkan bahwa seluruh isolat memiliki tingkat kemiripan antara 98 hingga 99% dengan sekuens bakteri referensi yang terdapat dalam basis data GenBank. Isolat SSI1 memiliki kemiripan sebesar 99% dengan *Pseudenterobacter timonensis* (akses GenBank NR\_179439.1), sedangkan isolat SSI2 menunjukkan kemiripan 98% dengan *Ralstonia sp.* (akses MK459501.1). Isolat SSI4 memiliki kemiripan 99% dengan *Aeromonas salmonicida* (akses CP050187.1), dan isolat SSI5 menunjukkan kemiripan 99% dengan *Stenotrophomonas maltophilia* (akses MK183005.1). Keempat genus ini dikenal menghasilkan serine protease maupun metalloprotease, beberapa di antaranya telah dilaporkan memiliki aktivitas fibrinolitik. Menurut Molloy *et al.* (2019), *Stenotrophomonas maltophilia* diketahui menghasilkan serine protease ekstraseluler yang menunjukkan aktivitas yang relevan terhadap komponen fibrin. Demikian pula, *Aeromonas salmonicida* dilaporkan menghasilkan *cold-active* protease yang dapat mendegradasi fibrin (Taskesenligil *et al.*, 2025).

Isolasi *Aeromonas salmonicida* dari saluran cerna ikan merupakan temuan yang relevan dengan ekologi mikrobiota ikan. Meskipun bakteri ini dikenal sebagai patogen ikan, keberadaannya dalam saluran cerna ikan sehat bukan hal yang jarang, terutama pada ikan herbivora atau ikan yang hidup di lingkungan perairan yang mengalami tekanan ekologis. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut kemungkinan merupakan bagian dari flora oportunistik pada ikan Baronang, bukan kontaminan. Namun demikian, sifat patogen bakteri ini menjadikan aplikasinya dalam bidang kesehatan harus dibatasi hanya pada pemanfaatan enzim hasil sekresinya, bukan penggunaan langsung bakteri hidup. Enzim protease yang dikodekan oleh bakteri

patogen tetap dapat dimanfaatkan setelah proses purifikasi dan inaktivasi faktor virulensi. Dengan demikian, meskipun penelitian ini belum menguji aktivitas fibrinolitik secara spesifik, hasil identifikasi molekuler mendukung hipotesis bahwa beberapa isolat berpotensi diuji lebih lanjut sebagai kandidat penghasil enzim antikoagulan. Penelitian lanjutan perlu mencakup uji fibrinolitik, karakterisasi jenis protease, pengukuran efek terhadap waktu pembekuan darah, serta karakterisasi enzim (Ravi Shankar & Upadhyay, 2021).

### Kesimpulan

Bakteri Proteolitik yang diisolasi dari Ikan Baronang didapatkan sebanyak 5 isolat, namun hanya empat isolat yang memiliki aktivitas proteolitik. Hasil analisis molekuler menunjukkan bahwa empat isolat tersebut adalah Gram negatif, yaitu *Pseudenterobacter timonensis*, *Ralstonia sp.*, *Aeromonas salmonicida*, dan *Stenotrophomonas maltophilia*. Aktivitas proteolitik dari keempat isolat menunjukkan potensi sebagai kandidat sumber enzim protease alami yang berpotensi dikembangkan sebagai antikoagulan.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia atas pendanaan penelitian melalui hibah Program Penelitian Dosen Pemula (PDP) Tahun 2025 yang memungkinkan dilakukannya seluruh kegiatan penelitian, mulai dari pengumpulan data hingga analisis dan publikasi.

### Daftar Pustaka

- Ćwilichowska, N., Świdarska, K. W., Dobrzyń, A., & Drag, M. P. (2022). Diagnostic and therapeutic potential of protease inhibition. *Mol. Aspects Med.*, 88, 101144.
- Dhayalan, A., Velramar, B., Govindasamy, B., Ramalingam, K. R., Dilipkumar, A., & Pachiappan, P. (2022). Isolation of a bacterial strain from the gut of the fish *Systemus sarana*, identification, optimized production of its protease, purification,

- and partial structural characterization. *J. Rekayasa Genet. Bioteknol.*, 20(1), 2–15.
- Fuad, H., Hidayati, N., Darmawati, S., Munandar, H., Sulistyanyingtyas, A. R., & Nurrahman, N. (2020). Prospects of fibrinolytic proteases of bacteria from sea cucumber fermentation products as antithrombotic agents. *BIO Web Conf.*, 28, 1–7.
- Gili, M. O., Asrial, E., Harris, A., & Kotta, R. (2020). Aspek biologi kandidat induk Baronang Lingkis (*Siganus canaliculatus*) dari Teluk Serewe. *J. Aquac. Fish.*, 9–18.
- Kuddus, M., Roohi, Bano, N., Sheik, G. B., Joseph, B., & Hamid, B. (2024). Cold-active microbial enzymes and their biotechnological applications. *Microb. Biotechnol.*, 17(4), e14467.
- Mahrus, M., & Syukur, A. (2020). Karakter morfologi dan identifikasi molekuler ikan Baronang menggunakan marka gen 12S rRNA. *J. Sains Teknol. Lingkungan*, 6(1), 105–115.
- Molloy, K., Smith, S. G., Cagney, G., et al. (2019). Characterisation of major extracellular proteases produced by *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathogens*, 8(3), 92.
- Muzaifa, M., Murlida, E., Nilda, C., Rozali, Z. F., & Rahmi, F. (2023). Isolation and identification of protease-producing bacteria from belacan depik. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 1177(1).
- Ravi Shankar, & Upadhyay, P. K. (2021). Protease enzymes: Highlights on potential therapeutics. *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 27, 1281–1296.
- Susanti, E., Tirta, S., Paramitha, A., & Lutfiana, N. (2019). Seleksi bakteri proteolitik dari pangan fermentasi lokal Indonesia sebagai sumber protease. *MSOpen Biol. Chapter*, 78–92.
- Taskesenligil, E. D., Aygun, E., Akbulut, S., Sisecioglu, M., & Adiguzel, A. (2025). Biotechnological application of a cold-active protease from *Aeromonas salmonicida* subs. *salmonicida* EDT1. *Biotechnol. Appl. Biochem.*
- Tayachew, D., Bacha, K., & Tafesse, M. (2023). Effectiveness of proteolytic bacteria from Modjo tannery effluent. *Leather Sci. Eng.*, 50(1), 1–15.
- Wei, Y., Bu, J., Long, H., Zhang, X., Cai, X., Huang, A., Ren, W., & Xie, Z. (2021). Community structure of protease-producing bacteria from aquaculture systems. *Front. Microbiol.*, 12, 638129.
- Yulianti, S., & S. S. (2024). Aspek biologi reproduksi ikan Baronang angin *Siganus javus* di PPI Paotere Makassar. (Doctoral dissertation). Universitas Hasanuddin.
- Zafrida, S., Yulianto, I., Riana, A. I., & Siahaan, L. P. (2024). Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri penghasil enzim protease dari usus ikan Selaiis (*Kryptopterus lois*). *J. Anal. Lab. Med.*, 9(2), 107–111.
- Zainuddin, M. (2024). Isolasi, seleksi dan identifikasi genotipik 16S-rRNA bakteri proteolitik indogenus dari ekosistem mangrove Karimunjawa sebagai kandidat konsorsium probiotik. *Akuatik: Jurnal Sumberdaya Perairan*, 171–182.