

ISOLASI BAKTERI PENGHASIL LIPASE DARI SUMBER AIR PANAS LONG KALI

ISOLATION OF LIPASE PRODUCING BACTERIA FROM HOT SPRINGS OF LONG KALI

Dessy Noor Alawiyah, Winni Astuti*, Rita Hairani

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, 75123

*E-mail: winniastuti@gmail.com

Received: 08 November 2019, Accepted: 08 September 2021

ABSTRACT

Isolation of lipase producing bacteria from hot spring of Long Kali was performed by selecting bacteria colony in nutrient agar which contained rhodamine B and olive oil. Based on the results, there were 5 from 14 bacteria isolates that able to produce lipase. These five isolates were examined for their lipase activity by using titrimetry method and revealed that isolate with code of 14 showed the highest activity with activity of 2.20 Unit/mL.

Keywords: *Termophilic Bacteria, Lipase, Hot Springs of Long Kali.*

PENDAHULUAN

Lipase (triasilgliserol hidrolase, EC 3.1.1.3) merupakan kelas hidrolase yang dapat mengkatalis hidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas serta sintesis ester dalam pelarut organik. Lipase digunakan pada bidang industri seperti pembuatan yoghurt, fermentasi, keju, detergen, produk susu, makanan, kue, minuman, bahan kimia farmasi, kosmetik, industri kulit, lemak dan minyak, surfaktan, agrokimia, industri kertas dan industri bahan bakar [1].

Saat ini bidang industri membutuhkan enzim yang mempunyai sifat tahan terhadap lingkungan, salah satunya enzim yang tahan pada suhu yang ekstrim maka diperlukan suatu enzim yang bersifat termostabil. Untuk itu dapat dilakukan dengan memproduksi enzim termostabil dari mikroba termofilik. Mikroba termofilik yaitu mikroba yang dapat bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang bersuhu ekstrim sekitar 40-80°C [2]. Habitat alami dari bakteri termofilik yang tersebar pada seluruh permukaan bumi seperti kawah gunung berapi atau daerah vulkanik dan sumber air panas [3].

Berbagai penelitian mengenai bakteri telah dilakukan. Tika, dkk., (2007) mendapatkan empat isolate bakteri (BYW1, BYW2, BYW3 dan BYW4) yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dari sumber air panas Banyuwedang Kabupaten Gerogak,

Buleleng Bali [4]. Apituley (2012) mendapatkan satu isolat bakteri T.12 yang menunjukkan adanya aktivitas lipase pada mata air panas pulau Seram, Maluku [5]. Asnawi, dkk., (2014) mendapatkan dua isolat bakteri (LS3B dan LS4B) yang menunjukkan adanya aktivitas lipase pada sumber air panas Lemo Susu, Pinrang Sulawesi Selatan [2]. Sembiring (2015) mendapatkan satu isolate bakteri Sp-01 yang menunjukkan adanya aktivitas lipase pada sumber air panas Geiser, Sukabumi Jawa Barat [6].

Berdasarkan informasi yang diperoleh di atas maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensial dari sumber air panas Long Kali sebagai sumber bakteri yang dapat menghasilkan lipase.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, *laminar air flow*, tabung reaksi, sentrifus, *freezer*, labu Erlenmeyer, *hot plate*, spatula, neraca analitik, corong kaca, batang pengaduk, gelas ukur, gelas beker, pH universal, termos, thermometer, jarum ose, vortex, pipet tetes, tabung mikro, incubator, *hocky stick*, pipet mikro, bunsen, aluminium foil, plastik *wrap*, buret, tiang statip, *shaker waterbath*, dan autoklaf.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sumber air panas Long Kali Kabupaten Paser Kalimantan Timur, *aquadest*, aseton, alkohol, spritus, kapas, kain kasa, *trypton*, rhodamin B, *nutrient* agar (NA), minyak zaitun, gum arab, larutan Buffer Fosfat pH 7, NaOH, indikator fenolftalein, dan *yeast extract*.

Prosedur Penelitian

Teknik pengambilan sampel

Sampel berupa air panas diperoleh dari sumber air panas Long Kali, Kabupaten Paser. Sebelum sampel diambil, dilakukan pengukuran suhu dan pH. Sampel air panas diambil dengan kedalaman ± 50 cm dari permukaan air sampel diambil sebanyak 1000 mL dan dimasukkan ke dalam termos.

Isolasi bakteri sumber air panas

Media yang digunakan untuk mengisolasi bakteri sumber air panas adalah *Nutrient Agar* yang telah disterilkan. Sampel air panas yang telah disaring diambil sebanyak 150 μ L kemudian disebar dan diratakan dengan menggunakan *hockey stick* pada permukaan media *Nutrient Agar*. Selanjutnya bakteri sumber air panas diinkubasi selama 24 jam pada suhu 47°C.

Skrining isolasi bakteri termofilik penghasil lipase

Skrining isolasi bakteri termofilik dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri yang telah dipilih pada permukaan media padat *Nutrient Agar* yang mengandung Rhodamin B dan minyak zaitun. Lalu bakteri tersebut ditumbuhkan selama ± 24 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang menghasilkan enzim lipase akan terbentuk kompleks warna orange jika dilihat di bawah sinar UV.

Uji aktivitas enzim lipase

Sebanyak 4 mL buffer fosfat pH 7 dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, lalu ditambahkan minyak zaitun sebanyak 0,05 mL dan 0,05 gram gum arab, dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan campuran aseton:alkohol (1:1) sebanyak 10 mL. Kemudian dilakukan titrasi menggunakan larutan NaOH 0,02 M dengan menambahkan indikator fenolftalein sebanyak 3 tetes. Titrasi dihentikan apabila terjadi perubahan warna merah muda kemudian dihitung nilai aktivitas lipase.

$$\text{Aktivitas Lipase (U/mL)} = \frac{(A-B) \times N \text{ NaOH} \times 1000}{30}$$

Keterangan :

A = mL NaOH untuk titrasi sampel

B = mL NaOH untuk titrasi blanko

1000 = konversi dari mmol ke μ mol

30 = waktu reaksi (30 menit)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Sumber Air Panas

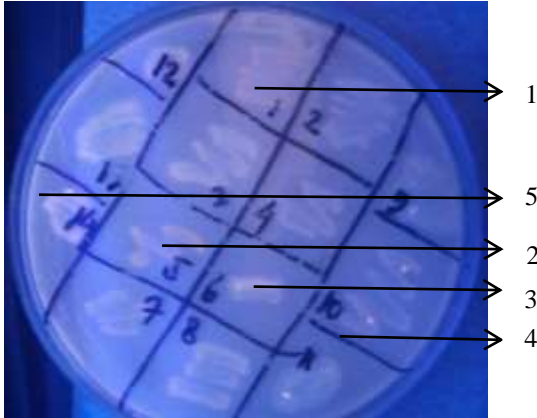
Hasil isolasi bakteri menunjukkan terdapat beragam bakteri yang tumbuh pada media padat *Nutrient Agar* (NA) yang ditunjukkan pada Gambar 1. Dari hasil isolasi bakteri termofilik diperoleh sebanyak 14 koloni tunggal.



Gambar 1. Bakteri sumber air panas Long Kali.

Skrining Isolat Bakteri Termofilik Penghasil Lipase

Berdasarkan hasil skrining bakteri penghasil lipase yang ditumbuhkan kembali pada media NA yang mengandung minyak zaitun dan rhodamin B menunjukkan 5 isolat yang memiliki aktivitas lipase yang ditunjukkan dengan adanya pendar berwarna orange di bawah sinar UV, sedangkan 9 isolat lainnya tidak menunjukkan aktivitas lipase yang dapat dilihat pada Gambar 2. Pendar berwarna orange menunjukkan hasil reaksi hidrolisis minyak zaitun oleh lipase menghasilkan asam lemak bebas yang bereaksi dengan rhodamin B membentuk kompleks berwarna orange di bawah sinar UV [7].



Gambar 2. Hasil skrinning bakteri termofilik penghasil lipase.

Uji Aktivitas Lipase

Hasil uji aktivitas lipase secara kuantitatif pada 5 isolat yang berpendar orange tersebut ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas lipase 5 isolat terpilih.

Isolat Bakteri Termofilik	Aktivitas Lipase (Unit/mL)
1	1,93
5	1,73
6	2
10	1,87
14	2,2

Ekstrak kasar lipase diukur aktivitasnya dengan metode titrimetri dimana ditunjukkan dengan perubahan warna saat titrasi dengan indikator pp menjadi berwarna merah muda. Berdasarkan aktivitas lipase pada tabel 1 di atas menunjukkan bahwa isolat nomor 14 memiliki aktivitas lipase tertinggi yaitu 2,20 Unit/mL.

KESIMPULAN

Isolasi bakteri penghasil lipase dari sumber air panas Long Kali menghasilkan 14 koloni tunggal bakteri, dimana 5 isolat bakteri positif menghasilkan lipase.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Susanti R dan Fidia F. 2017. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- [2] Asnawi I., Natsir H. dan Hariani N. 2014. Eksplorasi mikroba penghasil enzim lipolitik pada sumber air panas Lemo Susu, Pinrang, Sulawesi Selatan, *Jurnal Sains Dasar*, 2(1):1-6.
- [3] Nanda T. P., A. S., Rifky K., Hairudin, Mariyanti dan Yatno. 2017. Isolasi karakterisasi dan uji potensi bakteri penghasil enzim termostabil air panas Kerinci. *Jurnal Chempublish*, 2(1): 26-31.
- [4] Tika I. N., Redhana I. W., dan Ristiati Ni Putu. 2007. Isolasi enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik isolate air panas Banyuwedang Kecamatan Gerogak, Buleleng Bali. *Akta Kimindo*, 2(2):109-112.
- [5] Apituley E. T. 2012. Kloning gen penyandi lipase termofilik dari isolate bakteri asal mata air panas di pulau Seram, Maluku. Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- [6] Sembiring A. 2015. Isolasi bakteri penghasil lipase termofilik kloning dan ekspresi gen penyandi lipase. Tesis. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- [7] Kasipah C., Rismayani S., Ihsanawati dan Zeily N. 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil enzim lipase ekstrakseluler dari lumpur aktif instalasi pengolahan limbah industri tekstil. *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil*, 28(1):1-7.