

**ISOLASI BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL LIPASE PADA DAUN GINSENG JAWA
(*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd)**

**ISOLATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA ON GINSENG JAWA LEAVES
(*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd)**

Istianti Irfa'a Nur, Winni Astuti*, Rudi Kartika

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

*E-mail: winniaastuti@gmail.com

Received: 20 January 2020, Accepted: 18 October 2020

ABSTRACT

Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues. These bacteria produce extracellular enzymes, one of which is the lipase. This research was conducted to isolate the endophytic bacteria of Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) leaves which produced lipase and lipase screening from these bacteria. Isolation was carried out on nutrient agar (NA) media and screening of endophytic bacteria were carried out on nutrient agar (NA) media containing olive oil and Rhodamin B. Isolation results obtained by 5 single colonies and one colony of positive endophytic bacteria that produces lipase which characterized by the presence of orange-colored luminescence on the surface of the bacterial colony.

Keywords: *Endophytic Bacteria, Talinum triangulare* (Jacq.) Willd, *Screening, Lipase.*

PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan bakteri yang berkolonisasi pada jaringan tanaman dan tidak bersifat patogen pada inangnya [1]. Bakteri ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel, batang, akar, buah dan daun. Bakteri ini hidup bersimbiosis mutualisme dengan inangnya yang menghasilkan metabolit sekunder tertentu [2] dan menghasilkan enzim ekstraseluler [3].

Enzim berguna untuk mempercepat reaksi biokimia pada tubuh makhluk hidup. Enzim yang berasal dari ekstraksi berbagai jenis mikroorganisme lebih banyak digunakan. Enzim hidrolitik mendominasi produksi dan perdagangan enzim seperti protease, amilase, katalase dan lipase [4].

Lipase atau triasilgliserol asilhidrolase merupakan enzim hidrolase yang mengkatalisis hidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas pada fase minyak-air [5]. Lipase dapat berasal dari tanaman, hewan dan mikroorganisme, seperti jamur, *Actinomyces*, *yeast* dan bakteri [6].

Berbagai penelitian telah berhasil memperoleh bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan enzim lipase. Carrim *et al.*, (2006) mengisolasi 18 bakteri endofit dari daun dan batang tanaman *Jacaranda decurrens* dan didapatkan 10 jenis spesies bakteri

endofit dimana 4 jenis diantaranya berpotensi adanya lipase [7]. Djafar *et al.*, (2010) berhasil menumbuhkan 15 isolat bakteri dari buah sawit yang menunjukkan aktivitas lipolitik yang baik [8]. Pricilia *et al.*, (2018) memperoleh 21 isolat bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f dan 7 isolat diantaranya menunjukkan menghasilkan lipase [9].

Penelitian ini dilakukan isolasi bakteri endofit dari daun Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) sebagai penghasil lipase.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung mikro, pipet mikro, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, jarum ose, *Hocky stick*, *waterbath shaker*, tip, pipet volume, gelas ukur, labu Erlenmeyer, labu ukur, neraca analitik, spatula, buret, klem, dan *steril syringe*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd), aluminium foil, tisu, aquades, kapas, kain kasa, plastik HD, kertas label, *plastic wrap*,

media padat *nutrient agar* (NA), etanol 95%, media cair luria bertani (tripton 1 %, *yeast extract* 0,5% dan NaCl 1%), Rhodamin B, buffer fosfat 7,5 , minyak zaitun, gum arab, indikator fenolftalein, dan NaOH.

Prosedur Penelitian

Isolasi bakteri endofit

Daun Ginseng jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd.) disterilisasi dengan mencuci menggunakan air, etanol 95%, bayclin dan aquadest steril secara bertahap. Selanjutnya sampel dipotong dan disebar pada media padat nutrient agar (NA) secara aseptik, kemudian diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37°C. Daerah keruh disekitar sampel menunjukkan adanya bakteri endofit yang tumbuh. Isolat bakteri endofit yang diperoleh dari media padat nutrient agar (NA) dibiakan dalam 5 mL media cair Luria Bertani (tripton 1%, *yeast* 0,5% dan NaCl 1%) dan diinkubasi selama 16-18 jam pada suhu 37°C hingga diperoleh kultur bakteri endofit.

Pemurnian bakteri endofit

Pemurnian bakteri endofit menggunakan metode cawan tebar. Kultur bakteri endofit pada media cair Luria Bertani diencerkan sebanyak 10^3 kali. Kemudian hasil pengenceran diambil sebanyak 10 μ L dan disebar pada media padat nutrient agar (NA) menggunakan *Hockey stick* lalu diinkubasi selama 16-18 jam pada suhu 37°C. Koloni tunggal yang diperoleh diinokulasikan masing-masing ke dalam 5 mL media cair Luria Bertani steril kemudian diinkubasi selama 16-18 jam pada suhu 37°C hingga diperoleh kultur murni koloni bakteri endofit.

Skrining isolat bakteri endofit penghasil lipase

Skrining aktivitas lipase dilakukan dengan metode goresan (streak plate). Isolat bakteri terpilih di gores pada media padat NA yang mengandung minyak zaitun 2% dan Rhodamin B lalu diinkubasi selama \pm 48 jam pada suhu 37°C. Analisa kualitatif isolat bakteri yang menunjukkan adanya potensi aktivitas lipase dimana adanya pendaran berwarna orange dibawah lampu UV pada permukaan koloni bakteri.

Pembuatan kultur gliserol stok

Koloni bakteri endofit yang telah dimurnikan dan berpotensi adanya aktivitas lipase dibuat gliserol stok dengan mencampurkan 800 μ L koloni murni bakteri endofit dengan 200 μ L gliserol. Gliserol stok koloni bakteri endofit disimpan pada lemari pendingin pada suhu -20 °C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit dilakukan pada media padat nutrient agar (NA) dimana bakteri endofit ditunjukkan dengan adanya daerah keruh di sekitar sampel seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri endofit.

Pemurnian Bakteri Endofit

Pemurnian bakteri endofit dilakukan untuk memperoleh koloni bakteri tunggal dengan melakukan pengenceran bertingkat sebanyak 1000 kali dengan menggunakan metode cawan tebar pada media nutrient agar (NA). Hasil diperoleh merupakan koloni-koloni yang terpisah-pisah. Koloni tunggal yang diperoleh sebanyak 5 koloni seperti pada Gambar 2.

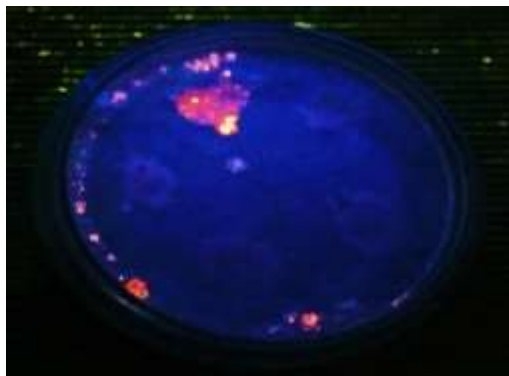


Gambar 2. Hasil pemurnian bakteri endofit.

Skrining Isolat Bakteri Endofit Penghasil Lipase

Skrining isolat bakteri endofit dari daun Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) dilakukan dengan menumbuhkan kembali 5 isolat bakteri yang diperoleh pada media padat nutrient agar yang mengandung minyak zaitun sebagai

substrat dan Rodhamin B sebagai zat warna. Hasil skrining bakteri endofit, diperoleh 1 isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas lipase yang ditunjukkan dengan adanya pendaran berwarna orange dibawah sinar UV pada permukaan isolat bakteri, sedangkan 4 isolat lainnya tidak menunjukkan adanya aktivitas lipase. Hasil penapisan ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil skrining bakteri endofit.

Berdasarkan Gambar 3 isolat nomor 3 merupakan isolat yang memiliki aktivitas lipase dimana ditandai dengan adanya pendaran berwarna orange. Pendaran berwarna orange dikarenakan lipid yang terdapat dalam media dihidrolisis oleh lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Selanjutnya asam lemak bereaksi dengan Rhodamin B yang sebagai indikator warna sehingga membentuk kompleks berwarna orange dibawah sinar UV [4].

KESIMPULAN

Bakteri endofit dari daun Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* (Jacq.) Willd) menghasilkan 5 isolat bakteri endofit dan 1 isolat bakteri endofit positif menghasilkan lipase.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Munif A., dan Harni R. 2011. Keefektifan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda parasit *Meloidogyne incognita* pada tanaman lada. *Buletin Riainy STRI*, 2(3):377-82.
- [2] Hung P. Q., dan Annapurna K. 2004. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glycine* sp.). *Omonrice*, 12:92-101.
- [3] Yasinok A. E., Sahin F. I., dan Heberal M. 2008. Isolation of endophytic and xylanolytic *Bacillus pumilus* strain from *Zea Mays*. *Tarim Bilimleri Dergisi*, 14(4):384-380.
- [4] Palmer, Trevor. 1985. Understanding enzyme. Ellishorwood Publisher.
- [5] Sumarlin L. O., Mulyadi D., dan Asmara Y. 2013. Identifikasi potensi enzim lipase dan selulase pada sampah kulit buah hasil fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)* 18(3):159-66.
- [6] Susanty A., Fitriani, dan Candra K.P. 2013. Isolasi bakteri penghasil lipase dengan kemampuan esterase untuk produksi metil ester. *J. Res. Tech. Ind.*, hal 134-142.
- [7] Carrim A. J. L., Barbosa E.C., dan Vieira J. D. G. 2006. Enzymatic activity of endophytic bacterial isolated of *Jacaranda decurrens* Cham (Carobinha-d-campo). *Jurnal Braz. Arch. Biol. Technol.*, 49(3):353-359.
- [8] Djafar F., Purwandaria T., dan Sinurat A. P. 2010. Isolation of endophytic bacteria from palm oil fruits and characterization of their lipases. *Microbiol.*, 4(2):1-6.
- [9] Pricilia S., Astuti W., dan Marliana E. 2018. Skrining bakteri endofit penghasil amilase, lipase dan protease dari daun *Macaranga Hullettii* King Ex Hook . F. *Jurnal Atomik*, 3(2):102-5.