

**SKRINING LIPASE DARI BAKTERI AIR BENDUNGAN BENANGA LEMPAKE
KECAMATAN SAMARINDA UTARA DAN POTENSINYA SEBAGAI BAHAN ADITIF
DETERGEN**

**SCREENING OF LIPASE FROM WATER BACTERIA IN BENANGA LEMPAKE DAM,
NORTH SAMARINDA AND ITS POTENTIAL AS A DETERGENT ADDITIVE**

Hendrica Mini Vera, Winni Astuti*, Djihan Ryn Pratiwi

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman, Samarinda

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, Kalimantan Timur

*Corresponding Author : winniastuti@gmail.com

Received: 10 Juli 2023, Accepted: 11 Agustus 2023

ABSTRACT

Lipase is an enzyme that can hydrolyze triglycerol into glycerol and free fatty acids. The aim of this research is to obtain lipase-producing bacteria and determine the potential of lipase from water bacteria in the water of the Benanga Lempake Dam, North Samarinda for biodetergent applications through stability test of lipase activity against several commercial detergents. Screening of lipase-producing bacteria was carried out on nutrient agar media containing olive oil and Rhodamine B. The results showed that seven isolates were capable of producing lipase. Based on the stability test of lipase on detergent, it can be seen that the activity of lipase decreased by more than 70% at the addition of 1% detergent

Keywords : *Water of the Benanga Lempake Dam, Bacteria, Lipase.*

PENDAHULUAN

Lipase (*triacylglycerol hydrolase* EC 3.1.1.3) adalah enzim yang mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis trigliserida rantai panjang menjadi asam lemak, diasilgliserol, monoasilgliserol dan gliserol [1]. Enzim lipase memiliki aktivitas yang dapat menghidrolisis berbagai lemak dan minyak dalam satu satuan waktu. Dimana satu unit aktivitas lipase setara dengan 1 μ mol asam lemak bebas (ALB) yang diperoleh dari hidrolisis substrat yang dikatalisis oleh ekstrak kasar enzim tiap satuan menit [2].

Lipase dapat ditemukan pada hewan, tanaman dan mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan kapang. Diantara lipase mikroba, lipase bakteri lebih disukai karena sebagian besar lipase bakteri merupakan lipase ekstraselular, sehingga tahapan produksi atau perbanyakannya lebih mudah, mampu menghasilkan enzim dalam waktu singkat, komposisi media dan komponen lain dapat diatur serta biaya produksinya lebih murah jika dibandingkan dengan menggunakan sumber enzim dari tanaman atau hewan [3].

Lipase dimanfaatkan secara luas di beberapa industri lain seperti industri produk susu, makanan dan minuman, pakan ternak, biofuel, farmasi, kosmetik, tekstil, formulasi deterjen, agrokimia, biosensor, bioremediasi dan lain-lain [4]. Diantara banyaknya

industri tersebut, sebanyak 32% penggunaan lipase digunakan pada industri deterjen karena kemampuannya dalam menghidrolisis lemak dapat mempermudah menghilangkan noda lemak dan minyak. Selain itu penggunaan lipase sebagai zat aditif deterjen mampu mengurangi dampak pencemaran bahan kimia terhadap lingkungan karena lipase dapat terurai secara alami di lingkungan, tidak beracun dan tidak meninggalkan residu yang berbahaya [5].

Melihat potensi bakteri lipase dalam memproduksi lipase, maka diduga bakteri yang diisolasi dari air Bendungan Benanga Lempake dapat memproduksi lipase untuk aplikasi deterjen. Dengan demikian pada penelitian ini perlu dilakukan skrining lipase dari bakteri air Bendungan Benanga Lempake Kecamatan Samarinda Utara dan potensinya sebagai bahan aditif deterjen.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, gelas kimia, pipet mikro 10-100 μ , pipet mikro 100-1000 μ pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung mikro, batang pengaduk, gelas ukur, corong kaca, Whatman filter 0,2 μ m, termometer, Erlenmeyer, labu ukur, pH meter, spatula, inkubator,

cawan petri, hot plate, shaker waterbath, syringe, laminar air flow cabinet, centrifuge, hocky stick, neraca analitik, Autoklaf, tip 1000 μ L, tip 200 μ L tiang statif, buret, jarum ose dan Bunsen.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air Bendungan Lempake, Etanol 95%, minyak zaitun, akuades, aseton, aluminium foil, kapas, tisu, Nutrient Agar, yeast extract, tripton, plastik, indikator fenolftalein, Rhodamin B, gum arab, NaOH, KH_2PO_4 , KOH, Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , deterjen komersial, yaitu Boom, Daia dan Total.

Prosedur Penelitian

Seleksi Isolat Bakteri Penghasil Lipase

Penentuan seleksi isolat bakteri dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat sebanyak 10^4 kali pengenceran. Sampel yang telah diencerkan diambil sebanyak 30 μ L dan diinokulasikan pada permukaan media padat NA yang mengandung minyak zaitun dan Rhodamin B dengan metode sebar (*spread plate*) yang ditumbuhkan selama 24 jam pada suhu 37°C . Isolat-isolat koloni tunggal yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dapat diketahui dengan adanya pendar orange di sekitar koloni di bawah sinar UV. Isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas lipase diproduksi agar dapat dilakukan uji secara kuantitatif dengan Titrimetri [6].

Produksi Lipase dari Isolat Bakteri

Produksi lipase dilakukan dengan menumbuhkan 10 μ L isolat bakteri terpilih ke dalam 10 mL media cair LB dan dikocok pada suhu 37°C selama 72 jam menggunakan shaker waterbath. Selanjutnya, isolat disaring menggunakan kertas saring. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar lipase dan dilakukan pengujian aktivitas lipase secara kuantitatif.

Uji Aktivitas Lipase Secara Kuantitatif

Uji aktivitas lipase dilakukan dengan menggunakan metode Titrimetri berdasarkan metode Lienfield et al. (1984). Sebanyak 0,05 gram gum arab dan 0,05 mL minyak zaitun dilarutkan ke dalam 4 mL larutan buffer fosfat pH 7. Kemudian, ekstrak kasar lipase ditambahkan sebanyak 1 mL ke dalam campuran substrat dan dihomogenkan. Selanjutnya, campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan etanol:aseton (1:1) sebanyak 10 mL dan dititrasi menggunakan larutan KOH 0,02 M dengan penambahan 1 tetes indikator fenolftalein hingga menjadi merah muda yang stabil. Selanjutnya, volume titrasi enzim dicatat untuk menentukan aktivitas lipase. Titrasi dilakukan secara triplo.

Aktivitas lipase dilakukan berdasarkan Titrimetri dengan substrat berupa minyak zaitun. Dimana satu unit aktivitas lipase setara dengan 1 μ mol asam lemak bebas (ALB) yang diperoleh dari hidrolisis substrat yang dikatalisis oleh ekstrak kasar enzim tiap satuan menit. Adapun persamaannya sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas lipase (U/mL)} = \frac{(V_a - V_b) \times N \text{ KOH} \times 1000}{V_E \times 30}$$

Keterangan :

- V_a = Volume titrasi sampel (mL)
- V_b = Volume titrasi sampel (mL)
- N KOH = Normalitas KOH (N)
- V_E = Volume enzim (mL)
- = Waktu inkubasi (menit)

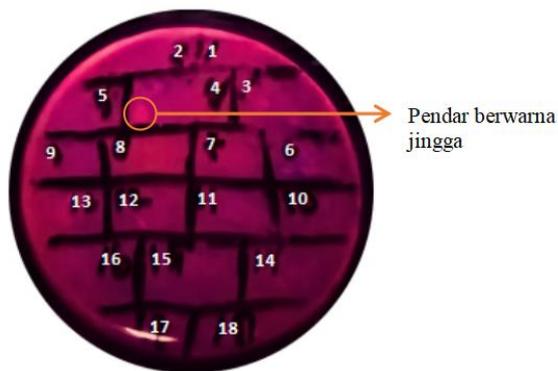
Pengaruh Deterjen terhadap Aktivitas Lipase

Pengaruh deterjen terhadap aktivitas lipase dilakukan dengan penambahan deterjen komersial, yaitu Boom, Daia dan Total dengan variasi konsentrasi yaitu 1; 3; 5; 7; 9% (w/v) dalam 1 mL ekstrak kasar lipase dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang. Sebanyak 0,05 gram gum arab dan minyak zaitun dengan konsentrasi optimum ditambahkan ke dalam 4 mL larutan buffer pH 8. Kemudian, ekstrak kasar lipase yang telah diinkubasi selama 60 menit dengan deterjen sesuai dengan variasi konsentrasike dalam campuran substrat dan dihomogenkan. Selanjutnya, campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu optimum. Reaksinya dihentikan dengan penambahan larutan etanol:aseton (1:1) sebanyak 10 mL dan dititrasi menggunakan larutan KOH 0,02 M dengan penambahan 1 tetes indikator fenolftalein hingga larutan berubah warna menjadi merah muda yang stabil. Selanjutnya, volume titrasi enzim dicatat untuk menentukan aktivitas lipase. Titrasi dilakukan secara triplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi Isolat Bakteri Penghasil Lipase

Seleksi isolat bakteri penghasil lipase dilakukan secara kualitatif dengan menumbuhkan 18 isolat bakteri koloni tunggal pada media NA yang mengandung minyak zaitun dan Rhodamin B. Setelah 24 jam, isolat bakteri yang mampu menghasilkan lipase diamati dibawah lampu UV. Isolat-isolat koloni tunggal yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dapat diketahui dengan adanya pendar jingga di sekitar koloni. Hasil seleksi isolat bakteri ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Seleksi Isolat Bakteri Penghasil Lipase

Berdasarkan gambar 1. diperoleh 7 isolat bakteri yaitu isolat nomor 1, 3, 4, 13, 15, 16 dan 17 yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dengan terbentuknya pendar jingga di sekitar koloni diamati di bawah lampu UV. Pendar jingga disebabkan karena adanya reaksi antara rhodamin B terhadap asam lemak bebas yang terbentuk dari proses hidrolisis substrat oleh enzim lipase yang dihasilkan dari bakteri. Hidrolisis substrat menjadi monogliserida atau digliserida yang berikatan dengan rhodamin B menyebabkan pendar jingga di sekitar koloni bakteri di bawah radiasi UV. Tujuh isolat bakteri yang menghasilkan pendar jingga ditentukan aktivitas lipasenya secara kuantitatif dengan menggunakan metode titrimetri. Aktivitas lipase tujuh isolat tersebut ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas Lipase Isolat Bakteri

Isolat Bakteri	Aktivitas Lipase (U/mL)
1	1,5
3	2,4
4	3,3
13	1,9
15	0,8
16	0,5
17	0,7

Berdasarkan Tabel 1. ekstrak kasar lipase isolat bakteri nomor 4 memiliki aktivitas lipase tertinggi sebesar 3,3 U/mL. Isolat bakteri nomor 4 diproduksi untuk memperoleh ekstrak kasar lipase yang akan digunakan pada penelitian selanjutnya.

Stabilitas Lipase Terhadap Deterjen

Stabilitas lipase terhadap deterjen dilakukan untuk mengetahui kestabilan ekstrak kasar lipase dari bakteri air bendungan benangan lempake terhadap deterjen komersial (dengan merk Boom, Daia, Total)

untuk ditinjau potensinya sebagai zat aditif deterjen. Pengaruh variasi konsentrasi deterjen yang digunakan pada penelitian ini yaitu 0, 1, 3, 5, 7 dan 9%. Sebelum ditambahkan dengan deterjen, enzim lipase dari bakteri air bendungan benanga lempake yang sudah dipanen diuji aktivitasnya. Hasil pengujian aktivitas enzim lipase tanpa penambahan deterjen (dengan merk Boom, Daia dan Total) menunjukkan aktivitas ekstrak kasar lipase dari bakteri air bendungan secara berturut-turut sebesar 1,9; 2,1 dan 2,1 U/mL.. Data hasil stabilitas aktivitas lipase terhadap deterjen Boom, Daia dan Total ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas Lipase Isolat Bakteri

Deterjen Komersial	Konsentrasi Deterjen (%)	Aktivitas Lipase (U/mL)	Aktivitas Relatif Lipase (%)
Boom	0	1,9	100
	1	1,1	57,8
	3	0,8	42,1
	5	0,7	36,8
	7	0,6	31,5
	9	0,2	10,5
Daia	0	2,1	100
	1	0,9	42,8
	3	0,7	33,3
	5	0,3	14,2
	7	-0,1	-04,7
	9	-0,2	-09,5
Total	0	2,1	100
	1	0,9	42,8
	3	0,3	14,2
	5	-0,1	-04,7
	7	-0,5	-23,8
	9	-0,8	-38,0

Berdasarkan Tabel 2. data yang diperoleh menunjukkan aktivitas ekstrak kasar lipase dari bakteri air bendungan Benanga Lempake tanpa penambahan deterjen Boom, Daia dan Total secara berturut-turut sebesar 1,9; 2,1 dan 2,1 U/mL. Pada penambahan deterjen Boom konsentrasi 1% didapatkan aktivitas relatif sebesar 57,8%. Lalu, penambahan deterjen Daia konsentrasi 1% didapatkan aktivitas relatif sebesar 42,8% dan penambahan deterjen Total konsentrasi 1% didapatkan aktivitas relatif sebesar 42,8%. Penurunan nilai aktivitas lipase dapat disebabkan oleh perbedaan jenis deterjen komersial. Pada deterjen merk Total menurunkan aktivitas lipase jauh lebih besar dibandingkan Daia dan Boom pada konsentrasi yang sama.

Pada penambahan deterjen Boom konsentrasi 3% didapatkan aktivitas relatif sebesar 42,1%. Kemudian, penambahan deterjen Daia konsentrasi 3%

didapatkan aktivitas relatif sebesar 33,3% dan penambahan deterjen Total konsentrasi 3% didapatkan aktivitas relatif sebesar 14,2%. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi deterjen maka aktivitas lipase akan semakin menurun.

Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak kasar lipase dari bakteri air bendungan Benanga Lempake tidak memiliki kestabilan yang baik terhadap deterjen. Kriteria lipase yang dapat digunakan sebagai formulasi deterjen adalah lipase yang memiliki stabilitas aktivitas di atas 70% saat ditambahkan dengan detergen dengan konsentrasi 1%. Dikarenakan ekstrak kasar lipase dari bakteri air bendungan Benanga Lempake memiliki aktivitas relatif kurang dari 70% pada penambahan deterjen komersial dengan konsentrasi 1% sehingga dapat disimpulkan lipase ini tidak dapat dikatakan berpotensi digunakan untuk aplikasi biodeterjen.

KESIMPULAN

Tujuh isolat bakteri dari air bendungan Benanga Lempake memiliki aktivitas lipase. Isolat bakteri nomor 4 memiliki aktivitas lipase tertinggi dengan aktivitas sebesar 3,3 U/mL. Ekstrak kasar lipase dari bakteri air bendungan Benanga Lempake tidak memiliki kestabilan yang baik terhadap deterjen dan memiliki aktivitas relatif kurang dari 70% pada penambahan deterjen 1% (w/v) sehingga tidak dapat digunakan untuk aplikasi biodeterjen.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Gupta, R., Gupta, N., dan Rathi, P. 2004. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 64. 763-81.
- [2] Murni, S. W., Kholisoh, S. D., and Petrissia, E.M. 2011. Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. 104(2011): 62-274.
- [3] Kasipah C. Sinta R dan Zeily N. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil* 28(1):1 – 46. Kelompok Keahlian Biokimia FMIPA, ITB, Balai Besar Tekstil, Bandung.
- [4] Chandra, P., Enespa, R.Singh dan P.K. Arora. 2020. Microbial Lipases and Their Industrial Applications: a Comprehensive Review. *Microbial Cell Factories.* 19(169).
- [5] Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC. 2001. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances* 19:627–662.
- [6] Lienfield, W. M., O 'Brien, D. J., Serota, S., Barauskas, R. A. 1984. Lipid-Lipase Interaction I. Fat Splitting With Lipase from *Candida Rogusa*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(6), 1067-1071.