

# PENGARUH ION LOGAM TERHADAP AKTIVITAS LIPASE DARI ISOLAT BAKTERI HALOFILIK PADA AIR LAUT MUARA BADAK

## EFFECT OF METAL IONS ON LIPASE ACTIVITY FROM HALOPHILIC BACTERIAL ISOLATES ON SEA WATER MUARA BADAK

Safriyah Hannum Nasution, Winni Astuti\*, Rudi Kartika

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman  
Jalan Barong Tongkok, Kampus Gn. Kelua, Samarinda 75123

\*E-mail: winniastuti@gmail.com

Received: 31 October 2018, Accepted: 01 April 2019

### ABSTRACT

This research was conducted to select the halophilic lipase-producing bacteria and to know the influence of metal ions on crude lipase extracts. Selection of lipase-producing bacteria was indicated by the presence of an orange glow around the colony under UV light on Nutrient Agar media containing olive oil and Rhodamine-B. The isolate which had the highest lipase activity was then produced and the lipase was tested for its activity. The results obtained by the production of lipase at 72 hours. Addition of  $\text{CaCl}_2$  increased lipase activity with relative activity by 115% whereas,  $\text{KCl}$ ,  $\text{BaCl}_2$  and  $\text{MgCl}_2$  decreased lipase activity with relative activity respectively by 78.82, 96.5 and 80% to lipase activity without the addition of metal ions. The addition of  $\text{FeCl}_3$  caused denaturation on crude lipase extract.

**Keywords:** Halophilic Bacteria, Lipase, Metal Ion

### PENDAHULUAN

Lipase merupakan enzim yang penting dalam bidang bioteknologi dan memiliki banyak aplikasi di bidang industri seperti industri makanan, susu, detergen dan farmasi. Beberapa genus bakteri penghasil lipase antara lain adalah *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Burkholderia* [1].

Terdapat berbagai penelitian berhasil memperoleh lipase yang diproduksi oleh bakteri halofilik diantaranya terdapat bakteri halofilik penghasil lipase dari danau Maharlu, Iran. Dari bakteri tersebut, diperoleh *Bacillus vallismortis* BCCS 007 dengan aktivitas lipase tertinggi, yaitu sebesar 3,41 U/mL [2]. Penelitian yang lain juga memperoleh 3 isolat bakteri halofilik (SP4, SP8 dan SP22) yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dari Soutpan, Afrika Selatan [3].

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu dan informasi mengenai potensi lipase yang dihasilkan dari bakteri halofilik maka penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dari isolat bakteri halofilik pada air laut Muara Badak.

### METODOLOGI PENELITIAN

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cool box*, gelas ukur, gelas kimia, pipet mikro, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung mikro, batang pengaduk, gelas ukur, corong kaca, *hot plate*, Whatmann filter 0,2  $\mu\text{m}$ , termometer, *water shaker*, Erlenmeyer, labu ukur, pH meter, *laminar air flow cabinet*, spatula, oven, cawan petri, Inkubator, *Centrifuge*, neraca analitik, Autoklaf, *hocky stick*, tip biru 1000  $\mu\text{L}$ , tiang statif, buret, tip kuning 200  $\mu\text{L}$ , jarum ose, Bunsen dan Spektrofotometer *Visible*.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air laut Muara Badak, Etanol 95%, minyak zaitun, gum arab, aquades, Aseton, aluminium foil, kapas, tisu, kasa, nutrient agar, *yeast extract*, tripton,  $\text{NaCl}$ , plastik, indikator fenoltalein, Rhodamin B,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{NaOH}$ .

**Prosedur Penelitian**

**Penentuan waktu produksi lipase**

Penentuan waktu produksi lipase dilakukan dengan menumbuhkan 10 µL isolat bakteri terpilih ke dalam 5 mL media cair LB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24; 48 dan 72 jam. Setelah isolat bakteri tumbuh, dilakukan uji aktivitas lipase secara kuantitatif.

**Produksi lipase dari isolat bakteri**

Waktu inkubasi dengan aktivitas lipase tertinggi digunakan untuk produksi lipase. Produksi lipase dilakukan dengan menumbuhkan 10 µL isolat bakteri terpilih ke dalam 10 mL media cair LB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam di atas *water shaker*. Selanjutnya isolat bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar lipase dan dilakukan pengujian aktivitas lipase secara kuantitatif.

**Uji aktivitas lipase secara kuantitatif**

Uji aktivitas lipase dilakukan menggunakan metode titrimetri minyak zaitun 0,05 mL dan gum arab 0,05 gram dimasukkan ke dalam buffer fosfat pH 7,5 sebanyak 4 mL. Selanjutnya, larutan enzim ditambahkan sebanyak 1 mL ke dalam campuran substrat lalu dihomogenkan. Setelah itu, larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian, ke dalam campuran ditambahkan larutan aseton:etanol (1:1) 10 mL. Selanjutnya larutan dititrasi menggunakan NaOH 0,02 M dengan penambahan 1 tetes indikator fenolftalein hingga warna larutan menjadi merah jambu dan tidak hilang. Kemudian, dicatat volume titrasi enzim. Titrasi dilakukan secara triplo. Untuk kontrol, ekstrak kasar enzim diganti dengan menggunakan aquades.

**Pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase**

Pengaruh ion logam terhadap ekstrak kasar lipase ditentukan dengan penambahan larutan CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub>, KCl dan FeCl<sub>3</sub> 0,1 M sebanyak 120 µL pada enzim 1 mL dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang [4]. Sebanyak 0,05 gram gum arab dan minyak zaitun dengan konsentrasi optimum dimasukkan ke dalam buffer pH optimum sebanyak 3880 µL. Kemudian, larutan enzim yang telah diinkubasi dengan logam ditambahkan ke dalam campuran substrat. Selanjutnya dilakukan uji seperti penentuan aktivitas lipase yang sebelumnya.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Penentuan Waktu Produksi dan Uji Aktivitas Lipase**

Isolat bakteri terpilih diukur aktivitasnya di berbagai waktu produksi. Penentuan waktu produksi

dilakukan dengan 3 variasi waktu produksi yaitu pada 24, 48 dan 72 jam dan aktivitas lipasena diukur dengan menggunakan metode Titrasi. Hasil pengukuran dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hubungan waktu produksi terhadap aktivitas lipase

Waktu Produksi (jam)	Aktivitas Lipase (U/mL)
24	1,73
48	1,86
72	2,13

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 1, diperoleh aktivitas lipase tertinggi pada waktu inkubasi 72 jam. Dengan demikian, pada saat produksi lipase digunakan waktu inkubasi tertinggi agar didapatkan aktivitas lipase yang besar. Produksi lipase dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri selama 72 jam pada suhu 37°C. Ekstrak kasar lipase yang dihasilkan disimpan pada suhu -20°C agar tidak mengalami kerusakan dan menjadi tidak aktif.

**Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase**

Lipase merupakan salah satu enzim yang aktivitasnya dapat dipengaruhi oleh logam. Hal ini disebabkan beberapa ion logam dapat meningkatkan aktivitas lipase yang disebut sebagai aktivator. Sedangkan, beberapa ion logam tertentu dapat menurunkan aktivitas lipase yang disebut inhibitor. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase ditentukan dengan penambahan larutan CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub>, KCl dan FeCl<sub>3</sub> 0,1 M pada ekstrak kasar lipase. Data hasil pengukuran pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase

Ion Logam	Aktivitas Lipase (U/mL)	Aktivitas Relatif (%)
Tanpa Ion Logam	0,5695	100
Ca <sup>2+</sup>	0,6566	115
Mg <sup>2+</sup>	0,4556	80
Ba <sup>2+</sup>	0,5494	96,5
K <sup>+</sup>	0,4489	78,82
Fe <sup>3+</sup>	1,8894	331,7

Berdasarkan data yang diperoleh menunjukkan bahwa adanya Ca<sup>2+</sup> meningkatkan aktivitas enzim dengan aktivitas relatif sebesar 115% sehingga Ca<sup>2+</sup>

merupakan aktivator bagi ekstrak kasar lipase. Penambahan  $Ba^{2+}$ ,  $K^+$  dan  $Mg^{2+}$  menurunkan aktivitas lipase. Hal ini menandakan bahwa ion logam tersebut bersifat sebagai inhibitor. Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Inhibitor dapat membentuk kompleks dengan enzim baik pada sisi aktif enzim maupun bagian lain dari sisi aktif enzim. Terbentuknya kompleks enzim-inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim [5]. Pada penambahan  $Fe^{3+}$ , enzim menggumpal dan aktivitas lipase meningkat sangat tinggi yaitu dengan aktivitas relatif sebesar 331,7%. Hal ini dikarenakan  $FeCl_3$  merupakan garam logam berat sehingga dapat mendenaturasi lipase. Selain itu, diduga  $Fe^{3+}$  yang telah menghidrolisis substrat dan menyebabkan jumlah asam lemak bebas menjadi tinggi.

Garam divalen yang pada penelitian ini adalah  $BaCl_2$  dan  $MgCl_2$  memiliki muatan positif lebih banyak daripada garam monovalen yaitu KCl. Pada konsentrasi yang sama, ikatan antara kation garam monovalen dengan anion pada rantai samping asam amino lipase lebih lemah dibandingkan dengan garam divalen. Lemahnya ikatan yang terjadi membuat struktur lipase menjadi kurang stabil sehingga aktivitasnya lebih rendah. Hal ini dapat dibuktikan dimana aktivitas relatif KCl paling rendah yaitu 78,82%. Sedangkan dalam 1 golongan, semakin besar jari-jari ion maka semakin lemah ikatan yang akan terbentuk antara kation pada garam dengan anion pada rantai samping asam amino [6]. Namun, pada uji ini, hasil yang diperoleh penambahan  $MgCl_2$  menyebabkan aktivitas enzim menurun lebih besar dibandingkan dengan  $BaCl_2$ .

## KESIMPULAN

Ekstrak kasar lipase dari bakteri halofilik yang diisolasi dari air laut Muara Badak dipengaruhi oleh ion logam.  $Ca^{2+}$  bersifat sebagai aktivator sehingga dapat meningkatkan aktivitas lipase sedangkan  $K^+$ ,  $Ba^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  bersifat sebagai inhibitor sehingga menurunkan aktivitas lipase. Penambahan  $Fe^{3+}$  menyebabkan ekstrak kasar lipase terdenaturasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pramiadi, D., Yulianti, E. dan Rakhmawati, A. 2014. Isolasi dan uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi. *Jurnal Sains Dasar*, Vol. 3(1), Hal 9-19.
- [2] Ghasemi, Y. Amini, S. R. Kazemi, A., Morowvat M.H. dan Kargar, M. 2011. Isolation and characterization of some moderately halophilic bacteria with lipase activity. *Mikrobiologia*, Vol. 80(4).
- [3] Selvarajan, R., Sibanda, T., Tekere, M., Nyoni, H. dan Taylor, S. M. 2017. Diversity analysis and bioresource characterization of halophilic bacteria isolated from a South African Saltpan. *Molecule*.
- [4] Moreno, M. L., Garcia, M. T., Ventosa, A. dan Mellado. E. 2009. Characterization of *Salicola* sp. IC10, a lipase and protease producing extreme halophile. *Research Article*.
- [5] Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press.
- [6] Anisa, S., Mulyani, N. S dan Asy'ari, M. 2017. Pengaruh garam monovalen ( $NaCl$  dan  $KCl$ ) dan divalen ( $BaCl_2$  dan  $MgCl_2$ ) terhadap aktivitas protease ekstraseluler bakteri halofilik isolat bittern tambak garam Madura. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, Vol. 20(1) Hal. 37-41.