

# SELEKSI BAKTERI POTENSIAL PENGHASIL ENZIM HIDROLITIK DARI SAMPEL TANAH TEMPAT PEMBUANGAN AKHIR BUKIT PINANG SAMARINDA

## SELECTION OF POTENTIAL BACTERIA PRODUCING HYDROLITIC ENZYMES FROM SOIL SAMPLES AT THE BUKIT PINANG SAMARINDA LANDFILL

Junior Try Admaja, Winni Astuti \*, Rudi Kartika

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman, Samarinda 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

\* Corresponding Author : [winniaastuti@fmipa.unmul.ac.id](mailto:winniaastuti@fmipa.unmul.ac.id)

### Article History

Submitted : 25 June 2024

Accepted: 22 August 2024

### ABSTRACT

Bacteria are one of the microorganisms that have the potential to produce hydrolytic enzymes. This research was carried out to isolate bacteria from the soil of the Bukit Pinang Samarinda Final Disposal Site and select bacteria that produce cellulase, protease and lipase. Bacteria from landfill soil were isolated using the spread plate method and 10 single colony bacterial isolates were selected which were then coded TPA 1 – TPA 10. The results of the selection of bacteria producing hydrolase showed that 9 isolates were capable of producing protease, 6 isolates were capable of producing cellulase and 4 isolates were capable of producing cellulase. The isolate was able to produce the lipase.

**Keywords:** *Bacteria, Bukit Pinang Landfill, Protease, Cellulase, Lipase.*

## 1. PENDAHULUAN

Tempat pembuangan akhir (TPA) Bukit Pinang Samarinda merupakan salah satu TPA yang telah lama digunakan. Setiap harinya, TPA ini dapat menampung sampai 550 ton sampah, di dalamnya terdapat banyak sampah organik dan anorganik.<sup>1</sup> Sampah organik ini berupa sampah domestik dari sisa limbah rumah tangga ataupun industri. TPA ini berupa lahan terbuka sehingga dapat merusak ekosistem di sekitar lingkungan dikarenakan sampah yang terlalu banyak dan tidak dikelola dengan baik.

Bakteri merupakan mikroorganisme yang dapat ditemukan di berbagai tempat seperti di dalam tanah, air, udara, ataupun di dalam lumpur. Bakteri dapat hidup bebas, baik sebagai parasit, saprofit, atau sebagai patogen pada tumbuhan, hewan, dan manusia serta mampu menghasilkan enzim.<sup>2</sup> Enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri salah satunya adalah enzim hidrolase seperti protease, lipase, seulase, amilase dan lainnya.<sup>3</sup> Penggunaan bakteri ini dapat menghasilkan protein atau enzim yang mengubah struktur dari suatu polutan beracun yang mulanya kompleks menjadi struktur yang sederhana sehingga menjadi senyawa yang tidak beracun dan berbahaya.

Enzim merupakan protein yang berperan sebagai biokatalisator yang dapat mempercepat reaksi kimia. Proses mengkatalisis suatu reaksi oleh enzim hidrolase dapat melalui beberapa macam tipe mekanisme, yaitu memecah ikatan peptida, memecah ikatan ester, memecah ikatan glikosida.<sup>4</sup> Pada umumnya enzim dapat diisolasi melalui berbagai jenis bakteri. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri memiliki jumlah dan jenis yang bervariasi.<sup>5</sup> Enzim hidrolase dapat memiliki kemampuan untuk memecah ikatan kimia pada senyawa yang beracun menjadi senyawa yang berkurang toksisitasnya melalui reaksi hidrolisis.

Berdasarkan potensi dari berbagai macam bakteri yang dapat menghasilkan enzim

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



hidrolase, maka diduga bakteri yang diisolasi dari tempat pembuangan akhir (TPA) Bukit Pinang Samarinda dapat menghasilkan enzim hidrolase. Oleh karena itu, penelitian ini akan dilakukan untuk mengisolasi bakteri dari tanah TPA Bukit Pinang Samarinda. Bakteri-bakteri hasil isolasi tersebut diuji kemampuannya untuk menghasilkan enzim protease, selulase dan lipase.

## 2. METODE

### 2.1 Alat dan Bahan

#### 2.1.1. Alat

Pada penelitian ini, digunakan alat-alat seperti, tabung reaksi, tabung mikro, cawan petri, gelas ukur, gelas kimia, labu Erlenmeyer, wadah sampel, pipet mikro 10-100  $\mu\text{L}$ , pipet mikro 100-1000  $\mu\text{L}$ , tip pipet mikro, *laminar air flow cabinet*, *hocky stick*, *spreader*, *hot plate*, *shaker waterbath*, *autoclave*, dan neraca analitik.

#### 2.1.2. Bahan

Pada penelitian ini, digunakan bahan-bahan seperti, sampel tanah dari tempat pembuangan akhir (TPA) Bukit Pinang Samarinda, akuades, etanol 95%, Nutrien Agar, ekstrak *yeast*, tripton, NaCl, *congo red*, Rhodamin B, susu skim, dan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*).

### 2.2 Prosedur Penelitian

#### 2.2.1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel tanah dilakukan di Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Samarinda pada 3 titik, yaitu titik pertama (-0.457052,117.115849), titik kedua (-0.457595,117.115710), dan titik ketiga (-0.457639,117.114780). Ketiga titik sampel tanah tersebut diambil pada kedalaman 10-30 cm menggunakan alat penggerus tanah. Sampel tanah dimasukkan ke dalam wadah plastik. Lalu wadah ditutup dengan rapat dan diberi label. Kemudian, sampel dibawa ke laboratorium untuk diisolasi.<sup>6</sup>

#### 2.2.2. Isolasi Bakteri dari Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA)

Sampel tanah dipindahkan ke wadah steril secara aseptis. Setelah itu, sebanyak sekitar 1 gram tanah dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL air, kemudian pengenceran dilanjutkan hingga diperoleh pengenceran 1000x. Pada masing-masing pengenceran diambil sebanyak 100  $\mu\text{L}$  suspensi sampel menggunakan mikropipet dan diinokulasikan pada media NA 2,5%, selanjutnya diratakan menggunakan *spreader* dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C.

#### 2.2.3. Seleksi Bakteri Penghasil Enzim

Tiap isolat murni bakteri diregenerasi, kemudian diinokulasikan ke dalam 5 mL media Luria Bertani (*yeast* 0,5% + NaCl 1% + tripton 1%) pada tabung reaksi yang berbeda. Bakteri yang telah diinkubasi, masing-masing dibuat dalam bentuk stok gileserol. Bakteri-bakteri hasil regenerasi diseleksi kemampuannya untuk menghasilkan enzim hidrolase.

#### 2.2.4. Seleksi Protease

Media uji yang digunakan adalah media NA yang mengandung susu skim 1%. Tiap kultur cair diambil satu ose dan digores pada permukaan NA susu skim yang telah memadat. Bakteri diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Identifikasi bakteri penghasil protease ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri.<sup>7</sup>

#### 2.2.5. Seleksi Selulase

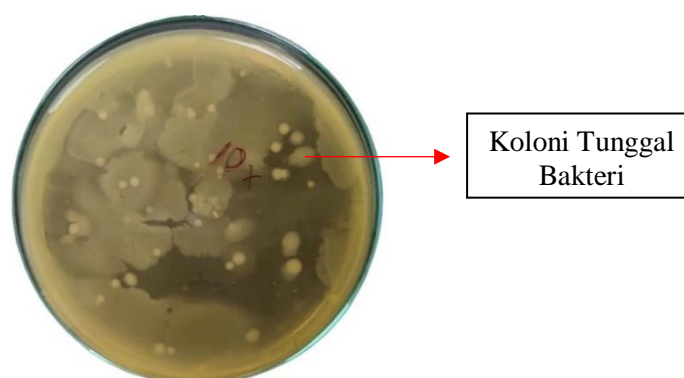
Media uji yang digunakan adalah media NA yang mengandung CMC 1%. Tiap kultur cair diambil satu ose dan digores pada permukaan NA CMC yang telah memadat. Bakteri diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Identifikasi aktivitas selulolitik dilakukan dengan ditambahkan larutan *congo red* 1 % ke atas media kultur dan didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya media dicuci dengan NaCl 2 M. Identifikasi bakteri penghasil selulase ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri.<sup>8</sup>

### 2.2.6. Seleksi Lipase

Media uji yang digunakan adalah media NA yang mengandung minyak zaitun 1%. Selanjutnya media NA minyak zaitun ditambah Rhodamin B 1% steril. Tiap kultur cair diambil satu ose dan digores pada permukaan media yang telah memadat. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Identifikasi bakteri penghasil lipase ditandai dengan adanya pendar berwarna oranye di sekitar koloni bakteri di bawah lampu UV.<sup>7</sup>

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri dilakukan dengan beberapa pengenceran yaitu 10x, 100x dan 1000x pengenceran. Sebanyak 10 koloni tunggal bakteri diambil dari pengenceran 100x dengan metode cawan sebar. Metode ini digunakan untuk menyebarkan bakteri agar tumbuh merata diatas permukaan media NA sehingga diperoleh koloni tunggal. Tumbuhnya koloni tunggal bakteri ditandai dengan adanya bulatan berwarna putih pada permukaan media NA seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Hasil Isolasi Koloni Tunggal Bakteri

Tiap koloni tunggal isolat bakteri diregenerasi menggunakan media LB pada tabung reaksi yang berbeda untuk dibuat stok gliserol. Kemudian isolat bakteri hasil isolasi tersebut digunakan untuk pengujian selanjutnya.

### 3.1 Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Hidrolase

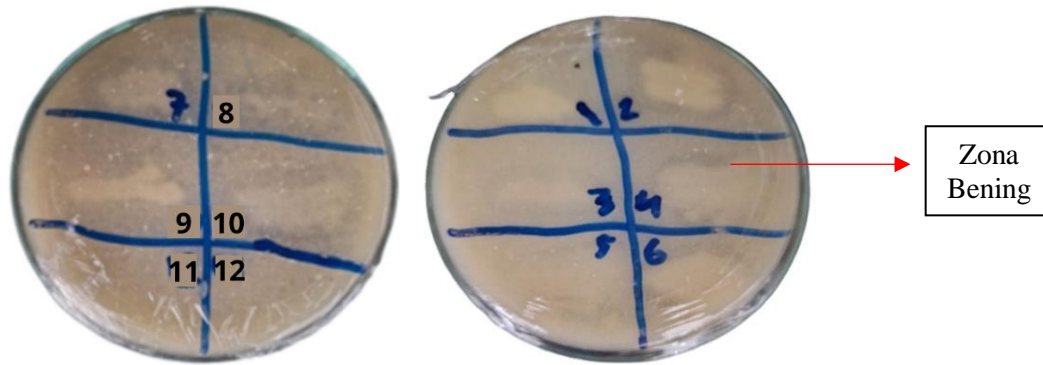
Bakteri-bakteri hasil regenerasi diseleksi kemampuannya untuk menghasilkan enzim hidrolase. Enzim hidrolase yang diuji diantaranya enzim protease, selulase dan lipase. Hasil seleksi bakteri penghasil enzim hidrolase pada 10 isolat bakteri ditampilkan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Hidrolase

Kode Bakteri	Protease	Selulase	Lipase
TPA 1	+	-	+
TPA 2	+	-	+
TPA 3	+	+	-
TPA 4	+	+	-
TPA 5	+	-	+
TPA 6	+	+	-
TPA 7	+	+	-
TPA 8	+	-	-
TPA 9	-	+	+
TPA 10	+	+	-

### 3.2 Enzim Protease

Seleksi isolat bakteri penghasil protease dilakukan secara kualitatif menggunakan media padat NA yang mengandung susu skim 1%. Isolat-isolat bakteri yang dapat menghasilkan protease ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri.

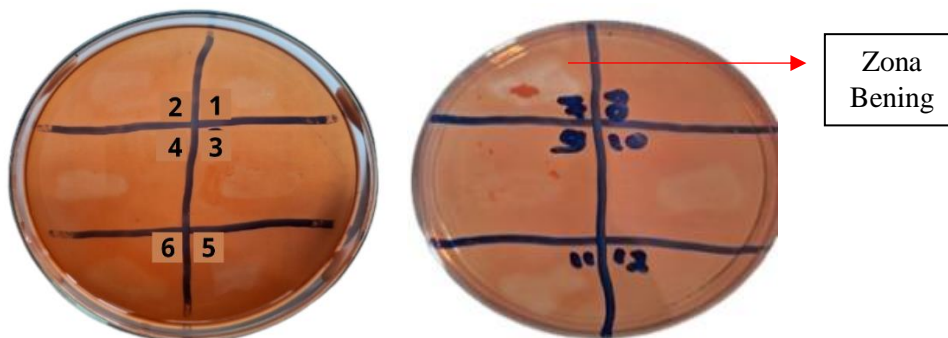


**Gambar 2.** Hasil Isolat Bakteri Penghasil Protease

Hasil seleksi bakteri penghasil enzim protease diperoleh 9 isolat bakteri yang mampu menghasilkan protease, yaitu isolat TPA 1, TPA 2, TPA 3, TPA 4, TPA 5, TPA 6, TPA 7, TPA 8, dan TPA 10 yang ditunjukkan pada **Gambar 2**. Zona bening terbentuk di sekitar isolat-isolat bakteri tersebut yang disebabkan karena protein (kasein) yang terkandung dalam media susu skim telah dihidrolisis oleh protease yang dihasilkan oleh bakteri.<sup>9</sup>

### 3.2 Enzim Selulase

Seleksi isolat bakteri penghasil selulase dilakukan secara kualitatif menggunakan media NA yang mengandung CMC 1%. Isolat-isolat bakteri yang dapat menghasilkan selulase ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri. Zona bening yang diperoleh menandakan bahwa selulosa yang terdapat dalam media telah dihidrolisis oleh selulase yang dihasilkan oleh bakteri.

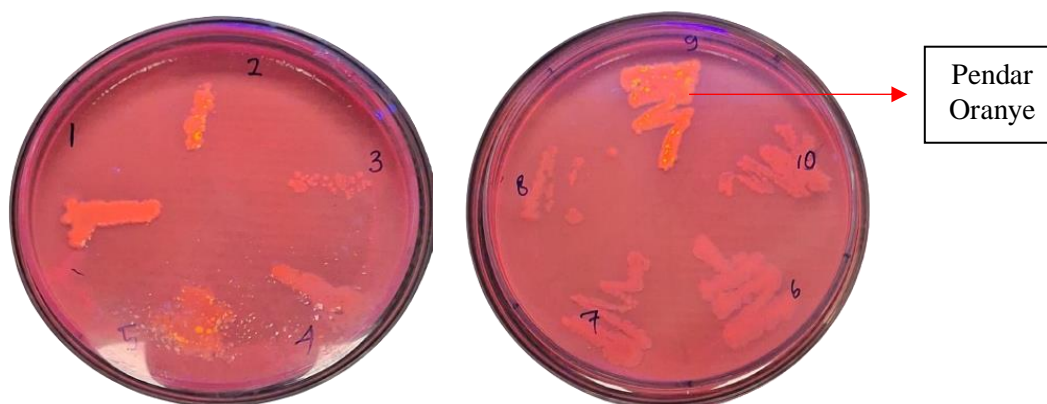


**Gambar 3.** Hasil Isolat Bakteri Penghasil Selulase

Hasil seleksi bakteri penghasil enzim selulase diperoleh 6 isolat bakteri yang mampu menghasilkan selulase, yaitu isolat TPA 3, TPA 4, TPA 6, TPA 7, TPA 9, TPA 10 yang ditunjukkan pada **Gambar 3**. Isolat-isolat tersebut mampu menghasilkan enzim selulase ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri setelah penambahan *Congo Red* dan dicuci dengan NaCl. Zona bening yang terbentuk disebabkan karena selulosa yang terkandung dalam media CMC telah dihidrolisis oleh selulase yang dihasilkan dari bakteri menjadi gula sederhana, yaitu glukosa. Menurut Jannah *et al.* [10], selulase akan menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4 pada selulosa yang terdapat dalam media. Zona bening akan terlihat jelas setelah penambahan larutan *Congo Red* 1% dan dicuci dengan NaCl. Larutan *Congo Red* akan bereaksi secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan  $\beta$ -1,4 glikosida, yaitu CMC. Selain itu, larutan *Congo Red* merupakan garam natrium benzidindiazobis-1-naftilamin-4-sulfonat yang dapat larut dengan penambahan NaCl. Sedangkan warna merah menandakan sisa selulosa yang tidak terhidrolisis sehingga terjadi pembentukan selulosa *Congo Red*.<sup>11</sup>

### 3.3 Enzim Lipase

Seleksi isolat bakteri penghasil lipase dilakukan secara kualitatif menggunakan media padat NA mengandung Rhodamin B. Isolat-isolat bakteri yang dapat menghasilkan lipase ditandai dengan adanya pendar oranye di sekitar koloni bakteri di bawah lampu UV.



**Gambar 4.** Hasil Isolat Bakteri Penghasil Lipase

Hasil seleksi bakteri penghasil enzim lipase diperoleh sebanyak 5 isolat bakteri, yaitu isolat TPA 1, TPA 2, TPA 5, dan TPA 9 yang ditunjukkan pada Gambar 4. Isolat-isolat tersebut mampu menghasilkan enzim lipase yang ditandai dengan adanya pendar berwarna oranye dibawah lampu UV. Pendar oranye yang terbentuk disebabkan karena lipid berupa minyak zaitun dalam media telah dihidrolisis oleh lipase yang dihasilkan dari bakteri menjadi asam lemak bebas (monogliserida atau digliserida). Kemudian, asam lemak bebas yang dihasilkan akan bereaksi dengan Rhodamin B. Adanya ikatan kompleks antara Rhodamin dengan asam lemak bebas akan menyebabkan pendar oranye dibawah lampu UV di sekitar koloni bakteri.<sup>12</sup>

### 4. KESIMPULAN

Sebanyak 10 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari tanah TPA Bukit Pinang Samarinda dan diperoleh 9 isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease, 6 isolat mampu menghasilkan enzim selulase, dan 4 isolat mampu menghasilkan enzim lipase.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Koran Kaltim. TPA Bukit Pinang Over Kapasitas, Pemkot Samarinda Berencana Bangun TPA Abadi di Batu Cermin. Retrieved from <https://korankaltim.com/read/samarinda/58932/tpa-bukit-pinang-over-kapasitas-pemkot-samarinda-berencana-bangun-tpa-abadi-di-batu-cermin>. **2023**. Tanggal Akses : 04 Januari 2023.
2. Harahap, D. G. S.; Noviantari, A.; Hidana, R.; Yanti, N. A.; Nugroho, E. D.; Nurdyansyah, F.; Kharir, W. D. A.; Pratiwi, R. H.; Nendissa, D. M.; Nendissa, S. J.; Noer, A. N. S.; Watuguly, T. W.; Setyowati, E.; & Estikomah, S. A. *Dasar-Dasar Mikrobiologi dan Penerapannya*. Bandung: Widina Bhakti Persada Bandung. **2021**.
3. Jannah, S. N.; Hanifa, Y. R.; Utomo, A. B.; Prambodo, A. K. D.; & Lunggani, A. T. Isolasi Dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri *Symbion Padina* Sp. Dari Pantai Lengkuas Belitung. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi* **2021**, 23(1), 11-17.
4. Ethica, S. N. *Buku Referensi Bioremediasi Limbah Biomedik Cair*. Yogyakarta: Deepublish. **2018**.
5. Moroki, R. I.; Ginting, E. L.; Wullur, S.; Warouw, V.; & Ngangi, E. L. Penapisan Bakteri *Symbion Lamun Thalassia Hemprichii* Penghasil Enzim Hidrolase. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis* **2022**, 10(1), 56-62.

6. Fanida, Z. M.; & Ardiningsih, P. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur (Fungi) Tanah Gambut Pontianak. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* **2019**, 8(2), 82–88.
7. Setyati, W. A.; Habibi, A. S.; Subagiyo, S.; Ridlo, A.; Soenardjo, N.; & Pramesti, R. Skrining Dan Seleksi Bakteri Symbion Spons Penghasil Enzim Ekstraseluler Sebagai Agen Bioremediasi Bahan Organik Dan Biokontrol Vibriosis Pada Budidaya Udang. *Jurnal Kelautan Tropis* **2016**, 19(1), 11-20.
8. Kasana, R. C.; Salwan, R.; Dhar, H.; Dutt, S.; & Gulati, A. A Rapid And Easy Method For The Detection Of Microbial Cellulases On Agar Plates Using Gram's Iodine. *Current Microbiology* **2008**, 57, 503-507.
9. Zainuddin, M. Isolasi, Seleksi Dan Identifikasi Genotipik 16 S-Rrna Bakteri Proteolitik Indogeneous Dari Ekosistem Mangrove Karimunjawa Sebagai Kandidat Konsorsium Probiotik Untuk Bioremediasi Limbah Organik Tambak. *Akuatik: Jurnal Sumberdaya Perairan* **2017**, 11(1).
10. Jannah, S. N.; Hanifa, Y. R.; Utomo, A. B.; Prambodo, A. K. D.; & Lunggani, A. T. Isolasi Dan Potensi Enzim Hidrolase Bakteri Symbion *Padina* Sp. Dari Pantai Lengkuas Belitung. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi* **2021**, 23(1), 11-17.
11. Murtiyarningsih, H.; & Hazmi, M. Isolasi dan uji aktivitas enzim selulase pada bakteri selulolitik asal tanah sampah. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)* **2017**, 15(2).
12. Kasipah, C.; Rismayani, S.; Ihsanawati, I.; & Nurachman, Z. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Arena Tekstil* **2013**, 28(1), 1-46.