

WAKTU PRODUKSI OPTIMUM LIPASE DARI BAKTERI ENDOFIT DAUN *Macaranga hullettii* King ex Hook.f.

THE OPTIMUM PRODUCTION TIME OF LIPASE FROM ENDOPHYTIC BACTERIA LEAVES OF *Macaranga hullettii* King ex Hook.f.

Nelly Marliani, Winni Astuti*, Rudi Kartika

Program Studi S1 Kimia, 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: 01 November 2018, Accepted: 01 March 2019

ABSTRACT

Endophyte bacteria isolate from the leaves of *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. has potential to produce lipase. The study was conducted to filter lipase producing endophyte bacteria from *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. and determine the optimum production time. The results of screening endophyte bacteria showed 6 isolates of endophyte bacteria that had the potential to produce lipase and 1 isolate was chosen which was number 5 to determine the optimum production time. The optimum production time of lipase from *Macaranga hullettii* King ex hook.f. leaves for 72 hours with activity of 2.92 U/mL.

Keywords: Endophyte Bacteria, *Macaranga hullettii* King ex Hook.f., Lipase, Optimum Production Time

PENDAHULUAN

Lipase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis ikatan ester terutama lemak netral seperti trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol [1]. Enzim yang diisolasi dari mikroorganisme sangat banyak digunakan karena untuk produksinya hanya memerlukan waktu yang sangat singkat dan nilai aktivitasnya dapat meningkat dengan kondisi pertumbuhan yang tepat serta lahan produksi yang diperlukan tidak luas [2].

Bakteri endofit ialah bakteri yang hidup pada jaringan tumbuhan dan berkoloni pada sistem vaskular dan daerah ruang interseluler. Setiap tanaman mengandung beberapa jenis bakteri endofit yang dapat memperoleh senyawa biologi dan metabolit sekunder yang diduga akibat koevolusi atau transfer genetik [3]. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan lipase yaitu bakteri endofit dari buah tanaman kelapa sawit yang menunjukkan adanya aktivitas lipase [4]. Selain itu, bakteri endofit dari tanaman obat *Plectranthus tenuiflorus* yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dari spesies bakteri *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus* dan *Pseudomonas* sp [5].

Melihat potensi bakteri endofit dalam memproduksi lipase, maka diduga bakteri endofit yang diisolasi dari daun *Macaranga hullettii* King ex

Hook.f. dapat memproduksi lipase. Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menentukan waktu optimum produksi lipase dari bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. dan menentukan aktivitasnya.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *beaker glass*, gelas ukur, pipet tetes, pipet mikro (20-200 μ L), pipet mikro (100-1000 μ L), tabung mikro 2 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *waterbath shaker*, labu Erlenmeyer, *hot plate*, labu ukur, *laminar air flow cabinet*, *magnetic stirrer*, jarum ose, spatula, oven, cawan petri, inkubator, *autoclave*, *hocky stick*, tip biru, tip kuning, korek api, *hot plate*, batang pengaduk, neraca analitik, lampu spiritus, klem, buret dan Sentrifugasi Allegra X-22R.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel isolat bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f., aquadest, aluminium foil, tisu, media padat *nutrient agar* (NA), media Luria Bertani (*yeast extract* 0,5 %, *tripton* 1 % dan NaCl 0,5%), kapas, kain kasa, plastik HD, plastik wrap, rhodamin B, NaOH, indikator phenolftalein,

aseton, etanol 95%, etanol 70%, gum arab, *olive oil*, dan larutan buffer pH 7,5.

Prosedur Penelitian

Penapisan bakteri endofit penghasil lipase

Secara kualitatif, aktivitas lipase diidentifikasi dengan terbentuknya warna *orange* yang berpendar pada permukaan koloni bakteri [6]. Isolat bakteri yang telah diinokulasikan ke media *nutrient agar* yang mengandung rhodamin B dan *olive oil* dengan metode *streak plate* untuk memperoleh koloni tunggal yang tunggal yang berpotensi menghasilkan enzim lipase. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama \pm 16 jam. Isolat-isolat yang memperlihatkan adanya aktivitas lipase selanjutnya ditentukan waktu optimum produksinya dan dilakukan uji aktivitas secara kuantitatif.

Penentuan waktu produksi optimum lipase

Penentuan waktu optimum produksi lipase dilakukan pada variasi waktu 24, 48, 72 dan 96 jam. Isolat bakteri terpilih ditumbuhkan ke dalam 5 mL media LB, lalu diinkubasi masing-masing pada variasi waktu dengan suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas lipase untuk memperoleh waktu optimum yang akan digunakan untuk produksi lipase.

Produksi lipase dari isolat bakteri

Media LB digunakan untuk memproduksi enzim lipase, yaitu dengan menumbuhkan 20 μ L isolat bakteri ke dalam 10 mL media produksi LB. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama \pm 72 jam di atas *water shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Isolat disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm dengan suhu 4°C selama 30 menit untuk memisahkan supernatan dan endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar lipase dan dilakukan uji aktivitasnya secara kuantitatif.

Uji aktivitas lipase secara kuantitatif

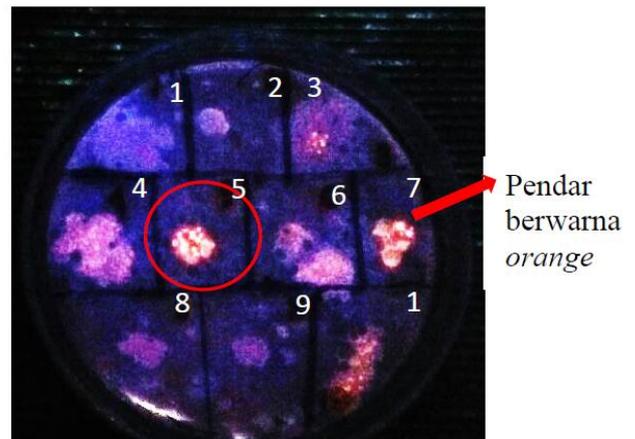
Aktivitas lipase dilakukan berdasarkan metode Lienfield *et al.*, (1984) [1]. Aktivitas lipase ditentukan secara titrimetri dengan menggunakan emulsi *olive oil* yang dibuat dengan mencampurkan 0,05 mL *olive oil* dan 0,05 gram gum arab di dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Kemudian, ditambahkan 4 mL larutan buffer pH 7,5 dan 1 mL ekstrak kasar enzim, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Ditambahkan 10 mL aseton-etanol (1:1) dan dihomogenkan. Ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,02 M. Ketika larutan menjadi warna merah jambu dan tidak hilang maka proses titrasi dihentikan sehingga diperoleh volume titrasi dan

dicatat volume titrasinya. Blanko dibuat dengan cara menggantikan enzim dengan aquadest.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan Bakteri Endofit Penghasil Lipase

Penapisan bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. yang mampu menghasilkan lipase diperoleh 6 isolat yang menunjukkan pendar *orange* di sekitar koloni pada media padat nutrient agar yang mengandung *olive oil* dan rhodamin B seperti yang ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil penapisan bakteri endofit daun *Macaranga Hullettii* King ex Hook.f. yang berpendar *orange* di bawah lampu UV.

Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa isolat nomor 5 memiliki aktivitas tertinggi yaitu 1,8 Unit/mL, isolat nomor 5 kemudian dipilih untuk diproduksi lipasannya. Pendaran warna *orange* yang terbentuk di bawah sinar lampu UV tersebut akibat terbentuknya suatu kompleks antara ion asam lemak yang dihasilkan pada reaksi hidrolisis enzimatis oleh lipase dengan kationik rhodamin B. Keberadaan *olive oil* dalam medium pertumbuhan adalah sebagai substrat yang komposisinya sebagian besar terdiri atas trigliserida. Sedangkan rhodamin B sebagai indikator adanya asam lemak yang dihasilkan dari proses hidrolisis substrat oleh lipase [7].

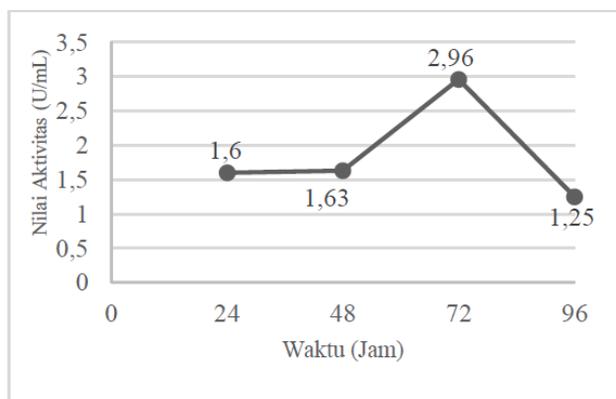
Produksi dan Penentuan Waktu Produksi Optimum Lipase

Penentuan waktu produksi optimum lipase dilakukan dengan 4 variasi waktu inkubasi. Waktu optimum yang diperoleh kemudian akan digunakan untuk waktu produksi selanjutnya. Hasil pengukuran waktu optimum produksi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penentuan waktu produksi optimum lipase.

Waktu produksi (jam)	Nilai aktivitas (U/mL)
24	1,60
48	1,63
72	2,96
96	1,25

Berdasarkan Tabel 1. maka dibuat grafik yang menunjukkan hubungan antara waktu produksi lipase dengan nilai aktivitas lipase yang ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Waktu produksi optimum lipase

Waktu inkubasi optimum untuk produksi lipase yakni 72 jam dengan aktivitas lipase sebesar 2,96 U/mL. Kemudian pada saat 96 jam inkubasi aktivitas lipase menjadi menurun sebesar 1,25 U/mL. Peningkatan aktivitas lipase pada waktu 72 jam diduga karena jumlah bakteri yang tumbuh sama dengan jumlah bakteri yang mati, hal ini terjadi karena nutrisi dan cadangan energi dalam sel mulai menipis akibatnya bakteri tidak lagi membelah diri dan menghasilkan produk. Sedangkan pada waktu 96 jam semakin banyak jumlah bakteri yang mati daripada bakteri yang hidup karena jumlah nutrisi dalam media telah habis, akibatnya produk yang dihasilkan bakteri menjadi sedikit [9]. Menurut Andersson aktivitas lipase dari *Pseudomonas fluorescens* diperoleh maksimal pada waktu 3 hari inkubasi (72 jam) [10]. Selain itu, lipase dari *Neurospora sitophila* diproduksi maksimal pada waktu 72 jam [11].

KESIMPULAN

Bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. menghasilkan lipase pada waktu produksi optimum 72 jam dengan aktivitas lipase sebesar 2,96 Unit/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Lienfield, W. M., O'Brien, D. J., Serota, S., Barauskas, R. A. 1984. *Lipid-Lipase Interaction I. Fat Splitting With Lipase from Candida Rogusa*. *JAOCS*, 61(6), 1067-1071.
- [2] Susanty, A., Fitriani, Candra, K. P. 2013. Isolasi Bakteri Penghasil Lipase Dengan Kemampuan Esterase Untuk Produksi Metil Ester. *J Riset Tech Ind*, 134-142.
- [3] Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit Dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. 2 No. 3*, 113-126.
- [4] Djafar, F., Purwandaria, T., Sinurat, A. P. 2010. Isolation of Endophytic Bacteria from Palm Oil Fruits and Characterization of Their Lipases. *Microbiol Vol. 4 No. 2*, p 1-6.
- [5] El-Deeb, B., Fayez, K., Gherbawy, Y. 2013. Isolation and Characterization of Endophytic Bacteria from *Plectranthus tenuiflorus* Medicinal Plant in Saudi Arabia Desert and Their Antimicrobial Activities. *J Plant Interactions Vol. 8 No. 1*, 56-64.
- [6] Pramiadi, D., Yulianti, E., Rakhmawati, A. 2014. Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Lipase Termotabil Dari Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi. *J Sains Dasar*, 3(1), 9-19.
- [7] Kouker, G dan Jaeger K. E. 1986. Specific and Sensitive Plate Assay for Bacterial Lipases. *Applied and Environmental Microbiology*, 211-213.
- [8] Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- [9] Andersson, R. E. 1980. Production Lipolysis and Formation of Volatile Compounds by *Pseudomonas fluorescens* in Fat Containing Media Junk Food. *Microb Technol Vol. 45*: 1694-1701.
- [10] Tripanji, Suharyanto, Arini, N. 2008. Lipase Spesifik 1,3-Gliserida Dari Fungi Lokal Untuk Biokonversi CPO Menjadi Diasilgliserol. *Menara Perkebunan*, 76(1), 11-22.