

## **SKRINING BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN OKRA (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) SEBAGAI PENGHASIL LIPASE**

### ***ENDOPHYTIC BACTERIA SCREENING FROM THE LEAVES OF OKRA (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) WHICH PRODUCED LIPASE***

**Nanda Putri Utami, Winni Astuti\*, dan Rudi Kartika**

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: 14 November 2019, Accepted: 10 August 2020*

#### **ABSTRACT**

Endophytic bacteria found in plant tissues can produce enzymes, one of which is lipase. The purpose of this study was to screening endophytic bacteria from the leaves of Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) which produced lipases. The method used in this study is screening with media *nutrient agar* (NA) containing Rhodamine B and olive oil. The results showed that 4 of bacterial isolates (D1, D2, D3 and D4) from 14 endophytic bacterial isolates had lipase activity. The crude lipase extract was quantitatively tested for lipase activity by the titrimetry method. The highest lipase activity was shown by isolates with a D1 code of 1.50 U/mL.

**Keywords:** *Endophyte Bacteria, Okra (Abelmoschus esculentus* L. Moench), *Lipase.*

#### **PENDAHULUAN**

Enzim merupakan kelompok protein yang dapat berperan sebagai biokatalisator. Sebagai biokatalisator, enzim bekerja meningkatkan kecepatan reaksi dengan menurunkan energi aktivasinya [1]. Pemanfaatan enzim banyak digunakan dalam industri baik dalam bidang pangan, kedokteran, farmasi, kesehatan maupun energi alternatif. Salah satunya adalah enzim lipase.

Lipase dapat memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Lipase ditemukan pada hewan, tanaman serta mikroorganisme (bakteri dan jamur) [2]. Lipase dimanfaatkan dalam industri pangan, detergen dan kosmetik (parfum) [3]. Selain itu juga dimanfaatkan untuk sintesis bahan organik [4].

Endofit merupakan mikroba berupa jamur atau bakteri yang berkembang di daun, batang dan dahan yang sangat bermanfaat dan tidak menimbulkan kerusakan pada inangnya [5]. Mikroba endofit memiliki potensi menghasilkan senyawa bioaktif sebagai perlindungan tanaman [6]. Umumnya senyawa yang dihasilkan bakteri endofit terdapat dalam tanaman inangnya karena adanya bantuan enzim, sehingga enzim dari mikroorganisme lebih

menguntungkan dibandingkan yang berasal dari hewan dan tumbuhan [7].

Berbagai penelitian telah berhasil memperoleh bakteri endofit penghasil enzim lipase. Carrim (2006) berhasil memperoleh 10 isolat bakteri endofit dari *Jacaranda decurrens*, 4 diantaranya menghasilkan aktivitas lipolitik. Soka *et al.*, (2012) memperoleh 18 isolat bakteri endofit yang telah dimurnikan dari tanaman *Pluchea indica*, *Piper crocatum*, *Nothopanax scutellarium*, *Curcuma longa*, *Citrus* sp. dan *Andrographis paniculata* memiliki 2 isolat yang berpotensi adanya aktivitas lipolitik. Khianngam *et al.*, (2013) memperoleh 16 isolat dari 20 isolat bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan lipase dengan aktivitas tertinggi sebesar 6,14 U/mL.

Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut menunjukkan potensi bakteri endofit sebagai penghasil enzim lipase. Penelitian ini dilakukan untuk skrining bakteri endofit dari daun okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) yang dapat menghasilkan 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 stik*, *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 okra (*Abelmoschus esculentus* L Moench), 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 fenoltalein, dan NaOH.

### Prosedur Penelitian

#### Isolasi bakteri endofit

Daun okra (*Abelmoschus esculentus* L Moench) disterilisasi dengan mencuci secara bertahap menggunakan air, etanol, bayclin dan aquades steril. Kemudian sampel daun yang telah disterilisasi dipotong kecil-kecil dan disebar pada media padat *nutrient agar* (NA) yang selanjutnya diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37 °C. Daerah keruh disekitar sampel tersebut menunjukkan adanya bakteri endofit yang tumbuh. Bakteri endofit hasil isolasi pada media padat *nutrient agar* (NA) dibiakkan dengan mengambil satu ose bakteri lalu diinokulasikan ke dalam 5 mL media cair Luria Bertani (tripton 1%, yeast 0,5% dan NaCl 1%) steril dan diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37 °C hingga diperoleh kultur bakteri endofit.

#### Pembuatan kultur gliserol stok

Isolat bakteri endofit yang telah dimurnikan masing-masing dibuat gliserol stok dengan mencampurkan 800 µL isolat murni bakteri endofit dengan 200 µL gliserol stok ke dalam tabung mikro 2 mL. kemudian di vortex selama beberapa menit hingga isolat dan gliserol homogen.

#### Skrining isolat bakteri penghasil lipase

Isolat bakteri terpilih ditebar pada media padat NA (*Nutrient Agar*) yang telah mengandung Rhodamin B dan minyak zaitun lalu diinkubasi selama (16-18) jam pada suhu 37°C. Secara kualitatif adanya lipase ditunjukkan dengan pendaran warna jingga disekitar koloni bakteri di bawah sinar lampu UV. Isolat-isolat yang memperlihatkan adanya aktivitas lipase diproduksi untuk dilakukan uji secara kuantitatif dengan metode titrimetri.

#### Produksi lipase dari isolat bakteri

Isolat bakteri terpilih diinokulasi dengan cara diambil 20 µL lalu ditumbuhkan pada 20 mL media

cair LB (*Luria Bertani*) dan *dishaker* selama  $\pm 72$  jam pada suhu 37°C menggunakan kecepatan 150 rpm. Selanjutnya, isolat bakteri yang telah ditumbuhkan disaring menggunakan *syringe filter* untuk memisahkan filtrat dan endapannya. Filtrat yang diperoleh merupakan ekstrak kasar lipase dan dilakukan pengujian aktivitas lipase secara kuantitatif.

#### Uji aktivitas lipase secara kuantitatif

Larutan buffer fosfat pH 7,5 sebanyak 4 mL dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan gum arab 0,05 gram dan 50 µL minyak zaitun ke dalam labu Erlenmeyer. Ekstrak kasar enzim sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam campuran lalu dihomogenkan. Enzim dan substrat diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian ditambahkan 10 mL larutan aseton-alkohol (1:1) dan dihomogenkan lalu ditambahkan 1 tetes indikator PP. Setelah itu dititrasi dengan menggunakan NaOH 0,02 M hingga warna larutan menjadi merah muda stabil, lalu dicatat volume titrasi. Sebagai kontrol ekstrak kasar enzim diganti dengan menggunakan akuades. Pengujian dilakukan triplo.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Isolasi Bakteri Endofit

Hasil isolasi bakteri endofit daun okra (*Abelmoschus esculentus* L Moench) ditunjukkan dengan adanya daerah keruh disekitar sampel seperti pada Gambar 1. Bakteri endofit hasil isolasi dibiakkan pada media cair Luria Bertani steril hingga diperoleh kultur bakteri endofit. Dari hasil isolasi bakteri endofit berhasil mendapatkan 14 koloni tunggal seperti pada Gambar 2.



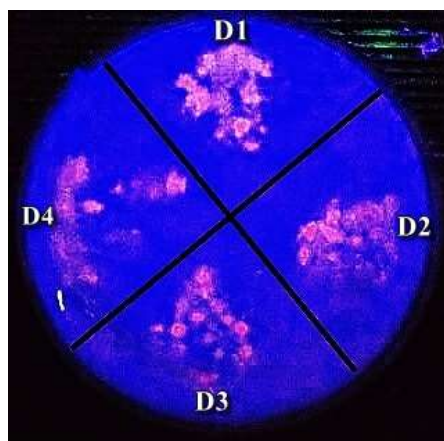
**Gambar 1.** Hasil isolasi bakteri endofit.



Gambar 2. Koloni tunggal bakteri endofit.

### Skrining Isolat Bakteri Penghasil Lipase

Skrining isolat bakteri endofit daun okra (*Abelmoschus esculentus* L.Moench) penghasil lipase dilakukan secara kualitatif dengan pendar jingga di sekitar koloni pada media padat NA yang mengandung *olive oil* dan rhodamin B. Hasil isolasi bakteri endofit diperoleh 4 koloni dari 14 koloni bakteri yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Skrining bakteri endofit daun okra (*Abelmoschus Esculentus* L.Moench) yang berpendar jingga di bawah lampu UV.

Gambar 3 menunjukkan isolat D1, D2, D3 dan D4 memiliki aktivitas lipase ditandai adanya pendar jingga di permukaan koloni bakteri pada media yang berisi rhodamin B ketika terkena sinar UV. Pendar jingga yang terbentuk menunjukkan asam lemak hasil hidrolisis *olive oil* [7]. Asam lemak ini membentuk ikatan kompleks dengan rhodamin B berwarna merah muda atau jingga dan berpendar saat diradiasi di bawah sinar UV [8].

Isolat bakteri D1, D2, D3 dan D4 aktivitas lipasenya diuji secara kuantitatif dengan metode titrimetri. Hasil yang diperoleh ekstrak kasar lipase

dari isolat bakteri D1, D2, D3 dan D4 ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas lipase pada isolat bakteri.

Isolat Bakteri	Aktivitas Lipase (U/mL)
D1	1,50
D2	1,35
D3	0,73
D4	0,37

Berdasarkan data yang didapat isolat bakteri dengan kode D1 memiliki aktivitas lipase tertinggi yaitu 1,50 U/mL. Sehingga isolat bakteri D1 dipilih untuk diproduksi lipasenya.

### KESIMPULAN

Terdapat 4 isolat bakteri endofit dari daun okra (*Abelmoschus esculentus* L.Moench) yang dapat menghasilkan lipase. Isolat D1 memiliki aktivitas lipase tertinggi sebesar 1,50 U/mL.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Suranto A. 2011. *Terapi Enzim*. Jakarta: Penebar Plus.
- [2] Susanti R., dan Fibriana F. 2017. *Teknologi enzim*. Yogyakarta: ANDI OFFSET.
- [3] Hidayat N., Sumarsih S. dan Putri A. I. 2016. *Mikologi Industri*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- [4] Murni S. W., Kholisoh S. D., & D. L, T. 2011. Produksi, karakterisasi, dan isolasi lipase dari *Aspergillus niger*. In *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*.
- [5] Sastrahidayat I. R. 2014. *Peranan mikroba bagi kesehatan tanaman dan kelestarian lingkungan*. Malang: UB Press.
- [6] Melliawati R., Widyaningrum D. N., Djohan A. C., & Sukiman H. 2006. Pengkajian bakteri endofit penghasil senyawa bioaktif untuk proteksi tanaman. *Biodiversitas*. 7(3):221–224.
- [7] Pricilia S., Astuti W., & Marlina E. 2018. Skrining bakteri endofit penghasil amilase, lipase dan protease dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook. f. *Jurnal Atomik*. 3(2): 102–105.
- [8] Kasipah C., Rismayani, S., Ihsanawati, I., dan Nurachman, Z. 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari lumpur aktif instalasi pengolahan air limbah industri tekstil. *Arena Tekstil*. 28(1).