

PENGARUH ION LOGAM TERHADAP AKTIVITAS LIPASE DARI BAKTERI AIR BEKAS GALIAN TAMBANG DI SAMARINDA

Haeruddin, Winni Astuti*, Djihan Ryn Pratiwi

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman,
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

*Corresponding Author: winniastuti@gmail.com

Diterbitkan: 30 Oktober 2023

ABSTRACT

Addition of metal ions on lipase activity has been done. The aim of this research is to find out the effect of metal ions on lipase activity from water bacterial post mining in Samarinda. Lipase activity was determined based on the Titrimetric method with olive oil as a substrate. The result showed lipase activity from water bacterial post mining without the addition of metal ions is 1,0 U/mL and with the addition of metal ions Mg^{2+} , K^+ , Fe^{3+} , Ca^{2+} , dan Ba^{2+} their respective lipase activities is 0,6 U/mL, 0,7 U/mL, 1,9 U/mL, 1,4 U/mL dan 0,8 U/mL. The conclusion that can be drawn that is metal ions K^+ , Mg^{2+} and Ba^{2+} inhibit lipase activity with a relative activity each at 70; 60 dan 80% while Ca^{2+} increase lipase activity with a relative activity at 140% and Fe^{3+} causes denatured lipase with a relative activity at 190%.

Keywords: Bacteria, Lipase, Metal Affect

ABSTRAK

Penambahan ion logam terhadap aktivitas lipase dari bakteri air bekas galian tambang di Samarinda telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ion logam terhadap aktivitas lipase dari bakteri air bekas galian tambang di Samarinda. Aktivitas lipase ditentukan berdasarkan metode Titrimetri dengan substrat berupa minyak zaitun.. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas lipase dari bakteri air bekas galian tambang tanpa penambahan ion logam sebesar 1,0 U/mL sedangkan dengan penambahan ion logam Mg^{2+} , K^+ , Fe^{3+} , Ca^{2+} , dan Ba^{2+} aktivitas lipasanya masing-masing sebesar 0,6 U/mL, 0,7 U/mL, 1,9 U/mL, 1,4 U/mL dan 0,8 U/mL. Kesimpulan yang dapat diambil adalah ion logam K^+ , Mg^{2+} dan Ba^{2+} menghambat aktivitas lipase dengan aktivitas relatif masing-masing sebesar 70; 60 dan 80% sedangkan Ca^{2+} meningkatkan aktivitas lipase dengan aktivitas relatif sebesar 140% dan Fe^{3+} menyebabkan lipase terdenaturasi dengan aktivitas relatif sebesar 190%.

Kata kunci: Bakteri, Lipase, Pengaruh Logam

PENDAHULUAN

Lipase merupakan enzim hidrolase yang berfungsi untuk menghidrolisis triasilgliserol menjadi gliserol dan asam lemak bebas (Treichel, dkk., 2010). Kemampuan katalisis lipase yang beragam memungkinkan lipase digunakan dalam berbagai bidang industri seperti dalam bidang obat-obatan (sebagai enzim untuk membantu pencernaan), bahan tambahan makanan (memodifikasi rasa makanan), pembersih (bahan tambahan pada deterjen), sintesis biopolimer dan digunakan sebagai katalis untuk esterifikasi

minyak pada produksi biodiesel (Damaso, dkk., 2008). Lipase dapat dihasilkan oleh hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Mikroorganisme lebih dipilih untuk memproduksi lipase dibandingkan tumbuhan dan hewan. Hal ini karena mikroorganisme dapat memproduksi lipase dalam jumlah besar menggunakan media sederhana, lipase bakteri dapat dimanipulasi secara genetika dan ketersediaannya tidak tergantung pada musim. Selain itu, mikroorganisme seringkali menghasilkan lipase dengan sifat yang unik (Chandra, dkk., 2020).

Beberapa penelitian tentang pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dari bakteri telah

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



dilakukan. Handayani (2011) memperoleh ekstrak kasar lipase dari bakteri *Azospirillum* sp. PRD1 dengan penambahan Ca^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+} yang meningkatkan aktivitas relatif ekstrak kasar lipase masing-masing menjadi 195, 140, 300, 110, 370 dan 435%. Hal ini menunjukkan bahwa ion-ion tersebut adalah kofaktor bagi ekstrak kasar lipase. Adapun, Cu^{2+} dan Ba^{2+} adalah inhibitor dikarenakan menurunkan aktivitas relatif ekstrak kasar lipase menjadi 20 dan 98%. Lestari (2009) memperoleh ekstrak kasar lipase dari isolat bakteri *Azospirillum* sp. JG3 yang merupakan metaloenzim yaitu kelompok enzim yang berikatan erat dengan logam. Aktivitas relatif ekstrak kasar lipase dapat meningkat dengan penambahan Ca^{2+} sehingga merupakan kofaktor bagi ekstrak kasar lipase. Aktivitas relatif ekstrak kasar lipase dapat menurun dengan penambahan ion Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} dan Mg^{2+} menjadi 61,53; 30,76; 92,30 dan 76,92% sehingga merupakan inhibitor bagi ekstrak kasar lipase. Selain itu, Lestari (2009) memperoleh ekstrak kasar lipase dari isolat bakteri *Azospirillum* sp. JG3 yang merupakan metaloenzim yaitu kelompok enzim yang berikatan erat dengan logam. Aktivitas relatif ekstrak kasar lipase dapat meningkat dengan penambahan Ca^{2+} sehingga merupakan kofaktor bagi ekstrak kasar lipase. Aktivitas relatif ekstrak kasar lipase dapat menurun dengan penambahan ion Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} dan Mg^{2+} menjadi 61,53; 30,76; 92,30 dan 76,92% sehingga merupakan inhibitor bagi ekstrak kasar lipase.

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan maka diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dari bakteri air bekas galian tambang di Samarinda.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Anatomi dan Mikroteknik Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur.

Penentuan Waktu Produksi Optimum Lipase

Penentuan waktu produksi optimum lipase dilakukan dengan variasi waktu 24, 48 dan 72 jam. Isolat bakteri terpilih digunakan untuk menentukan waktu produksi optimum. Isolat bakteri terpilih sebanyak 10% dimasukkan ke dalam 100 mL media LB untuk produksi lipase. Inokulum diinkubasi pada *waterbath shaker* pada

suhu 37°C selama 24, 48 dan 72 jam. Uji aktivitas lipase dilakukan pada semua lipase hasil waktu produksi tersebut. Waktu produksi dengan aktivitas lipase tertinggi merupakan waktu produksi optimum lipase.

Produksi Lipase dari Isolat Bakteri

Produksi lipase dari isolat bakteri dilakukan dengan menumbuhkan 10 μL isolat bakteri terpilih ke dalam 10 mL media cair LB dan dikocok pada suhu 37 °C selama 72 jam menggunakan *shaker waterbath*. Selanjutnya, isolat disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit agar dapat memisahkan endapan dan supernatan. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim lipase dan pengujian aktivitas lipase dilakukan secara kuantitatif.

Uji Aktivitas Lipase Secara Kuantitatif

Uji aktivitas lipase secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan Titrimetri. Gum arab 0,05 gram dan minyak zaitun 0,05 mL dimasukkan ke dalam buffer posfat pH 7,1 sebanyak 4 mL. Kemudian, ekstrak kasar lipase sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam campuran substrat dan dihomogenkan. Selanjutnya, campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu, reaksi 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 lembayung stabil. Selanjutnya, volume titrasi enzim dicatat untuk menentukan aktivitas lipase. Titrasi dilakukan secara triplo.

Pengaruh Ion Logam terhadap Aktivitas Lipase

Pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase ditentukan dengan penambahan berbagai larutan MgCl_2 , KCl , FeCl_3 , CaCl_2 , dan BaCl_2 masing-masing dengan konsentrasi 0,1 M sebanyak 120 μL pada 1 mL ekstrak kasar lipase dan diinkubasi selama 120 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, Gum Arab sebanyak 0,05 gram dan minyak zaitun 0,05 mL dengan konsentrasi optimum dimasukkan ke dalam larutan buffer 3880 μL berdasarkan pH optimum. Kemudian, ekstrak kasar lipase yang telah diinkubasi dengan larutan logam sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam campuran substrat dan dihomogenkan. Selanjutnya, larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah itu, reaksi dihentikan dengan penambahan larutan etanol:aseton (1:1)

sebanyak 10 mL. Kemudian, larutan di titrasi menggunakan larutan KOH 0,02 M dengan penambahan 1 tetes indikator fenolftalein hingga larutan berubah warna menjadi merah muda stabil. Selanjutnya, volume titrasi enzim dicatat untuk menentukan aktivitas lipase. Titrasi dilakukan secara triplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Waktu Produksi Optimum Lipase dan Uji Aktivitas Lipase

Isolat bakteri terpilih diukur aktivitasnya pada berbagai waktu produksi. Penentuan waktu produksi optimum lipase dilakukan dengan 4 variasi waktu inkubasi yaitu 24, 48, 72 dan 96 jam. Aktivitas lipase diukur dengan menggunakan metode Titrimetri dan hasil waktu produksi optimum lipase tersebut ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Waktu Produksi Optimum Lipase

Waktu Produksi (Jam)	Aktivitas Lipase (U/mL)
24	0,78
48	0,96
72	1,44
96	1,08

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa waktu produksi optimum lipase yaitu 72 jam dengan aktivitas lipase sebesar 1,6 U/mL. Lipase mengalami peningkatan aktivitas hingga 72 jam

dikarenakan peningkatan jumlah sel bakteri yang berhubungan dengan produksi enzim (Bora, 2012). Aktivitas lipase juga mengalami peningkatan disebabkan cadangan energi dan sumber nutrisi (sumber nitrogen dan sumber karbon) dalam media semakin berkurang hingga bakteri tidak lagi melakukan pembelahan diri dan menghasilkan produk. Sumber nitrogen berfungsi sebagai pembentukan sel dan sumber karbon digunakan sel bakteri sebagai energi dalam proses metabolisme sel (Okafor, 2007). Sedangkan, pada waktu produksi ke 96 jam aktivitas enzim lipase mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan cadangan nutrisi dalam media telah habis sehingga produk yang dihasilkan bakteri menjadi sedikit (Andersson, 1980).

Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase

Pada kondisi tertentu penambahan ion logam dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Hal ini dikarenakan beberapa ion logam tertentu dapat berperan sebagai aktivator yaitu meningkatkan aktivitas lipase dan beberapa ion logam lainnya dapat berperan sebagai inhibitor yaitu menurunkan aktivitas lipase. Pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase ditentukan dengan penambahan berbagai larutan $MgCl_2$, KCl , $FeCl_3$, $CaCl_2$ dan $BaCl_2$ masing-masing dengan konsentrasi 0,1 M pada ekstrak lipase. Data hasil pengukuran pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dapat ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase

Ion Logam	Aktivitas Lipase (U/mL)	Aktivitas Relatif (%)
Tanpa Ion Logam	1,0	100
Mg^{2+}	0,6	60
K^+	0,7	70
Fe^{3+}	1,9	190
Ca^{2+}	1,4	140
Ba^{2+}	0,8	80

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa aktivitas lipase dari bakteri air bekas galian tambang tanpa penambahan ion logam sebesar 1,0 U/mL. Adanya Ca^{2+} meningkatkan aktivitas enzim dengan aktivitas relatif sebesar 140%. Kofaktor adalah molekul anorganik yang berikatan dengan enzim untuk menjaga bentuk sisi aktif enzim agar berada pada struktur yang sangat sesuai sehingga dapat berikatan dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat (Lestari, 2009). Berdasarkan struktur 3D lipase dari bakteri *Bacillus* sp. L2. pada Gambar 2.2 bahwa Ca^{2+} merupakan kofaktor bagi lipase

(Rahman, 2012). Dengan adanya penambahan $CaCl_2$ pada lipase di penelitian ini juga mengakibatkan aktivitas lipase meningkat. Pada penambahan $FeCl_3$ mengakibatkan enzim menggumpal dan aktivitas lipase juga meningkat tinggi dengan aktivitas relatif sebesar 190,9%. Hal tersebut dikarenakan $FeCl_3$ termasuk logam berat sehingga lipase terdenaturasi. Selain itu, diduga Fe^{3+} yang telah menghidrolisis substrat dan mengakibatkan jumlah asam lemak bebas menjadi tinggi.

Adanya penambahan Mg^{2+} , K^+ dan Ba^{2+} menyebabkan aktivitas lipase menurun. Hal

tersebut menandakan bahwa ion logam tersebut bersifat sebagai inhibitor. Inhibitor merupakan senyawa yang dapat merubah sisi aktif enzim akibat interaksi antara enzim dengan logam sehingga menurunkan kecepatan reaksibahkan dapat menghentikannya (Saryono, 2011). Keberadaan inhibitor dapat menurunkan kecepatan reaksi enzimatik. Inhibitor juga dapat membentuk kompleks dengan enzim baik pada sisi aktif ataupun bagian luar enzim. (Poedjiadi, 1994).

Penambahan $MgCl_2$ dan $BaCl_2$ merupakan garam divalen yang bermuatan positif lebih banyak daripada KCl sebagai garam monovalen. Pada konsentrasi yang sama, ikatan antara kation garam monovalen dengan anion pada rantai samping asam amino lebih lemah daripada garam divalen sehingga menyebabkan struktur lipase menjadi kurang stabil sehingga aktivitasnya lebih rendah (Anisa, 2017). Hal ini dapat terbukti pada aktivitas relatif KCl yang paling rendah sebesar 72,7%. Sedangkan, dalam 1 golongan jika semakin besar jari-jari ion maka semakin lemah ikatan yang terbentuk antara kation pada garam dengan anion pada rantai samping asam amino. Tetapi pada penelitian ini, hasil yang didapatkan dengan penambahan $MgCl_2$ menyebabkan aktivitas enzim menurun lebih besar daripada $BaCl_2$.

SIMPULAN DAN SARAN

Ion logam K^+ , Mg^{2+} dan Ba^{2+} menghambat aktivitas lipase dengan aktivitas relatif masing-masing sebesar 70; 60 dan 80% sedangkan Ca^{2+} meningkatkan aktivitas lipase dengan aktivitas relatif sebesar 140% dan Fe^{3+} menyebabkan lipase terdenaturasi dengan aktivitas relatif sebesar 190%. Adapun diperlukan penelitian lanjutan mengenai identifikasi bakteri dari isolat bakteri penghasil lipase pada air bekas galian tambang Samarinda dan pemurnian lipase dari ekstrak kasar lipase agar diperoleh aktivitas lipase yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Andersson, R. E. 1980. Production Lipolysis and Formation of Volatile Compounds by *Pseudomonas fluorescens* in Fat Containing Media Junk Food. *Microb Technol.* 45: 1694-1701.

Anisa, S., Mulyani, N. S dan Asyari, 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.* 20(1): 37-41.

Bora, M. 2012. Optimization of Extracellular Thermophilic Highly Alkaline Lipase from Thermophilic *Bacillus* sp. Isolated from Hotspiring of Arunacha Pradesh, India. *Brazilian Journal of Microbiology.* 43(1): 30-42.

Chandra, P., Enespa, Ranjan, S. dan Pankaj. K. A. 2020. Microbial Lipases and Their Industrial Applications. *Biomedical and Pharmaceutical Sciences Journal.* 19: 169

Damaso, M. C. T., Passianoto, M. A., de Freitas, S. C., Freire, D. M. G., Lago, R. C. A. dan Couri, S. 2008. Utilization of Agroindustrial Residues for Lipase Production by Solid-state Fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology.* 39: 676-681.

Handayani, S. N., Puji, L., Oedjijono, O., Tri, J. R. dan Sabirin, M. 2011. Karakterisasi Sifat-sifat Biokimia Ekstrak Kasar Lipase Ekstraseluler Bakteri *Azospirillum* sp. PRD1. *Jurnal Ilmiah Kimia Molekul.* 6(2): 74-83.

Lestari, P., Handayani, S.N., dan Oedjijono. 2009. Sifat-sifat Biokimiawi Ekstrak Kasar Lipase Ekstraseluler dari Bakteri *Azospirillum* JG3. *Jurnal Ilmiah Kimia Molekul.* 4(2): 73-82

Okafor, N. 2007. Modern Industrial Microbiology and Biotechnology. *Sciences Publishers.* Departmen of Biology Sciences, Clemson University.

Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia.* Jakarta: UI Press.

Rahman, N. Z., Shariff, F. I. M., Basri, M. dan Salleh, A. B. 2012. 3D Structure Elucidation of Thermostable L2 Lipase from Thermopilic *Bacillus* sp. L2. *Journal Molecular Sciences.* 47: 406-412.

Saryono. 2011. *Biokimia Enzim.* Yogyakarta: Nuha Medika.

Treichel, H., Debora, O., Marcio, A. M., Marco D. L. dan Vladimir, O. 2010. A Review on Microbial Lipases Production. *Food Bioprocess Technol Journal.* 3: 182-196.