

SKRINING BAKTERI LIPOLITIK DARI AIR SUNGAI SIAK DI DAERAH PELITA PANTAI KOTA PEKANBARU

Andi Dahliaty, Ria Susanti, Yuli Haryani

Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau
Kampus Bina Widya Km 12,5 Simpang Panam, Pekanbaru-28293
E-mail:andidahliaty@gmail.com

Abstrak

Telah dilakukan skrining bakteri penghasil lipase dari air Sungai Siak di Daerah Pelita Pantai, Pekanbaru. Selain berfungsi sebagai pelabuhan, lokasi tersebut menjadi tempat pembuangan limbah rumah tangga yang dapat berupa lemak atau minyak sehingga diharapkan dapat diperoleh strain bakteri penghasil lipase sebagai usaha ekstensifikasi mikroba galur lokal Riau. Sebanyak 10 isolat positif dari medium agar yang mengandung 1% minyak zaitun (Medium 1) ditumbuhkan kembali ke medium spesifik berupa campuran 1% minyak zaitun dan 0,01% Rhodamin B (Medium 2). Hasilnya menunjukkan terdapat 3 isolat bakteri lipolitik gram negatif dan 1 isolat bakteri lipolitik gram positif. Pengukuran aktivitas lipase untuk 10 isolat dari medium 1 dengan metoda Titrimetri memberikan hasil bahwa semua isolat memiliki aktivitas dalam interval 0,053 hingga 0,173 Unit/mL.

Kata kunci: Bakteri lipolitik, lipase, sungai siak

PENDAHULUAN

Sungai Siak dengan kedalaman sekitar 20-30 meter merupakan sungai terdalam di Indonesia. Seluruh Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak berada di Provinsi Riau melewati empat wilayah administrasi kabupaten yaitu, Rokan Hulu, Kampar, Bengkalis, Siak dan satu wilayah administrasi kota, yaitu Pekanbaru (Departemen pekerjaan umum, 2005). Salah satu DAS Siak yang terdapat di Pekanbaru adalah daerah Pelita Pantai yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai pelabuhan dan tempat pembuangan limbah rumah tangga. Limbah-limbah ini dapat berupa lemak atau minyak. Lemak dan minyak ditemukan mengapung di atas permukaan air meskipun sebagian terdapat di bawah permukaan air (Suyasa, 2006).

Lemak atau minyak adalah senyawa organik yang bersifat non polar dan merupakan senyawa ester dari triasilgliserol (Lehninger, 1995). Metabolisme di dalam ekosistem air berlangsung dengan bantuan cahaya matahari (Irwan, 2007). Adanya minyak atau lemak di permukaan air dapat menghambat masuknya cahaya matahari ke dalam air, lingkungan menjadi anaerob, dan menghambat proses biologis dalam air (Suyasa, 2006).

Penggunaan enzim dalam bidang bioteknologi berkembang secara cepat. Banyak industri yang telah memanfaatkan kerja enzim meliputi pangan dan non pangan. Salah satu enzim yang mempunyai peranan dalam bidang bioteknologi adalah lipase. Lipase merupakan enzim yang dapat mendegradasi lemak atau minyak melalui pemutusan ikatan ester dari triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol yang larut dalam air (Nurhasanah & Dian, 2008).

Mikroorganisme penghasil lipase dapat ditemukan pada habitat yang mendukung seperti limbah industri, pabrik pengolahan minyak, dan tanah yang terkontaminasi minyak (Long dkk., 2004). Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi bakteri lipolitik dari air Sungai Siak di Daerah Pelita Pantai Kota Pekanbaru. Isolat yang diperoleh diidentifikasi dengan pewarnaan gram. Selanjutnya dilakukan produksi lipase dengan minyak zaitun (1%) sebagai substrat dan diuji aktivitas lipasenya dengan metoda Titrimetri.

BAHAN DAN METODA

Bahan yang digunakan adalah 0,05 N, larutan air hasil sampling Sungai Siak dari daerah Pelita Pantai, Nutrien Agar (Merck, Germany), Nutrien Broth (Merck, Germany), minyak zaitun, Rhodamin B, Gum arab,

larutan buffer fosfat (0,05 M) pH 7, larutan NaOH campuran aseton:etanol (1:1), fenoltalein 1%, dan bahan-bahan lainnya yang sesuai dengan prosedur kerja.

Pada penelitian ini, sampel air Sungai Siak dari daerah Pelita Pantai diambil secara acak, yaitu dua bagian dari pinggir dan satu bagian dari tengah sungai. Tiap bagian sampel terdiri atas air dari permukaan sungai dan air dari kedalaman 10 cm di bawah permukaan air. Sampel tersebut diambil dengan menggunakan botol sampel berukuran 150 mL, kemudian dimasukkan dalam termos berisi es. Sampel air dikumpulkan sehingga diperoleh sebanyak 900 mL.

Sebanyak 25 ml air hasil sampling ini disuspensikan dengan 225 ml larutan NaCl fisiologis (0,9%) diencerkan bertingkat hingga konsentrasi 10^{-7} . Masing-masing suspensi hasil pengenceran diinokulasikan ke media Nutrien Agar, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan dihitung partumbuhan total bakteri sebagai cfu/mL.

Isolasi pada Media Spesifik Lipase

Mikroba yang tumbuh pada Media Nutrien Agar diinokulasikan ke media spesifik lipase. Dua media spesifik lipase terdiri dari media yang mengandung 1% minyak zaitun (media spesifik lipase 1) dan media yang mengandung campuran 1% minyak zaitun dan larutan Rhodamin B (media spesifik lipase 2). Isolat positif kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram dan diuji aktivitas enzim lipase yang dihasilkannya.

Produksi dan uji aktivitas lipase

Isolat bakteri lipolitik diinokulasikan ke dalam media Nutrien Broth, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan kemudian diukur *optical density* pada panjang gelombang 600 nm. Untuk memproduksi enzim lipase, inokulum dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml yang berisi 25 ml media produksi lipase yang mengandung 0,25 ml minyak zaitun, 0,125 gram gum arab, 0,005 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01875 gram KNO_3 , 0,0125 gram K_2HPO_4 , 0,0005 gram $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,001 gram $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, dan 0,05 gram ekstrak khamir dalam buffer fosfat (0,05 M) pH 7 (Meryandini dkk., 2009), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm pada inkubator shaker. Enzim kasar yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit hingga diperoleh filtrat berupa ekstrak kasar enzim. Ekstrak kasar tersebut kemudian dipisahkan dari endapannya dan ditentukan volume serta aktivitas enzim lipase dengan metoda Titrimetri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri lipolitik

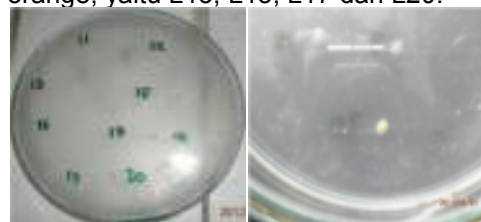
Angka lempeng total bakteri pada sampel air Sungai dihitung atas dasar jumlah koloni yang tumbuh (*Colony Forming Unit*) yaitu rata-rata sebanyak $1,3 \times 10^4$ CFU/mL sampel. Sebanyak 30 koloni tunggal bakteri yang tumbuh pada medium Nutrient Agar diinokulasikan ke medium spesifik lipase 1 dan memberikan hasil 10 isolat positif yaitu isolat L11, L12, L13, L15, L16, L17, L18, L19, L20, dan L24 (Gambar 1).



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri pada media spesifik lipase 1

Minyak zaitun digunakan dalam media spesifik lipase 1 sebagai sumber karbon bagi bakteri. Bahan-bahan seperti $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KNO_3 , K_2HPO_4 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, dan $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ digunakan sebagai sumber mineral, sedangkan ekstrak khamir sebagai sumber vitamin bagi bakteri. Gum arab digunakan sebagai pengemulsi atau *emulsifier* agar minyak dan air yang berbeda kepolarannya ini dapat bercampur dengan baik di dalam media. Agar digunakan sebagai pematat media (*gelling*) dan agar tidak dapat didegradasi oleh mikroba (Pelczar & Chan, 2006).

Sepuluh isolat yang tumbuh pada medium spesifik lipase 1 dikonfirmasi kembali dengan menginokulasikannya ke medium spesifik lipase 2 (Rhodamin B Agar). Bakteri penghasil lipase akan menghasilkan kompleks berwarna orange pada media Rhodamin B. Hal ini disebabkan oleh reaksi antara Rhodamin B dengan asam lemak yang merupakan produk dari kerja lipase yang dihasilkan oleh mikroba membentuk senyawa kompleks berwarna orange dan berpendar di bawah radiasi sinar UV (Hou & Johnston, 1992). Gambar 2 memperlihatkan 4 isolat yang menghasilkan kompleks berwarna orange, yaitu L13, L15, L17 dan L20.



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri pada medium Rhodamin B

Uji pewarnaan gram

Pewarnaan gram dilakukan terhadap 10 isolat yang tumbuh pada medium spesifik lipase. Dari hasil pewarnaan gram, isolat bakteri lipolitik Sungai Siak terlihat berbentuk batang tunggal (*bacillus*) dan berbentuk batang bergandeng dua-dua (*Diplobacill*). Delapan isolat berwarna merah muda yang merupakan bakteri gram negatif (L11, L12, L13, L15, L16, L17, L18, dan L19) dan 2 isolat berwarna ungu yang merupakan bakteri gram positif (L20 dan L24).

Produksi lipase

Sebanyak 10 isolat bakteri yang tumbuh pada medium spesifik lipase 1 diukur kekeruhan sel bakterinya atau *optical density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm. Dari nilai OD yang diperoleh, maka didapatkan jumlah sel bakteri seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1. Volume ekstrak enzim kasar yang diperoleh dari tiap isolat dirangkum pada Tabel 1.

Uji Aktivitas Lipase

Besarnya aktivitas ekstrak lipase dapat dilihat pada Tabel 1. Dari Tabel tersebut

dapat dilihat bahwa Isolat L13, L15 dan L20 menghasilkan aktivitas tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya, artinya isolat bakteri lipolitik ini mampu menghidrolisis minyak zaitun dengan baik dan menghasilkan asam lemak bebas dalam jumlah yang besar. Semakin besar konsentrasi asam lemak yang dibebaskan, maka semakin banyak larutan NaOH yang terpakai dalam proses titrasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Bakteri yang berpotensi untuk menghasilkan enzim lipase dapat diisolasi dari air Sungai Siak yang saat ini tercemar oleh limbah rumah tangga. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat lipolitik yang diperoleh dapat menghasilkan enzim dengan aktivitas yang beragam pada interval 0,053 hingga 0,173 Unit/mL. Dari hasil penelitian, penulis menyarankan untuk melakukan optimalisasi pertumbuhan mikroorganisme penghasil lipase agar produksi lipase lebih maksimal.

Tabel 1. Hasil pewarnaan gram, nilai OD, jumlah sel bakteri, volume ekstrak kasar enzim dan aktivitas lipase dari isolat positif lipolitik

Isolat	Gram staining	Optical Density (OD)	Jumlah sel bakteri (sel/ml)	Volume ekstrak kasar enzim (mL)	Aktivitas Lipase (Unit/mL)
L11	Gram negatif	0,16	$12,8 \times 10^7$	7,5	0,075
L12	Gram negatif	0,02	$1,6 \times 10^7$	17	0,053
L13	Gram negatif	0,025	2×10^7	20	0,173
L15	Gram negatif	0,13	$10,4 \times 10^7$	20	0,150
L16	Gram negatif	0,1	8×10^7	19	0,053
L17	Gram negatif	0,12	$9,6 \times 10^7$	17,4	0,075
L18	Gram negatif	0,42	$33,6 \times 10^7$	19	0,075
L19	Gram negatif	0,11	$8,8 \times 10^7$	12	0,068
L20	Gram positif	0,13	$10,4 \times 10^7$	17,5	0,128
L24	Gram positif	0,03	$2,4 \times 10^7$	19,2	0,075

DAFTAR PUSTAKA

Benson. 2001. *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*. Eight Edition. The McGraw-Hill Companies.

- Chaturvedi., Singh M., Chugh M.Rishi., & Kumar Rahul. 2010. Isolation of Lipase Producing Bacteria from Oil Contaminated Soil for the Production of Lipase by Solid State Fermentation using Coconut Oil Cake. *Int J. Biotech. Biochem* 6(4): 585-594 .
- Departemen Pekerjaan Umum. 2005. Penataan Ruang Daerah Aliran Sungai (DAS) Siak Provinsi Riau. Dikutip dari: [www.penataanruang.net/taru /Makalah/050806.pdf](http://www.penataanruang.net/taru/Makalah/050806.pdf). Tanggal akses: 3 Mei 2011.
- Hou, H.C. & T.M. Johnston. 1992. Screening of Lipase Activities with Cultures from the Agricultural Research Service Culture Collection. *JAOCS* 69: 1088-1097.
- Irwan, Z. D. 2007. *Prinsip-Prinsip Ekologi Ekosistem, Lingkungan, dan Pelestariannya*. Bumi Aksara, Jakarta.
- Long, K., N.A. Mokhtar., M.N. Mansor., A. Hamzah., & L.O. Ming. 2004. Screening, isolation and identification of microbial lipase producers from palm oil mills. *J. Trop. Agric. Food. Scie.* 32(1): 67-74
- Meryandini, A., Wahyu Widosari., Besty Waranatha., Titi Candra Sunarti., Nisa Rahmania., & Hasrul Satria. 2009. Isolsi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *MAKARA SAINS*.13(1):33-38
- Mohan, T.S., A. Palavesam., & G. Immanuel. 2008. Isolation and characterization of lipase producing *Bacillus* strains from oil mill waste. *African Journal of Biotechnology* 7 (15): 2728-2735
- Nurhasanah & Dian H. 2008. *Pemurnian Enzim Lipase dari Bakteri Lokal dan Aplikasinya Dalam Reaksi Esterifikasi* di dalam Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II, Universitas Lampung.
- Pelczar, M & E. C. S. Chan. 2006. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI- Press, Jakarta.
- Sharma, R., Christi Y., & Banerjee U.C. 2001. Production, purification, characterization and application of lipases. *Biotechnology Advances* (19): 627-662.
- Suyasa, I. W. Budiarsa. 2006. Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak/lemak dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Penampungan limbah. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Udayana, Bali.