

Isolation and Activity Test of Lipolytic Bacteria on Different pH and Temperature

Prapti Sedijani¹, Dewa Ayu Citra Rasmi^{1*}, Kusmiyati¹, Miko Eniarti², Siti Rohimah¹

¹Biologi Education, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, Mataram, Indonesia;

²Civil Engineering, Faculty of Engineering, University of Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : August 21th, 2022

Revised : September 10th, 2022

Accepted : September 20th, 2022

*Corresponding Author:

Dewa Ayu Citra Rasmi,

Biologi Education, Faculty of
Teacher Training and Education,
University of Mataram, Mataram,
Indonesia;

Email:

citra.fkip@unram.ac.id

Abstract: Lipase is an enzyme that can be applied in many industrial fields so it has a good economic prospects. The demand for lipase was still unfulfilled at the time this article was written. The character of the lipase for industrial needs are vary depending on the industry in which the enzyme is used. Temperature and pH are the two factors that most influence enzyme activity. This article reports on bacteria isolated from coconut, avocado, tempeh, and areca nut and their lipolytic activity at pH 7-10, 30-40°C. Isolation was carried out on NA media supplemented with olive oil and Rhodamine B as the activity indicator. Colonies showing clear zones were used in subsequent work. Activity tests were carried out on the isolation medium pH 7-10 and incubated at 30 or 40°C. Characterization of isolates includes morphological and microscopic observations; proteolytic and amyolytic capability. There were 41 isolates showing lipolytic activity, 26, 7, 4, and 4 isolates from coconut, tempeh, avocado, and areca nut, respectively. Five isolates were selected for further work. Activity tests showed that the best isolates at 30°C were K1A1 and K1A2 at pH 7, each of which had an activity index of 9% and 107%. Meanwhile, at 40°C the best activity was shown by K10 pH 8 with an activity index of 59%. Based on Grams staining and microscopic analysis, isolates belong to Gram-positive coccus bacteria. Isolate K1A1 showed proteolytic and amyolytic activity, K1A2 showed high proteolytic activity but not amyolytic, while K10 did not show both activities.

Keywords: activity; bacteria; lipolytic; pH; temperature.

Pendahuluan

Enzim lipase atau triacylglycerol acylhydrolase (E.C 3.1.1.3) banyak dimanfaatkan pada bidang industri terutama berperan penting dalam perkembangan bioteknologi (Telussa, 2013). Lipase bermanfaat sebagai biokatalis dalam berbagai industri, memproduksi asam lemak (prekursor) berbagai industri kimia, dan sebagai katalis hidrolisis pada rantai panjang trigliserida, lemak, dan minyak menjadi gliserol dan asam lemak dengan adanya air (Purwata, 2014; Pramiadi, 2014; Layly, 2020). Keunggulan lipase sebagai katalis yakni memiliki sifat fleksibilitas, tersedia secara komersial, memungkinkan penggunaannya dalam berbagai macam pH dan suhu dalam sintesis organik, dan bersifat konstitutif

(Melliawati, 2018; Pramiadi, 2014).

Penggunaan lipase di Indonesia pada sektor industri semakin meningkat setiap tahunnya hingga harus mengimpor dari negara lain (Layly, 2020; Telussa, 2013). Untuk mengurangi nilai impor, pihak BPPT melalui pusat Teknologi Bioindustri mendorong pengembangannya untuk industri biodetergen, biodiesel, dan pangan (Boediono, 2017; Anonim, 2015). Indonesia berpotensi memproduksi lipase karena kaya akan sumber mikroba yang beragam untuk memperoleh sumber lipase yang beragam karakter dan kemampuan. Bakteri menjadi salah satu sumber lipase yang bisa dikembangkan karena mudah dikembangkan dalam waktu yang relatif singkat, tidak memerlukan tempat yang luas, ramah lingkungan dan efisien (Layly, 2020; Lajis, 2018; Pramiadi, 2014).

Aplikasi lipase dalam industri sangat beragam karena beragamnya karakter lipase berdasarkan suhu dan pH optimal yang sesuai dengan kebutuhan industri. Lipase yang aktif pada rentang lingkungan basa dan termostabil. Lipase dengan karakter tersebut sangat luas aplikasinya di industri makanan maupun detergen. Pada industri makanan karakter lipase mikroba yang bisa dimanfaatkan misalnya lipase yang memiliki suhu optimum 75°C dan pada pH 10 yang menghasilkan lipase lebih stabil dibandingkan dari hewan dan tumbuhan serta unggul dalam menjaga kesetabilan produk dalam kurung waktu yang lama (Septiani, 2019). Sedangkan pada industri detergen memerlukan lipase yang tergolong termoalkalin yakni termostabil dan mampu hidup pada lingkungan basa (Lajis, 2018).

Lipase dengan karakter yang baru terus dicari sebagai usaha mengembangkan produk lipase guna memenuhi karakter yang dibutuhkan oleh industri (Gupta, 2004). Suhu dan pH merupakan factor yang menentukan aktivitas enzim (Sutrisno, 2017). Isolat yang menunjukkan aktivitas pada rentang pH dan suhu yang luas diharapkan mempunyai enzim dengan karakter yang luas dan fleksibel untuk bisa di aplikasikan pada industri yang beragam jika suhu dan pH menjadi faktor pembatas dalam industri tersebut.

Dari uraian diatas, mengingat bahwa lipase sangat dibutuhkan dalam berbagai industri, dan bahwa lipase dari mikroba mempunyai beberapa kelebihan, maka penelitian ini mencoba untuk isolasi bakteri dari bahan makanan yang mudah ditemukan di Indonesia seperti buah kelapa, jambe, alvukat dan tempe dengan harapan bakteri yang diperoleh mampu menghasilkan lipase yang bisa diaplikasikan dalam bidang pangan dan tidak menutup kemungkinan di bidang lain.

Bahan dan Metode

Isolasi

Isolasi dilakukan pada medium seleksi yakni mediaum NA dengan penambahan minyak zaitun 1%, emulsifier 1% dan rodamin B. Sebanyak 1gram kelapa atau avokado di potong sekecil mungkin kemudian dimasukkan dalam 9 mL garam fisiologis dan dikocok. Isolasi menggunakan teknik tebar dengan cara menginokulasi sebanyak 20 µL larutan homogen sampel pada medium seleksi dalam 3 replika.

Isolat yang menunjukkan adanya zona bening dikoleksi untuk dimurnikan. Isolat yang murni digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

Uji aktivitas lipolitik isolat pada rentang pH dan suhu secara kualitatif

Uji ini dilakukan pada medium yang sama dengan yang digunakan untuk isolasi, dengan pH ditentukan pada pH 7, 8, 9 dan 10. Isolat murni yang telah diremajakan dititikan pada medium yang telah disiapkan dan diinkubasi pada suhu 27-30°C atau 40°C, selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni diukur dalam 2 arah yang berbeda dan dirata-ratakan. Data ini digunakan untuk menentukan indeks aktivitas lipolitik dari isolat dengan rumus dibawah ini.

$$\% \text{lipolitik} = \frac{\emptyset \text{ zona bening} - \emptyset \text{ koloni}}{\emptyset \text{ koloni}} \times 100\%$$

Data hasil pengukuran yang digunakan adalah data yang bersumber dari isolate yang memiliki aktivitas lipolitik tertinggi pada perlakuan pH 7-10 disuhu 40°C dan pada uji lanjut di suhu 30°C. Aktivitas lipolitik isolat dibandingkan berdasarkan factor pH dan suhu untuk mengetahui isolate lebih baik. Sehingga isolate terpilih dan memiliki aktivitas tertinggi berdasarkan hasil uji yang dideskripsikan lebih lanjut.

Karakterisasi ssolet

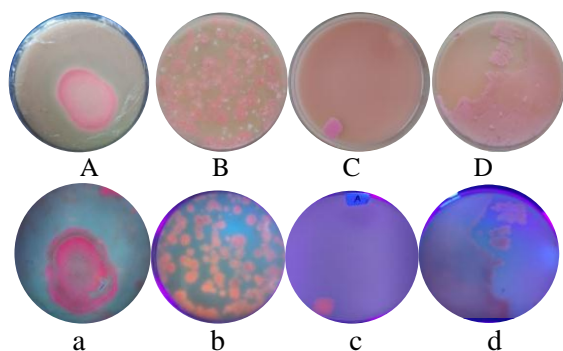
Isolat dikarakterisasi secara morfologis yang meliputi bentuk, tepi, dan permukaan koloni bakteri. Secara mikroskopis yakni bentuk sel bakteri dan sifat Gram. Kemampuannya dalam menghasilkan protease dan amilase

Hasil dan Pembahasan

Isolasi bakteri lipolitik

Hasil isolasi menunjukkan bahwa bakteri lipolitik dapat ditemukan pada semua sampel dengan membentuk zona bening dan bandaran merah muda dibawah sinar UV disajikan pada Gambar 1. Jumlah isolate yang diperoleh sebanyak 41 isolat. Isolat tersebut ditemukan pada kelapa sebanyak 26 isolat, alvukat 4 isolat, jambe 4 isolat, dan tempe 7 isolat. Isolat yang berhasil dimurnikan diperoleh 12 isolat yang diuji pada pH dan suhu untuk memperoleh isolate dengan kemampuan menghasilkan lipase pada

pH luas.



Gambar 1. Isolat berpendar dibawah sinar UV menunjukkan adanya aktivitas lipolitik (a-d) isolat tidak berpendar pada sinar lampu ruangan (A_D).

Uji aktivitas bakteri lipolitik dalam rentang pH dan suhu

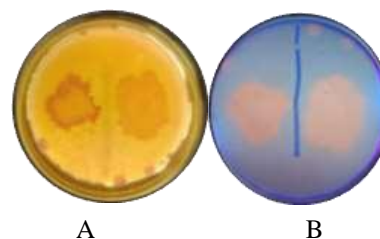
Uji aktivitas lipolitik isolate dimulai dengan pH 7-10 pada suhu 40°C untuk mendapat isolate yang mampu beraktivitas pada suhu tersebut dan dapat diaplikasikan pada suhu tinggi. Hasil uji menunjukkan bahwa dari 12 isolat yang diuji terdapat 5 isolat yang memiliki zona bening terbesar yang dapat dihitung dengan rumus umum yang dipakai disajikan pada Tabel 1. Isolate tersebut terdiri dari Tempe (T1 dan T2), Kelapa (K1 dan K10) dan Alpukat (Ap1). Hasil pengukuran dari kelima isolate (K1, K10, T1, T2, dan Ap1) menunjukkan bahwa pada pH 7 aktivitas terbesar ditunjukkan oleh isolate K10 sebesar 59%, isolat lain berada di bawah 40%.

Table 1. Rata-rata aktivitas lipolitik isolate dalam rentang pH 7-10 dan suhu 40°C (%)

Isolat	pH 7	pH 8	pH 9	pH 10
Tempe (T1)	27	27	28.5	12.5
Tempe (T2)	17	19	34	12.5
Kelapa (K1)	13	14	10	8,3
Kelapa (K10)	22	59	N/D	15
Alpukat (Ap1)	36.5	22.5	23	23

Uji ini di lanjut dengan perlakuan pada suhu 30°C dengan asumsi bahwa pada suhu tersebut dapat meningkat aktivitas lipolitik bakteri karena sesuai dengan suhu dimana tempat isolate diperoleh. Stok isolat dari T1, T2, K1, K10, dan Ap1 sebelum di uji diremajakan kembali. Namun, isolate K1 terdeteksi isolate bakteri terdiri dari 2 jenis isolate sehingga di murnikan kembali. Isolate kelapa (K1) dimurnikan dan discreening kembali

menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki pendaran merah muda yang jelas dan memiliki aktivitas lipolitik (Gambar 2). Kedua isolat (K1A1 dan K1A2) dari sampel kelapa 1 ikut di uji lanjut dengan isolate T1, T2, K10, dan Ap1 pada uji lipolitik bakteri dalam rentang pH (7-10) dan suhu (27-30°C).



Gambar 2. Isolat K1 dan K2, berpendar dibawah sinar UV, menunjukkan adanya aktivitas lipolitik. A Isolat kelapa dipaparkan pada sinar biasa, B Isolat kelapa dipaparkan pada sinar UV

Tabel 2. Hasil pengukuran aktivitas lipolitik bakteri dalam rentang pH dan suhu 27-30°C (%)

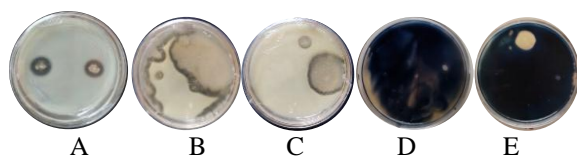
Isolat	pH			
	7	8	9	10
Kelapa 1 (A1)	91.85	78.43	95.19	80.56
Kelapa 1 (A2)	107.28	91.67	52.96	81.48
Kelapa 10	12.51	10.19	15.03	10.19
Tempe 1 (T1)	37.17	31.94	34.07	11.11
Tempe 2 (T2)	4.45	10.93	11.94	5.29
Alpukat 1 (Ap1)	25.85	11.81	22.97	16.98

Aktivitas isolat pada pH 7-10, suhu 30°C menunjukkan bahwa isolate T1, T2, K1A1, K1A2, K10, dan Ap1 mampu menghasilkan enzim lipase dengan masa inkubasi 1 x 24 jam (Tabel 2). Berdasarkan hasil pengukuran zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa aktivitas terbesar ditunjukkan oleh isolate K1A2 dengan indek aktivitas tertinggi pada pH 7 sebesar 107.28% dan menurun dengan meningkatnya pH hingga 81.40% pada pH 10. Isolat K1A1 menunjukkan indek aktivitas tertinggi sebesar 90.85 pada pH 7 dan menurun hingga 80.56% pada pH 10. Demikian pula dengan isolat yang lain dengan indek aktivitas yang lebih rendah.

Karakterisasi isolat yang di Uji

Hasil karakterisasi morfologi koloni dan sifat Gram menunjukkan bahwa isolate K10, T1, dan T2 memiliki karakter yang sama. Sedangkan

untuk K1A1, K1A2, dan Ap1 menunjukkan morfologi yang berbeda namun memiliki sifat Gram yang sama. Hasil uji protease menunjukkan bahwa, dari ke-6 isolat hanya kelapa 10 yang tidak menunjukkan aktivitas pada uji protease dan isolate kelapa K1A2 memiliki aktivitas tertinggi sebesar 147.35% diikuti isolate kelapa K1A1 78.73% dan terendah isolate T2 sebesar 3.40% (Gambar 3 dan Tabel 4). Hasil uji amilase menunjukkan bahwa isolate Ap1 memiliki aktivitas tertinggi sebesar 19.09% diikuti isolate K1A1 sebesar 7.78% sedangkan isolate yang lain tidak ada aktivitasnya (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil uji amilase dan protease
 A B C uji protease, DE uji amilase

Tabel 4. Hasil pengukuran aktivitas protease dan amilase (%)

Uji isolat	Protease	Amilase	Lipase
Kelapa 1(A1)	78.73	7.78	91.85
Kelapa 1(A2)	147.35	X	107.28
Kelapa 10	X	X	12.51
T1	26.98	X	37.17
T2	3.40	X	4.45
Ap1	20.19	19.09	25.85

Keterangan: x = Tidak memiliki aktivitas

Pembahasan

Lipase adalah enzim yang sangat fungsional yang banyak diaplikasikan dalam industri sebagai biokatalis dengan permintaan yang semakin meningkat di Indonesia (Layly, 2020). Indonesia sebagai negara mega diversity, sangat kaya dengan mikroba sebagai organisme sumber penghasil berbagai enzim termasuk lipase. Kekayaan biodiversitas tersebut mampu menghasilkan lipase dengan karakter dan kemampuan yang beragam yang kemudian dapat diaplikasikan pada industri yang beragam pula. Mempelajari lipase sebagai awal untuk memproduksi lipase sejalan dengan upaya pemerintah Indonesia (BPPT) melalui pusat Teknologi Bioindustri yang mendorong pengembangan lipase untuk industri biodetergen, biodiesel, dan pangan (Boediono, 2017; Anonim, 2015).

Mikroba seperti bakteri dapat menjadi sumber penghasil lipase karena lebih efektif, efisien, lebih stabil mudah dikembang biakkan, sehingga ongkos produksi menjadi lebih murah (Layly, 2020; Lajis, 2018; Pramiadi, 2014). Pemilihan bahan pangan sebagai sumber isolate dalam penelitian ini merupakan upaya antisipatif sekiranya nanti dapat diaplikasikan di bidang pangan meskipun tidak terbatas hanya pada bidang tersebut. Penelitian ini dimulai dengan mencari mikroba sebagai sumber lipase yang tahan pada berbagai kondisi terutama pH dan suhu. Isolat yang dapat menunjukkan aktivitasnya pada berbagai kondisi tentunya lebih luas penggunaannya, bisa diterima pada industry yang berbeda.

Hasil isolasi menunjukkan bahwa bakteri lipolitik dapat diperoleh dari kelapa, jambe, alpukat dan tempe pada medium selanjutnya di beri notasi medium selektif yakni medium NA dengan penambahan Rodhamin B, Olive, Agar. Jumlah isolate yang terlihat mempunyai aktivitas lipolitik pada media selektif diperoleh sebanyak 41 isolat, yang didominasi dari kelapa sebanyak 26, sisanya dari tempe, alpukat dan jambe. Hal ini membuktikan bahwa dari bahan pangan dapat diisolasi bakteri penghasil lipase, yang tentunya lebih aman untuk diaplikasikan pada berbagai bidang industri, termasuk industri pangan.

Isolat yang memiliki zona bening tertinggi (*picture not shown*) sebanyak 5 isolat dari 41 isolat. Kemudian, di uji pada pH (7-10), suhu 40°C. Aktivitas pada suhu 40°C, ternyata rendah, sehingga uji dilanjutkan pada suhu 30°C. Aktivitas isolat pada suhu yang berbeda menunjukkan bahwa kelima isolat menunjukkan aktivitasnya pada suhu 30°C lebih tinggi dibanding pada suhu 40°C. Hal ini dapat difahami sesuai dengan sumber isolat diambil, yakni dari bahan pangan yang berada pada suhu lingkungan, sehingga isolat-isolat tersebut sudah teradaptasi dengan suhu lingkungan. Pada suhu 30°C, isolat yang menunjukkan aktivitas tertinggi adalah isolat K1A1 dan K1A2.

Kedua isolat tersebut nampak meningkat tajam pada suhu 30°C dibanding aktivitasnya pada suhu 40°C. Hal ini sejalan dengan hasil beberapa penelitian sebelumnya, bahwa aktivitas lipase yang diperoleh pada tumbuhan, limbah, dan lingkungan yang panas memiliki suhu optimum yang berbeda. Lingkungan yang panas cenderung menghasilkan lipase yang termostabil

yakni mampu pada suhu tinggi. Contohnya aktivitas lipase yang diperoleh dari bakteri termofilik pasca erupsi merapi yang optimal pada suhu 50°C (Pramiadi, 2014).

Berbeda dengan hasil penelitian pada Sari (2020) yang menguji aktivitas lipase dari bakteri endofit tumbuhan (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm) yang memiliki suhu optimum pada suhu 40°C. Sedangkan pada hasil penelitian Sumarlin (2013) yang menguji kemampuan lipase dari limbah sampah buah hasil fermentasi memiliki enzim lipase yang bekerja optimal pada suhu 30°C. Enzim memiliki suhu optimum yang ditentukan oleh organisme dimana enzim tersebut diisolasi dan diproduksi (Sutrisno, 2017). Selain itu, ada kemiripan dari pH dan suhu optimum yang kemungkinan berkaitan dengan lingkungan tempat organisme (bakteri) diperoleh (Sutrisno, 2017).

Ada faktor lain juga berpengaruh seperti pendapat Bestari (2015) bahwa aktivitas lipolitik bakteri dapat diakibatkan oleh beberapa factor, jenis mikroba, substrat, konsentrasi, suhu, serta waktu inkubasi yang berhubungan dengan fase pertumbuhan mikroba. Hasil uji pH dan suhu pada isolate kelapa yang menunjukkan aktivitas tertinggi pada pH netral (7-8) di suhu 40°C untuk K10 dan di suhu 30°C untuk K1 (K1A1 dan K1A2). Isolate tempe (T2) diperoleh hasil bahwa aktivitas lipolitik tertinggi berada pada kisaran pH 9 di suhu 40°C dan tempe kelapa (T1) pada kondisi pH 7 di suhu 30°C. Isolate alpukat menunjukkan bahwa aktivitas lipolitik tertinggi berada pada kisaran pH 7 di suhu 40°C.

Hasil ini menunjukkan bahwa pH optimum kinerja enzim lipase dari isolate kelapa, tempe kelapa, dan alpukat berada pada kisaran pH netral yang sebagian besar ditemukan pada enzim. pH sebagian besar enzim aktif pada kisaran 4,5-8 dan pada pH ekstrim dapat terdenaturasi dan bisa merubah muatan residu asam amino yang penting untuk proses katalis (Sutrisno, 2017). Berkaitan dengan kondisi suhu optimal untuk produksi lipase maka setiap jenis bakteri atau organisme memiliki adaptasi suhu lingkungan yang berbeda. Isolat K10, K1, T1, dan Ap1 memiliki suhu optimum yang berbeda walaupun memiliki kesamaan pH optimum. Mengutip dari Sutrisno (2017) setiap enzim memiliki suhu optimum yang ditentukan oleh organisme dimana enzim tersebut diisolasi dan diproduksi.

Kinerja enzim lipase dari isolate tempe (T2) berada pada pH optimum yaitu 9 (basa) di suhu 40°C. Kemampuan isolate tempe (T2) memiliki kemiripan dengan hasil uji dari Kasipah (2013) yang menguji bakteri penghasil lipase ekstraseluler dari lumpur aktif yang aktivitasnya optimum pada suhu 40°C dan pH 9. Hal ini bisa berkaitan dengan kemampuan isolate dalam menyesuaikan diri dengan lingkungan pH 9 (basa) di suhu tinggi (40°C).

Mikroorganisme yang mampu hidup pada lingkungan ekstrim dimana mikroorganisme lain tidak dapat mempertahankan aktivitas hidup dari segi temperatur, pH, kadar garam, tekanan, dan oksigen disebut termofil (Pramiadi, 2014). Mikroorganisme termofil memiliki struktur sel yang unik dari mikroorganisme lain dengan membranel yang di susun oleh fosfolipid dengan ikatan eter. Kandungan senyawa eter gliserol sebesar 3.3 O-sn-gliserol yang menyebabkan struktur lipoprotein dari membrane sel termofil tersebut lebih stabil. Organisme termofil juga memiliki protein khusus yang disebut chaperonin.

Protein ini dapat mempertahankan kembali struktur tiga dimensi protein fungsional sel dari denaturasi akibat meningkatnya suhu lingkungan yang bersifat ekstrim dan membantu mengembalikan fungsi aktivitas enzim bila terdenaturasi oleh suhu tinggi. Serta organisme termofil mengandung DNA gyrase yang merupakan salah satu enzim topoisomerase untuk mengontrol topologi DNA suatu sel dan memegang peran penting dalam proses replikasi dan transkripsi DNA. Semua jenis topoisomerase dapat merelaksasikan DNA tetapi hanya DNA gyrase yang dapat mempertahankan struktur DNA tetap berbentuk supercoil.

Karakterisasi isolat yang di Uji

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa karakter morfologi koloni dan sifat Gram isolate K10, T1, dan T2 memiliki karakter yang sama. Sedangkan untuk K1A1, K1A2, dan Ap1 menunjukkan morfologi yang berbeda namun memiliki sifat Gram yang sama dengan bentuk sel coccus berderet. Hal ini menunjukkan bahwa sel bakteri tersebut dapat tergolong *Streptococcus* atau *Streptococcus* sp Gram positif. Namun untuk mengetahui jenisnya diperlukan proses karakterisasi lebih lanjut. Hasil penelitian yang dipublikasikan, bakteri endofit dari buah antara

lain dari genus *Pseudomonas* (Suharyono, 2009), *Staphylococcus cohnii* (Sriram et al 2020), dan *Bacillus subtilis* (Puspita, 2017). Perbedaan ini tentunya kelapa yang digunakan dari area yang berbeda, dan kemungkinan jenisnya yang berbeda.

Uji protease dan amilase, dilakukan untuk melihat kemampuan isolate untuk menghasilkan kedua enzim tersebut guna menjajagi potensinya sebagai sumber penghasil enzim yang diperlukan untuk industri yang memerlukan lebih dari satu enzim untuk proses industrinya, misalnya dalam industri detergen. Trend industri detergent semakin melibatkan enzim dalam komoditinya dengan meningkatnya kesadaran manusia akan lingkungan. Uji ini bersifat kualitatif untuk mengetahui mampu atau tidaknya isolate dalam menghasilkan protease dan amilase disamping lipase. Hasil uji menunjukkan bahwa isolate kelapa 1 (K1A1) mampu menghasilkan lipase protease dan amilase dengan index aktivitas masing-masing 91.8%, 78.73% dan amilase 7.8%. Sedang kelapa (K1A2) menunjukkan index aktivitas lipase dan protease sebesar 147.45 dan 107.20% tanpa adanya aktivitas amilolitik. Isolat lain menunjukkan aktivitas lipolitik dan proteolitik tanpa amilolitik dengan indek dibawah 40%.

Isolat kelapa 10 tidak menunjukkan aktivitas proteolitik maupun amilolitik (Table 4). Fenomena ini menunjukkan bahwa isolat K1A1 dan K1A2 dapat digunakan sebagai bakteri sumber penghasil lipase dan protease mengingat aktivitas cukup tinggi pada kedua enzim tersebut, namun tidak untuk memproduksi amilase. Untuk menghasilkan ke tiga enzim sekaligus diperlukan isolat lain yang mempunyai indek amilase tinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang sedang berjalan pada fungi bahwa index aktivitas tinggi pada aktivitas enzim tertentu dalam satu isolat yang sama belum tentu mempunyai index tinggi juga untuk enzim yang lain (data pribadi peneliti).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan makanan seperti buah kelapa, jambe, alpukat, dan tempe yang mudah ditemukan di Indonesia dapat menjadi alternative sumber bakteri lipolitik penghasil lipase. Aktivitas lipolitik tertinggi yang dihasilkan pada suhu 40°C berasal dari K10 di pH 8. Sedangkan aktivitas lipolitik tertinggi pada suhu 30°C berada pada pH

7 dengan isolate kelapa 1 (K1A1 dan K1A2). Murni (2011) menyatakan bahwa, proses hidrolisis enzimatik dengan menggunakan enzim lipase beroperasi pada suhu yang relatif rendah antara 30°C–60°C dan tekanan atmosferik, sehingga aman bagi lingkungan kerja dan tidak memerlukan energi yang cukup besar. Di samping itu, produk yang dihasilkan mempunyai kualitas yang relatif lebih baik dibandingkan produk sejenis yang dibuat dengan proses kimia/fisika, karena relatif tidak terjadi kerusakan akibat pemanasan pada suhu tinggi. Berbeda dengan pernyataan Murni maka enzim lipase dari isolat kelapa (K1A1 dan K1A2) yang diperoleh aktivitasnya menurun pada pH 40°C.

Hasil penelitian ini memerlukan tindakan lanjut jika ingin dijadikan sebagai aplikasi industri. Alternatif lain penggunaan isolate terutama isolat dari kelapa 1 (K1A1 dan K1A2) dapat digunakan sebagai sumber produksi enzim lipase meskipun upaya untuk meningkatkan aktivitasnya perlu dilakukan. Kemampuan dari isolat berdasarkan hasil uji lipase, amilase, dan protease menunjukkan bahwa seluruh isolat (K10, K1, T1, T2, dan Ap1) mampu menunjukkan aktivitas lipase, namun yang menunjukkan aktivitas ketiga enzim yang cukup tinggi adalah isolat K1A1, dengan aktivitas amilolitik rendah, sedang K1A2 mempunyai aktivitas lipolitik dan proteolitik tertinggi tanpa aktivitas amilolitik.

Deterjen yang saat ini diproduksi oleh negara-negara maju mengandung enzim untuk menghilangkan noda (Tika, 2018). Produksi enzim yang kompatibel dengan detergen dalam satu kultivasi perlu dilakukan untuk memenuhi peningkatan permintaan saat ini. Jika dua, tiga, atau lebih enzim yang kompatibel detergen secara bersamaan diproduksi oleh mikroorganisme dalam kondisi yang sama tentunya sangat efisien dan menguntungkan. Hasil uji diperoleh 2 isolat yakni K1A1 dan K1A2 yang memiliki aktivitas pada pH 7-10. Meskipun aktivitas menurun dengan naiknya pH namun penurunan tersebut tidak terlalu tajam, dari 107% pada pH 7 menjadi 81% indek aktivitasnya pada pH 10. Isolat lain mempunyai aktivitas yang jauh lebih rendah dari kedua isolat.

Kedua isolat tersebut menunjukkan aktivitas terbaiknya pada suhu ruang 27 °C -30°C dan menurun drastis pada suhu 40°C. Isolat K1A1 menunjukkan aktivitas lipolitik,

proteolitik, dan amilolitik sedang Isolat K1A1 menunjukkan aktivitas lipolitik dan proteolitik tanpa amilolitik. Kedua isolat tersebut berbentuk streptococcus dengan Gram positif. Upaya untuk meningkatkan produksi enzim dari kedua isolat tersebut perlu dilakukan.

Kesimpulan

Jumlah isolate bakteri lipolitik yang diisolasi pada buah kelapa, alpukat, jembe, dan tempe yang diperoleh sebanyak 41 yang terdiri dari 26 dari kelapa, 4 dari jambe, 4 dari alpukat, dan 7 dari tempe. Aktivitas lipolitik bakteri tertinggi berasal dari isolate kelapa 1 (K1A1) pada pH 7 di suhu ruang (27°C-30°C) sebesar 107.28% diikuti isolat kelapa 1 (K1A2) sebesar 95.19%. Isolat K10 tergolong memiliki aktivitas tertinggi pada suhu 40°C pH 8. Hasil ini menunjukkan bahwa isolate kelapa K10 dan K1 (K1A1 dan K1A2) berpeluang sebagai sumber penghasil lipase. Berdasarkan pewarnaan Gram dan analisis mikroskopik, isolat tergolong bakteri coccus Gram-positif. Isolat K1A1 menunjukkan aktivitas proteolitik dan amilolitik, K1A2 menunjukkan aktivitas proteolitik tinggi tetapi tidak amilolitik, sedangkan K10 tidak menunjukkan aktivitas keduanya. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meningkatkan aktivitas lipolitik bakteri dari isolate kelapa (K1A1 dan K1A2) pada pH dan suhu optimalnya (pH netral di suhu ruang) dengan menggunakan substrat, konsentrasi, dan waktu inkubasi yang cocok.

Referensi

- Anonim (2015). Ciptakan Pabrik Enzim Pertama di Indonesia BPPT Transfer Teknologi Produksi Enzim ke PT Petrosida Gersik. Diakses melalui <https://www.bppt.go.id>.
- Boediono, Suryo & Nita Nurita (2017). Menristekdikti Resmikan Fasilitas Unit Produksi Enzim BPPT-PT Petrosida Gersik. Diakses melalui <https://www.brin.go.id>.
- Bestari, Niken Candra & Suharjono (2015). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*, 3 (3).
- Gupta, R., N Gupta., & P Rathi (2004). Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Jurnal Appl Microbiol Biotechnol*. Vol. 64: 763–781.
- Lajis, Ahmad Firdaus B. (2018). Realm of Thermoalkaline Lipases in Bioprocess Commodities. *Journal of Lipids*, Volume 2018, Article ID 5659683, 22 pages.
- Layly, Ika Rahmatul., Erma Widyasti., Deden Rosid Waltam., Ayi Mufti., Nita Wiguna., & Trismilah. (2020). Isolasi Mikroorganisme Potensial Penghasil Lipase Dari Limbah Pengolahan Minyak Kelapa Sawit Malinping. *AL-KAUNIYAH: Jurnal Biologi*, 13(2).
- Melliawati, Ruth, Nuryati & Miftah Al Azizah. (2018). Penapisan Isolat Kapang Endofit Lipolitik Untuk Produksi Lipase Pada Ampas Kelapa. *BIOPROPAL INDUSTRI*, 9 (2), 95-105.
- Murni, Sri Wahyu, Siti Diyar Kholisoh., Tanti D.L., & Petrissia E.M. (2011). Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”*: Yogyakarta
- Pramiadi, Drajat, Evy Yulianti, & Anna Rakhmawati. (2014). Isolasi dan uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi. *Sains Dasar*. 3(1).
- Puspita, Fifi, Muhammad Ali., & Ridho Pratama. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq). *J. Agrotek. Trop*. 6 (2): 44-49
- Sari, Asjayani Kurnia., Winni Astuti., & Djihan Ryn Pratiwi (2020). Skrining Lipase dari Isolat Bakteri Endofit Batang Pacing (*Costus Speciosus* (J. Koenig) Sm) dan Penentuan Kondisi Kerja Optimumnya. *Jurnal Atomik*, 1, 1-5.
- Septiani (2019). Karakterisasi Lipase Termostabil (Isolate A196) Berdasarkan Parameter Temperatur dan pH Pada Industri Makanan. *Lantanina Journal*, 7 (1), 1-100.
- Sriram, Karthik P., Upasana Mangrolia., & W. Jaberz Osborne (2020). Isolation and characterization of culturable indigenous

- endophytic bacteria in the tender coconut. *Jurnal Food Biotechnology*, 34(3), 228-242. DOI: <https://doi.org/10.1080/08905436.2020.1789872>
- Suharyono, A. S., & Kurniadi, M. (2009). Pengaruh Sinar Ultra Violet dan Lama Penyimpanan terhadap Sifat Mikrobiologi dan Ketengikan Krem Santan Kelapa. *agriTECH*, 29(3), 174-178. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9704>
- Sumarlin, La Ode Sumarlin, Dikdik Mulyadi., Suryatna, & Yoga Asmara (2013). Identifikasi Potensi Enzim Lipase dan Selulase pada Sampah Kulit Buah Hasil Fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 18 (3): 159-166.
- Sutrisno, Aji (2017). *Teknologi Enzim*. UB Press: Malang.
- Telussa, Ivonne (2013). Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari Coco Butter Substitute Dan Karakterisasi Lipasnya. *Prosiding FMIPA Universitas Pattimura*, 134-143.
- Tika, I Nyoman (2018). Enzim untuk Detergen dan Tantangan Indonesia. Diakses melalui <https://www.kompasiana.com>