

ISOLASI DAN KARAKTERISASI *BACILLUS* LIPOLITIK DARI TANAH KEBUN RAYA LIWA

Vidia Royanti^{1*}, Kusuma Handayani¹, Chistina Nugroho Ekowati¹, Sumardi¹

¹ Universitas Lampung, Bandar
Lampung, Indonesia

*e-mail korespondensi:
vidia.royanti18@gmail.com

Abstrak. *Bacillus* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, salah satunya di tanah yang miskin hara seperti di Kebun Raya Liwa. Telah didapatkan isolat *Bacillus* dari tanah Kebun Raya Liwa yang memiliki kemampuan lipolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas bakteri lipolitik isolat *Bacillus* dari Tanah Kebun Raya Liwa. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi *Bacillus* dari tanah Kebun Raya Liwa dengan metode pengenceran bertingkat, menggunakan media Nutrient Agar. Isolat *Bacillus* yang diperoleh kemudian dimurnikan dimedia Nutrient agar. Isolat *Bacillus* di inokulasikan dimedia uji lipase dengan komposisi metil merah 0,01%, pepton 10 g, dan Nutrient Agar, olive oil steril 5%, Tween-80 2,5%, NaCl 5 g, CaCl₂.2H₂O 0,1 g. Hasil penelitian ini diperoleh 5 isolat *Bacillus* yang memiliki pertumbuhan yang cukup baik yaitu isolat BP 13, BP 14, BP16, TMA 13, TSR 5. Dengan hasil yang diperoleh aktivitas lipolitik terbesar isolat BP 16 dengan nilai indeks rata-rata sebesar 6,34 cm sedangkan untuk aktivitas lipolitik terendah isolat TMA13 dengan nilai indeks rata-rata sebesar 2,345 cm.
Kata kunci: *Bacillus*, Kebun Raya Liwa, lipolitik, tanah

Abstract. *Bacillus* is a bacterium that has the ability to survive in unfavorable environmental conditions, one of which is in nutrient-poor soils such as the Liwa Botanical Gardens. *Bacillus* isolates have been obtained from the soil of the Liwa Botanical Gardens which have lipolytic abilities. This study aimed to determine the activity of lipolytic bacteria isolates from *Bacillus* from Liwa Botanical Gardens. In this study, *Bacillus* was isolated from the soil of the Liwa Botanical Gardens using a graded dilution method, using Nutrient Agar media. The *Bacillus* isolates obtained were then purified in Nutrient agar media. *Bacillus* isolates were inoculated in lipase test media with a composition of 0.01% methyl red, 10 g peptone, and Nutrient Agar, 5% sterile olive oil, 2.5% Tween-80, 5 g NaCl, 0.1 g CaCl₂.2H₂O. The results of this study obtained 5 isolates of *Bacillus* which had fairly good growth, namely isolates BP 13, BP 14, BP16, TMA 13, TSR 5. With the results obtained the largest lipolytic activity was isolate BP 16 with an average index value of 6.34 cm while the lowest lipolytic activity was TMA13 isolate with an average index value of 2,345 cm.

Keywords: *Bacillus*, Liwa Botanical Gardens, lipolytics, soil

PENDAHULUAN

Enzim lipase merupakan salah satu enzim larut air yang memiliki suatu kemampuan untuk menghidrolisis trigliserol menjadi asam lemak bebas (Sirisha, Rajasekar, & Narasu, 2010). Enzim lipase dapat diaplikasikan dengan luas dalam bidang bioteknologi seperti industri detergen, farmasi, makanan, biokontrol, produksi biodiesel, sintesis biopolimer, dan pengolahan limbah cair yang memiliki kandungan lemak. Selain itu juga enzim lipase berpotensi untuk mengatasi suatu masalah teknis dalam industri seperti masalah suhu yang tinggi (Muharni & Anggraini, 2015).

Terdapat beberapa jenis bakteri yang dapat menghasilkan enzim lipase salah satunya adalah bakteri *Bacillus*. Selain itu, *Bacillus* juga termasuk dalam bakteri yang mampu bertahan hidup dengan berbagai kondisi lingkungan. Seperti kondisi lingkungan ekstrim, kondisi lingkungan yang memiliki kandungan nutrisi dan toksik yang berbeda-beda (Simamora & Sukmawati, 2020).

Kebun Raya Liwa adalah salah satu tempat pengolahan tanaman hias yang berada di Liwa kabupaten Lampung Barat dengan kondisi topografi yang berbeda-beda pada daerah ini termasuk kedalam kawasan perbukitan dengan kondisi tanah yang berbeda-beda yang mengakibatkan adanya pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme salah satunya *Bacillus* sp.. *Bacillus* sp. sendiri adalah salah satu bakteri yang memiliki berbagai macam manfaat seperti sebagai agen biokontrol, biodeterjen serta biodegradasi. Selain itu *Bacillus* memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim sendiri salah contohnya seperti enzim lipase yang mampu mendegradasi struktur tubuh serangga patogen pada tanaman yang memiliki kandungan substrat lipid. Oleh sebab itu *Bacillus* dari tanah Kebun Raya Liwa ini diisolasi untuk selanjutnya dapat

dimanfaatkan sebagai agen biokontrol hama penyakit tanaman yang ada di Kebun Raya Liwa (Ervina dkk, 2020).

Terdapat banyak sekali manfaat yang dapat diperoleh dalam bakteri *Bacillus*. Terutama *Bacillus* yang mengandung enzim lipase. Dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas bakteri lipolitik pada isolat bakteri *Bacillus* yang diisolasi dari tanah Kebun Raya Liwa.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan sebagai berikut : sampel tanah dari Kebun Raya Liwa, untuk pembuatan media selektif lipase dengan kandungan bahan per liter yaitu metil merah 0,01%, pepton 10 g, *Nutrient Agar*, *olive oil* steril 5 %, Tween-80 2,5%, NaCl 5 g, CaCl₂.2H₂O 0,1 g.

Isolasi dan pemurnian isolat *Bacillus*

Sampel tanah ditimbang sebanyak 1 gram, lalu dimasukan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml garam fisiologi, kemudian di homogenkan menggunakan *vortex mixer*. Sampel yang telah homogen kemudian di panaskan dalam *waterbath* selama 15 menit dengan suhu 75°C – 80°C, setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran 10⁻⁵, pada pengenceran 10⁻³, 10⁻⁴, dan 10⁻⁵ suspensi diambil untuk selanjutnya dilakukan inokulasi kedalam cawan dengan media *Nutrient Agar* (NA) dengan menggunakan metode *pour plate*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati pertumbuhan koloninya.

Selanjutnya pemurnian dilakukan dengan cara memindahkan bakteri *Bacillus* dengan mengambil koloni dengan ose kemudian digoreskan pada cawan yang berisi media *Nutrient Agar* dengan menggunakan metode streak. Kemudian diinkubasi selama 24 jam.

Selanjutnya dilakukan identifikasi isolat *Bacillus* meliputi karakter

makroskopis dan mikroskopis. Untuk mengetahui jenis Gram dan spora pada isolat *Bacillus* dapat dilakukan dengan metode pengecatan Gram dan pengecatan spora. Karakter makroskopis *Bacillus* sendiri dapat diidentifikasi dengan cara melihat koloni bakteri seperti memiliki warna koloni putih susu atau krem sedangkan untuk karakter mikroskopis bersifat Gram positif yang ditunjukkan dengan warna pengecatan ungu serta memiliki endospora sesuai dengan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

Uji Lipolitik Isolat *Bacillus*

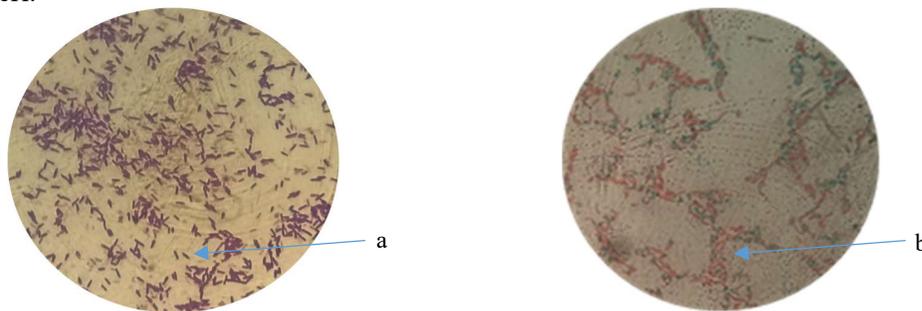
Untuk mengetahui aktivitas lipolitik pada isolat bakteri *Bacillus* dilakukan dengan menggunakan media selektif lipase yang berkomposisi metil merah 0,01%, pepton 10 g, dan *Nutrient Agar, olive oil* steril 5%, Tween-80 2,5%, NaCl 5 g, CaCl₂.2H₂O 0,1 g (Bestari C. d., 2015). Selanjutnya isolat *Bacillus* diinokulasikan pada media selektif dengan menggunakan metode titik. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Setelah diinkubasi kemudian diamati zona jernih yang terbentuk disekitar koloni bakteri.

Menurut (Nurdin dkk, 2015) untuk menentukan indeks lipolitik (IL) dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$IL = \frac{\text{luas zona jernih} - \text{luas koloni}}{\text{luas koloni}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari isolasi bakteri dari tanah Kebun Raya Liwa didapatkan 5 isolat bakteri. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan dengan beberapa karakterisasi isolat bakteri diperoleh hasil mikroskopis bakteri yang berbentuk batang, bersifat Gram positif yang ditunjukkan dengan hasil pengecatan berwarna ungu (gambar 1 (a) Gram positif *Bacillus*) serta memiliki endospora pada pengecatan spora ditunjukkan dengan adanya warna hijau (gambar 1 (b) endospora *Bacillus*). Hasil karakterisasi bakteri ini sesuai dengan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* yang menyebutkan bahwa *Bacillus* memiliki ciri-ciri seperti warna koloni putih susu atau krem, berbentuk batang, bersifat gram positif serta memiliki endospora berbentuk bulat atau oval.



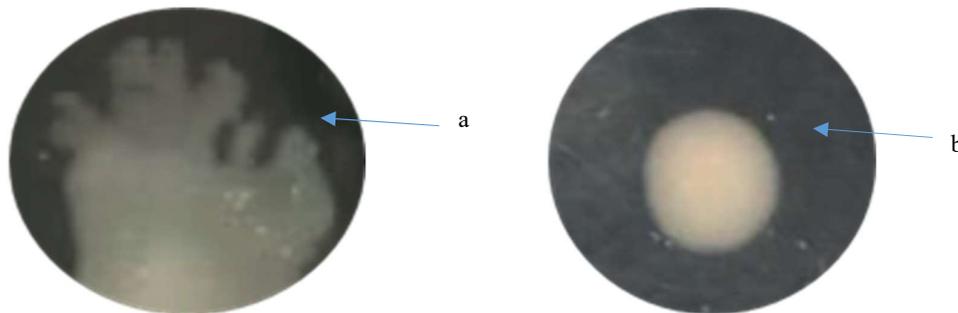
Gambar 1. (a) Gram positif *Bacillus*; (b) Endospora *Bacillus*

Kode isolat	Bentuk	Tepian	Elevansi	Warna
TMA 13	Circular	Entire	Flat	PT
TSR5	Irregular	Lobate	flat	PT
BP 13	Irregular	Undulate	Flat	PT
BP 14	Myceloid	filamentous	Flat	PT
BP 16	circular	Entire	Raised	KP

Tabel 1. Karakter morfologi koloni

Berdasarkan dari karakter morfologi mikroskopis koloni isolat bakteri yang tumbuh, didapatkan hasil seperti yang terdapat pada tabel 1. pada kode isolat TMA 13 yang memiliki bentuk circular, tepian entire, elevansi flat dan warna PT (putih tulang), untuk kode isolat TSR 5 diperoleh morfologi dengan bentuk koloni irregular, tepian lobate, elevansi flat dan warna PT (putih tulang), pada kode isolat BP 13 diperoleh hasil morfologi koloni dengan bentuk irregular, tepian undulate, elevansi

flat dan memiliki warna PT (putih tulang), pada kode isolat BP 14 diperoleh hasil morfologi koloni dengan bentuk myceloid, tepian filamentous, elevansi flat dan memiliki warna PT (putih tulang), pada kode isolat BP 16 diperoleh hasil morfologi koloni dengan bentuk circular, tepian entire, elevansi raised dan memiliki warna KP (krem keputihan). Salah satu contoh karakter morfologi isolat dapat dilihat pada gambar sebagai berikut:



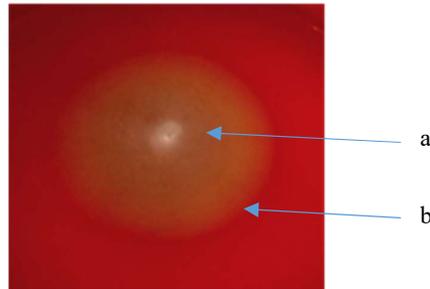
Gambar 2. (a) bentuk koloni irregular; (b) bentuk koloni circular

Bakteri lipolitik merupakan salah satu bakteri yang pada saat pertumbuhannya bakteri banyak membutuhkan konsentrasi lemak tertentu. Selain itu bakteri lipolitik sendiri dapat memproduksi enzim lipase seperti enzim ini mampu menghidrolisis lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol (Fardiaz, 1992).

Menurut (Chairunnisa, 2019) dalam proses pendegradasi kandungan dalam enzim lipase memiliki peranan yang sangat penting, karena enzim lipase ini dapat digunakan oleh bakteri secara langsung dengan substrat yang mengandung lemak.

Enzim lipase disekresikan kemudian menghidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan tiga asam lemak rantai panjang. menghasilkan lingkaran bening disekitar pertumbuhan bakteri.

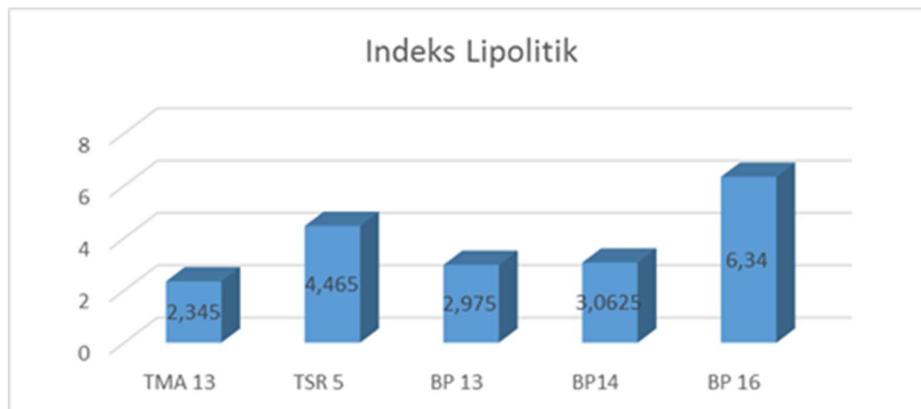
Dari hasil uji lipolitik yang dilakukan pada kelima isolat diperoleh hasil positif yang ditandai dengan adanya zona jernih dengan luas zona yang berbeda-beda. adanya zona hidrolisis (zona jernih) ini menunjukkan bahwa *Bacillus* mampu mendegradasi media selektif lipase.



Gambar 3. Uji lipolitik isolat *Bacillus*. (a) koloni bakteri; (b) zona jernih

Substrat untuk pertumbuhan bakteri lipolitik adalah lingkungan yang mengandung adanya lemak. Enzim lipase adalah biokatalis yang berguna untuk sintesis organik karena memiliki fleksibilitas, komersial, stereoselektivitas serta dalam penggunaan diberbagai macam pH dan suhu (Melliawati, 2018).

Salah satu cara untuk mengetahui adanya kemampuan lipolitik dapat dilakukan dengan menghitung indeks lipolitik dengan membagi antara diameter zona bening dan diameter pada koloni bakteri. Adanya zona bening dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti kondisi lingkungan, media, serta inokulum (Bestari C. D., 2015).



Gambar 4. Rata-rata indeks aktivitas lipolitik *Bacillus*

Indeks lipolitik kelima isolat dapat dilihat pada gambar 4 rata-rata indeks lipolitik tertinggi diperoleh pada bakteri *Bacillus* dengan kode BP 16 dengan nilai indeks 6,34 sedangkan untuk nilai indeks terendah ada pada bakteri *Bacillus* dengan kode TMA13 dengan nilai indeks 2,345. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa isolat *Bacillus* memiliki potensi yang besar untuk dapat di jadikan sebagai agen pengendali hayati seperti agen biokontrol tanaman terhadap hama penyakit karena enzim lipase memiliki peranan penting dalam proses awal

infeksi pada degradasi kutikula serangga (Ervina dkk, 2020). Untuk isolat bakteri yang memiliki suatu indeks lipolitik terbesar dapat dinamakan isolat potensial penghasil lipase (Gupta & Rathi, 2003).

SIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah aktivitas lipolitik terbesar ada pada kode isolat *Bacillus* BP 16 sedangkan untuk aktivitas lipolitik terendah ada pada kode isolat TMA 13.

DAFTAR PUSTAKA

- Bestari, C.D. (2015). Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar Banyuwangi. *Biotropika jurnal of Tropical Biology*, 3(3). 151-155.
- Chairunnisa. (2019). Isolasi dan Uji Lipolitik dalam Mendegradasi Minyak pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Merihat, Pematang Siantar. Medan: *Skripsi*. Program Studi Biologi. Universitas Medan Area.
- Ervina, E., Sumardi, Ekowati, C. & Rosa, E. (2020). Lipolytic Screening of Bacillus Genera as Biocontrol Candidate in Coffee Plantation. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 7(1). 31-34.
- Fardiaz. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia.
- Gupta, R., & Rathi, P. (2003). Lipase Assay for Coventional and Molecular Screening an Overview. *Biotechnol Appl Biochem*, 37. 63-67.
- Holt, G., Krieg, R., Sneath, P., Staley, J., & Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative*. Philadelphia: A Worters Kluwer Company.
- Melliawati, R. (2018). Penapisan Isolat Kapang Endofit Lipolitik untuk Produksi Lipase pada Ampas Kelapa. *Jurnal Biopral Industri*, 2. 95-105.
- Muharni, H. & Anggraini, M. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termolipolitik dengan Pendekatan Biologi Molekuler berbasis Gen 16S rRNA. *SEMIRATA*, 4(1).
- Nurdin, G., Mubarik, N. & Sudirman, L. (2015). Selection of Chitinolytic Bacteria as Biocontrol of *Colletotrichum capsici*. *Malaya Journal Microbiol*, 12(1). 35-42.
- Simamora, C. & Sukmawati, S. (2020). Identifikasi dan Karakterisasi Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase Isolat Bakteri Lipolitik Iptk 19 Asal Tempe biji Karet. *Median Jurnal Ilmu Eksakta*, 12(1). 28-37.
- Sirisha, E., Rajasekar, N. & Narasu, M. (2010). Isolation and Optimization of Lipase Producing Bacteria from oil Contaminated Soils. *Advances in Biological Research*, 4(5). 249-252