

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rusip



Gambar 1. Rusip Ikan Patin

Rusip merupakan produk makanan tradisional khas daerah Bangka-Belitung berupa awetan ikan, yang diolah dengan cara fermentasi dengan menambahkan garam dan gula aren dalam jumlah tertentu. Rusip dibuat dengan penambahan garam antara 20-30% dan 30% serta penambahan gula aren sekitar 10%, kemudian difermentasi selama kurang lebih satu minggu secara anaerob (tanpa air). Fermentasi ikan secara spontan umumnya dilakukan menggunakan garam konsentrasi tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang menyebabkan kebusukan (Hasanah, 2019)

Rusip sendiri dapat dikonsumsi secara langsung ataupun dengan penambahan bumbu-bumbu masakan tertentu seperti bawang merah, bawang putih, cabai, dan perasan jeruk nipis, untuk meningkatkan cita rasa dan selera masyarakat masing-masing. Secara umum rusip yang dihasilkan oleh

masyarakat Bangka-Belitung memiliki parameter yang secara deskriptif yaitu penampakan ikan utuh mulai hancur keruh dan encer, warna abu-abu dan coklat, rasa asin dan asam, serta aroma amis dan asam yang merupakan ciri khas produk fermentasi (Rucuh, 2016).

2.2 Kandungan Lemak Ikan Patin



Gambar 2. Ikan Patin

Ikan patin diketahui mengandung lemak yang tinggi. Ikan ini dikenal kaya akan vitamin, mineral, lemak, dan protein dibandingkan dengan ikan tawar lainnya. Selain itu, ikan patin juga memiliki protein dan gizi yang baik untuk tubuh. Kadar lemak yang terkandung dalam daging ikan patin sebesar 2,55 % sampai dengan 3,45 %, dimana asam lemak tak jenuh nya adalah di atas 50 % (Irianto, 2007).

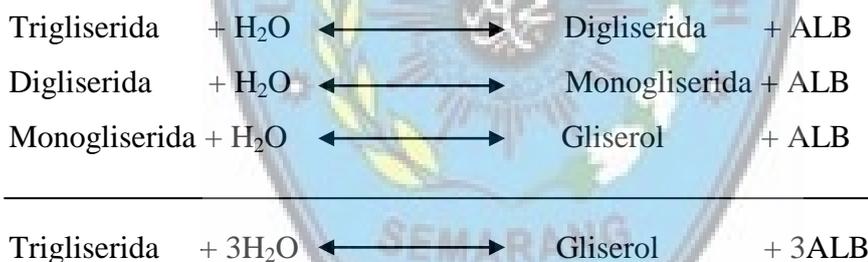
Asam lemak esensial pada ikan patin yang dikenal sebagai Omega-3, berperan penting untuk kesehatan tubuh dan otak. Omega-3 dipercaya mendukung kecerdasan anak dan memperkuat sistem kekebalan tubuh. Berdasarkan hasil dari penelitian, kandungan gizi di dalam ikan patin yang berupa lemak tak jenuh (USFA sebesar 50%) berperan penting untuk mencegah terjadinya resiko penyakit kardiovaskular (Vitaranti, 2013).

2.3 Enzim Lipase

Enzim lipase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas (ALB), gliserida (digliserida dan monogliserida) serta gliserol (Winarno, 1995). Reaksi enzim lipase merupakan reaksi yang terjadi secara bertahap yang menghasilkan digliserida dan monogliserida (Brockman, 1984). Berdasar nomenklatur dari International Union OF Biochemistry, enzim lipase berfungsi mengkatalisis trigliserida menjadi digliserida dan asam lemak (Subroto, 2008).

Suhu optimal lipase pada umumnya berkisar antara 30° dan 40°C terutama pada ikan dan udang yang dibekukan. Adanya garam sangat mempengaruhi keaktifan enzim. Misalnya dengan adanya garam NaCl sampai konsentrasi 7,0 mm, lipase menunjukkan keaktifan yang maksimal dan setelah itu keaktifan menurun.

Reaksi hidrolisis enzim lipase :



Keterangan: ALB = Asam Lemak Bebas (Macrae, 1983)

2.3.1 Klasifikasi Enzim Lipase

Menurut Svendsen (1994) enzim lipase dikelompokkan berdasarkan sumbernya yaitu:

1. Enzim lipase pada mamalia

Lipase yang berasal dari mamalia dikelompokkan menjadi:

- a. Lipase pada sistem pencernaan: Lingual, lambung dan pankreas
- b. Lipase pada jaringan: Hati, paru, jantung dan ginjal
- c. Lipase dalam susu.

2. Enzim lipase dari tanaman

Menurut Mukherjee dan Hills (1994) enzim Lipase yang bersumber dari tumbuhan, dikelompokkan menjadi empat jenis, yaitu:

- a. Triasilgliserol lipase, terdapat pada tanaman jagung, minyak sawit, kacang, beras dan kentang.
- b. Silhidrolase, terdapat pada tanaman kentang.
- c. Phosfolipase, terdapat pada tanaman seledri, kol dan kacang.
- d. Liphospolipase, terdapat dalam tanaman jagung.

3. Enzim lipase dari mikroorganisme

lipase yang dihasilkan oleh mikroorganisme dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu:

- a. Bakteri: Lipase *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Miraxella*.
- b. Kapang: Lipase *Penicillium camberti*, *Geotrichum candidum*, dan *Mucor meihei*.
- c. Khamir: Lipase *Candida antartika*, *Candida rugosa* dan *Candida cylindraceae* (Yusnizar, 2001).

2.3.2. Karakteristik Enzim Lipase yang Dihasilkan oleh Bakteri

Karakteristik utama dari enzim lipase, yaitu mampu bekerja pada lapisan antar muka karena adanya perbedaan kepolaran antara lipase dengan substrat yang dikatalisisnya. Lipase bersifat polar, sedangkan substratnya non polar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka antara fasa yang larut dalam air dan fasa minyak dari substratnya (Seniwati dkk., 2010).

Pada hakikatnya enzim bersifat tidak stabil pada pelarut organik serta dapat terdenaturasi atau hilang aktifitas katalitiknya. Namun lipase dapat stabil dan tetap aktif dalam suatu pelarut organik tanpa melakukan penambahan senyawa penstabil. Karena lipase tetap memiliki kemampuan katalitiknya dalam suatu pelarut organik, membuat lipase banyak diaplikasikan dalam bidang bioteknologi (Jaeger dkk., 1994)

Bakteri yang menghasilkan lipase sebagai biokatalisator mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan katalisator alkali lainnya karena kemampuannya yang dapat bekerja secara spesifik, mempunyai aktifitas katalik air yang tinggi,

dan kemampuannya yang dapat bekerja pada suhu yang relatif rendah, sehingga membuat mereka menarik untuk aplikasi industri (Noureddini, 2004).

Tabel 2. Pemanfaatan Lipase di Industri

No	Bidang Industri	Kegunaan	Produk
1	Industri susu olahan	Hidrolisis lemak.	Produk susu “flavouring agent” untuk industri produk susu.
2	Industri roti	Meningkatkan aroma dan memperpanjang masa simpan .	Produk roti dan kue.
3	Industri pengolahan daging dan ikan	Meningkatkan aroma dan menghilangkan kelebihan lemak.	Daging dan ikan.
4	Industri kimia dan obat-obatan	Transesterifikasi minyak alami.	Produk lemak dan minyak (pembentukan cocoa butter).
5	Industri biokimia	Hidrolisis minyak/lemak	Asam lemak, digliserida dan monogliserida.
6	Industri deterjen	Menghilangkan noda/spot lemak dan minyak.	Detergen untuk laundry dan penggunaan di rumah tangga.
7	Industri kosmetik	Menghilangkan lemak	Kosmetika secara umum.
8	Industri kulit	Menghilangkan lemak dari jaringan kulit hewan	Produk-produk kulit.
9	Kedokteran	Analisis trigliserida darah	Diagnostic.

(Sumber: saktiwansyah, 2001)

2.3.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Lipase

Aktivitas enzim lipase dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya:

1. Suhu: Suhu optimal lipase adalah 30-40°C, aktivitas akan berkurang pada suhu dibawah 30°C dan diatas 40°C.
2. pH: Lipase memiliki pH optimal 8-9, beberapa golongan dapat bekerja pada pH 4,1-6,3.
3. Konsentrasi substrat: Apabila konsentrasi substrat rendah, maka semua substrat berikatan dengan enzim. Apabila konsentrasi substrat naik maka akan lebih banyak enzim yang berikatan dengan substrat. Semakin tinggi konsentrasi substrat tidak akan meningkatkan kecepatan reaksi.
4. Konsentrasi enzim: Kecepatan aktivitas enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim.
5. Adanya aktivator: Beberapa ion dan molekul mempunyai kemampuan menonaktifkan enzim.
6. Spesifisitas substrat: Lipase akan bekerja dengan baik jika enzim menemukan substrat yang sesuai dengan karakteristik dan kemampuannya.
7. Pelarut organik: Pelarut organik digunakan untuk melarutkan lemak agar pada suhu kamar ada pada keadaan cair. Dalam menggunakan pelrut organik yang harus diperhatikan adalah jenis pelarutnya dan volumenya (Krisno, 2010).

2.4 Bakteri Penghasil Enzim Lipase (Lipolitik)

Bakteri lipolitik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan untuk memecah atau menghidrolisis lipid, fosfolipid, dan turunannya (Winarno, 1983). Bakteri ini menghasilkan enzim lipase, yang merupakan produk metabolisme primer dari bakteri tersebut, yang digunakan untuk memecah lipid (Jaeger dkk., 1979). Enzim lipase dapat digunakan sebagai katalis yang efektif dan serbaguna untuk mendegradasi lipid dalam aplikasi modern seperti penggunaan enzim lipase untuk pembuatan deterjen dan biokatalis, serta dapat digunakan sebagai energi alternatif untuk mengubah minyak tumbuhan menjadi bahan bakar (Sharma dkk., 2001).

Bakteri lipolitik terlibat langsung pada pembuatan makanan dan minuman fermentasi. Bakteri lipolitik merupakan kelompok mikrobia dengan habitat dan lingkungan hidup sangat luas, baik di perairan (air tawar ataupun laut), tanah, lumpur, maupun batuan. Bakteri lipolitik juga menempel pada jasad hidup lain seperti tanaman, hewan, serta manusia. Asam laktat yang dihasilkan bakteri dengan nilai pH (keasaman) 3,4-4 cukup untuk menghambat sejumlah bakteri perusak dan pembusuk bahan makanan dan minuman (Sumantri, 2004).

Kelompok bakteri ini menghasilkan sejumlah besar asam lemak sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat). Asam lemak yang dihasilkan akan menurunkan nilai pH, pada perlakuan garam 30% adalah yang paling cepat bila dibandingkan dengan perlakuan garam lainnya. Penurunan pH tersebut cenderung lebih cepat sejalan dengan semakin meningkatnya konsentrasi garam yang digunakan, hal ini terjadi karena garam mampu menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan merangsang pertumbuhan bakteri penghasil asam laktat (Prabandari, 2011).

Bakteri lipolitik termasuk bakteri yang bersifat gram positif, tidak membentuk spora, toleran terhadap asam, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, memfermentasi gula menjadi asam laktat, tidak bergerak dan sebagian besar bersifat katalase negatif. Terdapat 3 isolat bakteri lipolitik hasil isolasi dan identifikasi yaitu *Streptococcus*, *Lactococcus* dan *Leuconostoc* (Suarsana, 2014).

2.4.1 Isolasi Bakteri Lipolitik

Bakteri lipolitik dapat ditingkatkan aktivitasnya dengan membuat formulasi media yang sesuai dengan kebutuhan serta pertumbuhan bakteri (Rahayu, 2018). Tahap pertama dalam melakukan isolasi yaitu dengan menumbuhkan dan mengembangbiakan bakteri pada media. Media yang dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA).

Media NA merupakan media umum yang dapat digunakan untuk mengkultivasi berbagai jenis bakteri, pepton, yeast, beef extract yang terdapat

dalam media dan berfungsi sebagai sumber nitrogen, sumber karbon, dan sumber vitamin untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Himedia, 2003). Media NA mengandung ekstrak daging sapi, peptone, dan agar. Formula ini tergolong relatif kompleks untuk menyediakan nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan oleh sejumlah besar mikroorganisme. Pada media NA, ekstrak daging sapi dan peptone digunakan sebagai bahan dasar karena merupakan sumber protein, nitrogen, vitamin, serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh serta berkembangbiak.

Sampel rusip ikan patin dapat diinokulasikan ke media NA hingga diperoleh koloni yang diindikasikan murni. Jika belum memperoleh koloni yang murni, dilakukan kembali hingga mendapat koloni yang murni. Untuk koloni yang diduga murni, dilakukan pewarnaan gram untuk memastikan bahwa koloni tersebut adalah memang murni dan hanya terdiri dari satu bakteri saja.

Koloni yang tumbuh dapat dipindahkan pada media padat untuk pertumbuhan bakteri penghasil enzim lipase yaitu Tributirin Agar. Media tributirin mengandung tributirin oil 2%, pepton khusus, serta ekstrak ragi yang memberikan nutrisi serta vitamin untuk bakteri penghasil lipase. Media *Tributirin Agar* merupakan media diferensial yang digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu organisme untuk menghasilkan exoenzyme, yang disebut lipase, yang menghidrolisis minyak tributirin. Minyak tributirin adalah jenis lipid yang disebut trigliserida. Tes lipase lainnya menggunakan sumber lemak yang berbeda seperti minyak jagung, minyak zaitun, minyak kacang, kuning telur, dan minyak kedelai.

Lipase dapat memecah lipid menjadi fragmen yang lebih kecil yaitu gliserol dan tiga asam lemak. Asam lemak terdegradasi dan dapat dikonversi menjadi berbagai produk akhir yang dapat digunakan oleh sel dalam produksi energi atau proses lainnya. Minyak Tributirin membentuk zona jernih di agar-agar. Ketika bakteri menghasilkan lipase dan memecah tributirin, zona yang jernih akan terbentuk disekitar koloni

Pengamatan morfologi koloni pada media tersebut meliputi bentuk, warna, dan diameter koloni (Sirisha dkk., 2010). Koloni yang tumbuh di atas media

selektif agar tributirin dan membentuk zona bening di sekitar koloni merupakan bakteri pendegradasi lemak (Ankrit dkk., 2011).

2.5 Bakteri Patogen

Bakteri patogen merupakan organisme atau mikroorganisme yang dapat menyebabkan suatu penyakit pada organisme lain. Kemampuan suatu mikroorganisme patogen untuk menyebabkan penyakit disebut dengan patogenitas. Patogenitas sendiri adalah mekanisme infeksi dan mekanisme perkembangan penyakit (Setyorini, 2013).

Kemampuan bakteri dalam menyebabkan penyakit tergantung pada tingkat patogenitasnya. Pada kriteria tersebut, maka bakteri dikelompokkan menjadi tiga, diantaranya bakteri penyebab penyakit, bakteri patogen oportunistik, dan bakteri non patogen. Bakteri penyebab penyakit adalah bakteri patogen yang menyebabkan suatu penyakit. Patogen oportunistik merupakan bakteri yang berkemampuan sebagai patogen ketika mekanisme pertahanan inang diperlemah. Bakteri non patogen merupakan bakteri yang tidak pernah menjadi patogen. Akan tetapi bakteri non patogen dapat berubah menjadi patogen karena kemampuan adaptasi terhadap efek mematikan terapi modern seperti kemoterapi, imunoterapi, dan mekanisme resistensi (Guli, 2016).

2.5.1 Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Penghasil Enzim Lipase

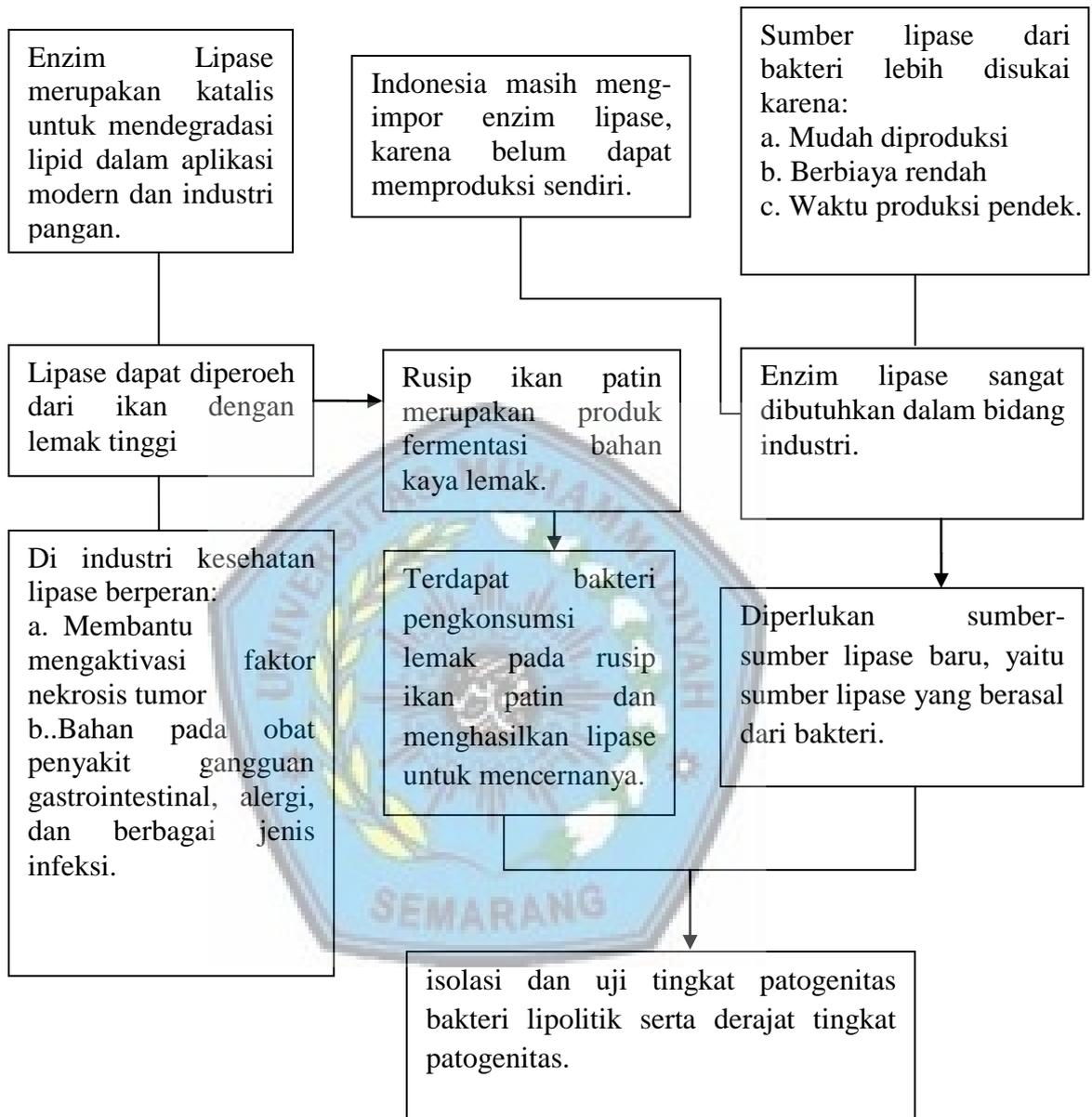
Uji tingkat patogenitas bakteri penghasil enzim lipase dilakukan menggunakan media *MacConkey Agar* (MC) dan *Blood Agar Plate* (BAP). Media ini merupakan salah satu jenis media yang digunakan untuk identifikasi mikroorganisme. MC dan BAP termasuk dalam [media selektif](#) dan diferensial bagi bakteri (Arifiani, 2018).

Media MC mampu menghambat pertumbuhan [bakteri gram positif](#) dengan adanya garam empedu yang akan membentuk [kristal violet](#). [Bakteri gram negatif](#) yang tumbuh pada media dapat dibedakan kemampuannya dalam memfermentasikan laktosa. Media ini mengandung indikator pH berupa Neutral red, sehingga bakteri yang termasuk laktosa fermenter dalam suasana asam akan menghasilkan warna merah muda. Koloni bakteri yang

memfermentasikan laktosa berwarna merah bata dapat dikelilingi oleh endapan garam empedu. Endapan ini disebabkan karena penguraian laktosa menjadi asam yang akan bereaksi dengan garam empedu. Bakteri yang tidak memfermentasikan laktosa biasanya bersifat patogen. Golongan bakteri ini tidak memperlihatkan perubahan pada media. Ini berarti warna koloninya sama dengan warna media. Warna pada koloni dapat dilihat di bagian koloni yang terpisah.

Pada media BAP bakteri non-patogen umumnya tidak mampu melisis darah (Ethica, 2018). Media BAP merupakan media diperkaya karena mengandung 5% darah, sehingga medium ini mampu mengisolasi dan mengkultivasi berbagai macam bakteri yang umumnya sulit ditumbuhkan. Media ini termasuk media diferensial karena berfungsi membedakan bakteri berdasarkan kemampuan dalam menghemolisis sel darah merah (Willey dkk., 2009). Ada 3 tipe hemolisis yaitu, β -hemolisis, α -hemolisis, γ -hemolisis. Bakteri tipe β -hemolisa dapat mendestruksi sel darah merah serta hemoglobin secara sempurna sehingga menghasilkan zona jernih disekitar koloninya. Bakteri dengan α -hemolisa mampu mendestruksi sel darah sebagian sehingga menghasilkan warna hijau disekitar koloni. Bakteri γ -hemolisia tidak mampu mendestruksi sel darah merah sehingga tidak mampu mengubah warna media di sekitar koloni (Leboffe dan Pierce, 2011).

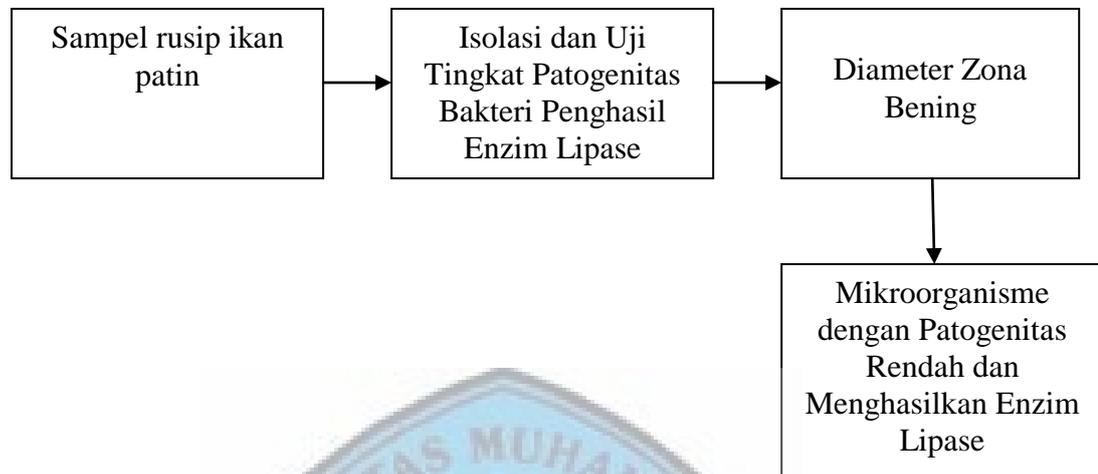
2.6 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori Isolasi dan Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Penghasil

Enzim Lipase dari Rusip Ikan Patin

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep Isolasi dan Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari rusip Ikan Patin.

