

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Rusip Ikan Bandeng



Gambar 1. Rusip ikan

Rusip adalah produk makanan tradisional khas dari Bangka – Belitung berupa awetan ikan laut yang berukuran kecil terutama berbahan baku ikan bandeng yang diolah dengan cara fermentasi yang dibuat dengan penambahan garam 10-25% dan gula aren 10% (Streinkaus, 2002). Fermentasi yaitu salah satu proses pengolahan bahan makanan dengan memanfaatkan mikroorganisme, yaitu menghasilkan energi dengan cara menguraikan karbohidrat, lemak dan protein tanpa kehadiran O<sub>2</sub> bebas (Sarwono, 2012).

Bioteknologi pangan telah dikenal sejak ribuan tahun yang lalu melalui proses fermentasi, seperti pembuatan cuka, minuman yang beralkohol, kecap, tempe, roti, keju. Bukti paling awal fermentasi yaitu makanan dan minuman beralkohol. Rusip terbuat dari ikan yang difermentasi selama 7 hari yaitu dengan penambahan gula dan garam (Sinskey, 1985).

## 2.2 Kandungan Lemak Ikan Bandeng



Gambar 2. Ikan bandeng.

Ikan bandeng yang memiliki nama ilmiah *Chanos chanos* yang termasuk family *Chanidae*, salah satu dari jenis budidaya air payau (Adiputra, 2012) merupakan ikan yang banyak digemari oleh masyarakat karena mengandung protein sekitar 20-24% yang terdiri dari asam amino glutamat 1,23% dan lisin 2,25% (Hafiludin, 2015). Selain kandungan protein yang cukup tinggi ikan bandeng juga kaya akan kandungan asam lemak omega 3 yang mencapai 14,2 % dari total lemak (Balai perikanan, 2004).

Dari kandungan nutrisi ikan bandeng tersebut menjadikan ikan bandeng sangat mudah dicerna dan sangat baik untuk dikonsumsi oleh semua usia. Seperti ikan salmon, ikan bandeng juga mengandung asam lemak omega 3 yang sangat baik untuk kesehatan tubuh dan otak serta pencegahan penggumpalan darah sehingga dapat mencegah penyakit jantung coroner (Sumartini dkk., 2014).

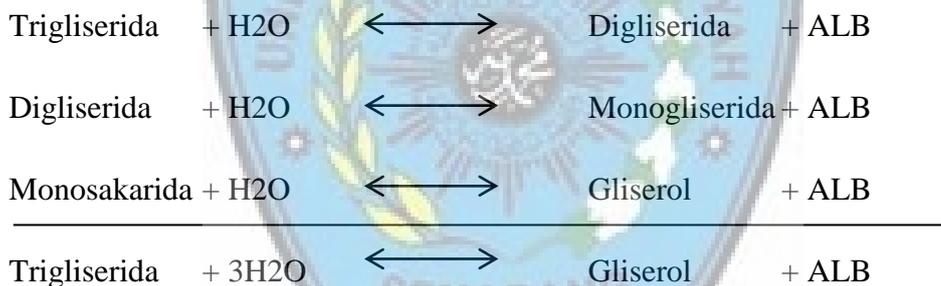
## 2.3 Enzim Lipase

Lipase merupakan enzim yang mampu merombak lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Sana dkk., 2004). Enzim lipase dari mikrobia umumnya tahan terhadap panas meskipun jasad renik penghasilnya tidak tahan. Untuk mendeteksi keberadaan mikrobia penghasil lipase yang paling mudah dan sering digunakan yaitu dengan menggunakan media Tributirin. Aktivitas lipase ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekitar koloni. Enzim lipase juga dapat ditunjukkan oleh bebasnya asam lemak bebas dari trigliserida pada suatu medium. Oleh karena itu medium *Tributirin* agar sering digunakan sebagai medium seleksi

awal. Produk lipase oleh beberapa mikroorganisme dibatasi oleh adanya karbohidrat yang dapat difermentasi sementara mikroorganisme lainnya membutuhkan zat tersebut untuk pertumbuhannya. Media yang dapat digunakan untuk pertumbuhan yaitu *Nutrient Agar*. (Hidayat dkk., 2006).

Enzim lipase berperan penting dalam tubuh untuk menghidrolisis Enzim lipase mempunyai peranan penting dalam menghidrolisis lemak dan minyak menjadi enzim lipase bagi tubuh. Lipase juga dapat digunakan untuk pengobatan tumor karena kemampuannya untuk mengaktivasi faktor nekrosis tumor. *Acinetobacter haemolyticus* TA106 yang diisolasi dari kulit pada manusia menunjukkan kemampuan untuk memproduksi enzim lipase pada kondisi media yang sudah dioptimasi. (Jagtap dkk., 2010).

Lipase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas (ALB), gliserida serta gliserol (Winarno, 1995).



(Macrae, 1983).

Bagan 1. Reaksi Hidrolisis Enzim Lipase

Lipase dari *candida rugosa* memproduksi lovastatin yang mempunyai kemampuan menurunkan kadar kolesterol. Lipase dari mikrobial menunjukkan aktivitas lipolitik yang stabil terhadap aktivitas proteolitik. (Matsumae dkk., 1993).

### 2.3.1 Sumber – Sumber Enzim Lipase

Sumber enzim lipase yaitu berasal dari tanaman, hewan, dan mikroorganisme (Pratiwi, 2013). Lipase yang berasal dari tanaman yaitu lipase triasigliserol, lipase asilhidrolase, lipase fosfolipid, dan lipase lisofosfolipase. Sumber enzim yang berasal dari hewan dikelompokkan berdasarkan sumbernya yaitu lipase dalam pencernaan seperti lambung dan pancreas, lipase dalam jaringan hati, paru-paru, jantung serta ginjal, serta lipase dalam air susu (Falony, 2016). Sedangkan sumber enzim lipase yang berasal dari mikroorganisme yaitu bakteri, khamir, dan jamur (Yusniar, 2001).

Namun lipase mikrobial yang paling banyak digunakan karena, untuk produksinya diperlukan waktu yang singkat dan aktivitasnya dapat ditingkatkan dengan kondisi pertumbuhan yang tepat serta tidak diperlukan lahan produksi luas. (Ertugrul dkk., 2007).

Mikroorganisme seperti bakteri, yeast, jamur dikenal sebagai sumber lipase ekstraseluler, yang mampu memfasilitasi pemulihan enzim dari media tumbuhnya. Media dengan nutrisi yang kaya akan sumber energi seperti trigliserid dapat meningkatkan lipase dan begitu pula dengan suhu dan pH pertumbuhan. (Mayordomo dkk., 2000)

### **2.3.2 Karakteristik Enzim Lipase**

Salah satu karakteristik utama dari lipase, yaitu enzim dapat bekerja pada lapisan antar muka karena terdapat perbedaan kepolaran antara lipase dengan substratnya yang dikatalisisnya. Enzim lipase bersifat polar, sedangkan substratnya senyawa non polar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka antara fasa yang larut dalam air dan fase minyak dari substratnya (Seniwati dkk., 2010).

Pada umumnya enzim bersifat tidak stabil dalam pelarut organik dan dapat terdenaturasi. Lipase dapat stabil dan tetap aktif dalam suatu pelarut organik tanpa penambahan senyawa penstabil (Jaeger dkk., 1994).

Lipase yang dihasilkan bakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu lama waktu inkubasi. Lama waktu inkubasi mempengaruhi jumlah lipase yang dihasilkan (Winkler dkk., 1986).

### 2.3.3 Pemanfaatan Enzim Lipase di Bidang Industri

Table 2. Pemanfaatan Lipase dibidang Industri

No	Bidang Industri	Kegunaan	Produk
1.	Bidang olahan	Menghasilkan emulsifier, surfaktat, mentega, coklat tiruan	Produk pangan
2.	Industry deterjen	Menghidrolisis noda minyak pada kain	Deterjen untuk mencuci pakaian
3.	Pengolahan daging dan ikan	Pengempukan daging	Produk pangan
4.	Industry oleokimia	Hidrolisis minyak/lemak	Asam lemak, digliserida dan monogliserida
4.	Industry tekstil	Penghapusan ukuran pelumas	Oli tekstil

( Saktiwati 2001; Adita, 2013 )

### 2.3.4 Klasifikasi Enzim Lipase

Berdasarkan sistem klasifikasi enzim lipase, kemampuan dalam mensintesis ikatan ester, lipase diklasifikasikan kedalam 3 golongan menurut kekhasannya yaitu lipase yang tidak khas, kekhasan untuk asam lemak tertentu, dan lipase yang mempunyai kekhasan posisi (Deman, 1997).

### 2.4 Bakteri Penghasil enzim lipase (Lipolitik)

Bakteri merupakan organisme prokariotik yang umumnya tidak mempunyai klorofil, dan produksi aseksualnya terjadi melalui pembelahan sel. Bakteri pada umumnya merupakan makhluk hidup yang juga memiliki DNA, akan tetapi DNA bakteri tidak berada pada nukleus yang juga tidak mempunyai membrane sel (Jawetz, 2004).

Bakteri lipolitik adalah bakteri yang dapat memecah lipid ( Jaeger dkk, 1994). Bakteri ini menghasilkan enzim lipase, yang merupakan produk metabolisme primer dari bakteri tersebut, yang digunakan untuk memecah lipid (Sharma dkk., 2001). Lipase yang berasal dari bakteri banyak digunakan dalam produksi ekstraseluler. Seperti pembuatan keju dan yoghurt. Bakteri lipolitik berfungsi dengan baik pada emulsi minyak dalam air, kandungan air tinggi serta urea interfacial untuk degradasi tersedia luas (Jaeger dkk., 1994).

Bakteri lipolitik bersifat halofilik dan halotoleran. Guzman (1979) telah berhasil mengisolasi dan diperoleh isolat sebanyak 34 isolat yang menghasilkan lipase ekstraseluler. Salah satu isolat kemampuan tertinggi diidentifikasi sebagai *Bacillus pumilus*. *Pseudomonas mendocina* mampu menghidrolisis minyak pada emulsi substrat. Lipase dari *Pseudomonas mendocina* mampu menghidrolisis pada konsentrasi 0,8-20% dan enzim ini memiliki efektivitas lipolitik yang tinggi terhadap triaglislerol rantai panjang terutama triolein (Bendikiene dkk., 2008).

Menurut Adams dan Nourt (2001), bakteri asam laktat memiliki beberapa macam karakteristik fisik, seperti sel bakteri berbentuk bulat atau batang, yang memiliki sifat bakteri gram positif, tidak membentuk spora, bersifat anaerob, non motil, katalase negatif, oksidase positif, dan produk utama utama.

#### **2.4.1 Isolasi Bakteri Lipolitik**

Isolasi bakteri adalah suatu proses memisahkan suatu bakteri dari habitat/lingkungannya di alam dan menumbuhkan bakteri sebagai biakan murni dalam media buatan (Junoto, 1980). Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam melakukan isolasi mikroorganisme, yaitu :

- a. Sifat setiap jenis mikroorganisme yang akan diisolasi
- b. Media pertumbuhan yang sesuai
- c. Cara menginokulasi mikroorganisme
- d. Cara menguji mikroorganismenya yang telah diisolasi sesuai dengan yang diinginkan

- e. Cara memelihara agar mikroorganisme yang telah diisolasi tetap merupakan kultur murni.

Media *nutrient agar* (NA) adalah salah satu media yang sering digunakan untuk menumbuhkan serta mengembangbiakan bakteri, dibuat dari campuran ekstrak daging dan peptone dengan menggunakan agar sebagai pematat (Munandar, 2016). Media NA, ekstrak daging dan pepton digunakan sebagai bahan dasar karena sumber protein, nitrogen, serta karbohidrat yang sangat dibutuhkan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembangbiak. Faktor yang berpengaruh pada pertumbuhan bakteri yaitu :

- a. Sumber energy
  - b. Sumber karbon
  - c. Sumber nitrogen
  - d. Sumber garam-garam anorganik
- (Koes 2006)

Pertumbuhan bakteri memiliki beberapa fase, yaitu

- a. Fase adaptasi
  - b. Fase perumbuhan
  - c. Fase logaritmit
  - d. Fase pertumbuhan lambat
  - e. Fase pertumbuhan tetap
  - f. Fase menuju kematian dan fase kematian
- (Fardianz, 1989).

Pengamatan morfologi koloni dibagi menjadi 2 yaitu pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis yaitu dengan cara mengamati bentuk koloni, struktur koloni, bentuk sel, ukuran sel, serta pewarnaan bakteri, tepian koloni, elevasi koloni (Cappucino dan Sherman, 1987).

Pengamaan morfologi secara mikroskopis yaitu pengamatan pergerakan, pembelahan secara biner, mengamati bentuk sel yang alami, yang pada saat mengalami fiksasi panas serta selama proses pewarnan yang mengakibatkan

perubahan (Koes, 2006). Koloni yang tumbuh pada media tributirin akan membentuk zona bening di sekitar koloni yang merupakan bakteri pendegradasi lemak.

## 2.5 Bakteri Patogen

Bakteri Patogen adalah organisme atau mikroorganisme yang mampu menyebabkan penyakit pada organisme lain. Kemampuan patogen untuk menimbulkan penyakit yaitu patogenitas (Warren, 2008).

Dalam produk fermentasi, bakteri asam laktat sering ditemukan sebagai mikroflora dominan yang dapat menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk (Schved dkk., 1992). Umumnya organisme yang sangat patogen yang dapat menyebabkan penyakit, sementara sisanya jarang menimbulkan penyakit. Patogen oportunistis merupakan patogen yang jarang menyebabkan penyakit pada orang-orang yang mempunyai imunokompetensi namun juga bisa menyebabkan infeksi serius pada orang-orang yang tidak memiliki imunokompetensi (Levinson, 2008).

### 2.5.1 Uji Tingkat Patogenitas Bakteri Lipolitik

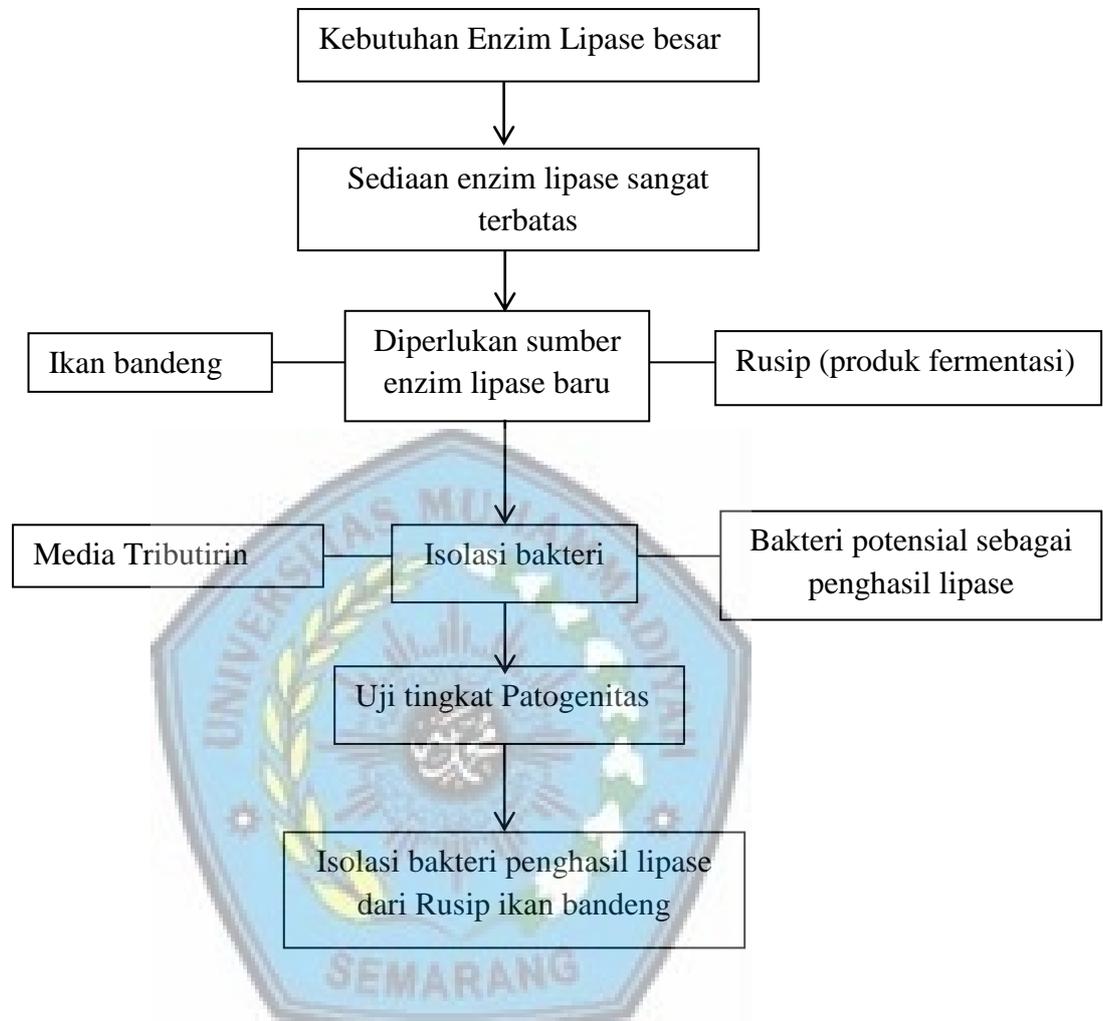
Uji tingkat patogenitas bakteri penghasil enzim lipase dilakukan dengan ditumbuhkan pada media Mac Conkey agar (MC) serta Blood Agar Plate (BAP) secara duplo dan diinkubasi 1x24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup> C (Sabrina dkk., 2017). Setelah diinkubasi kemudian diamati koloni pada media MC yang bersifat *lactose fermenter*, ditandai munculnya warna violet pada media MC. Media ini digunakan untuk identifikasi mikroorganisme.

Media MC merupakan media selektif yang mengandung garam empedu (*bile salt*) serta crystal violet yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, disebut juga media diferensial karena mampu membedakan bakteri berdasarkan kemampuan memfermentasi laktosa (Lenoffe dan Pierce, 2011). Bakteri yang termasuk laktosa fermenten akan menghasilkan warna merah muda atau violet karena media MC mengandung indikator pH *Neutral red*.

Media BAP merupakan media diperkaya karena mengandung 5% darah, sehingga media ini dapat mengkultivasi berbagai macam bakteri yang sulit ditumbuhkan. Disebut dengan media diferensial karena mampu membedakan bakteri berdasarkan kemampuan menghemolisis sel darah merah ( Wlley dkk., 2009). Terdapat 3 tipe hemolisis antara lain  $\beta$  hemolisis mampu mendestruksi sel darah merah dan hemoglobin secara sempurna sehingga menghasilkan zona bening/jernih disekitar koloni,  $\alpha$  hemolisis mendestruksi sel darah merah tidak sempurna (sebagian) sehingga menghasilkan warna hijau disekitar koloni, sedangkan  $\gamma$  hemolisis (non hemolisis) tidak mampu mendestruksi sel darah merah sehingga tidak mampu mengubah warna medium disekitar koloni (Leboffe dan Pierce, 2011). Setelah didapat isolat berpatogenitas rendah dilanjutkan pada uji penghasil enzim lipase menggunakan media *Tributirin* yang diinkubasi 2x24 jam suhu 37<sup>0</sup> C.

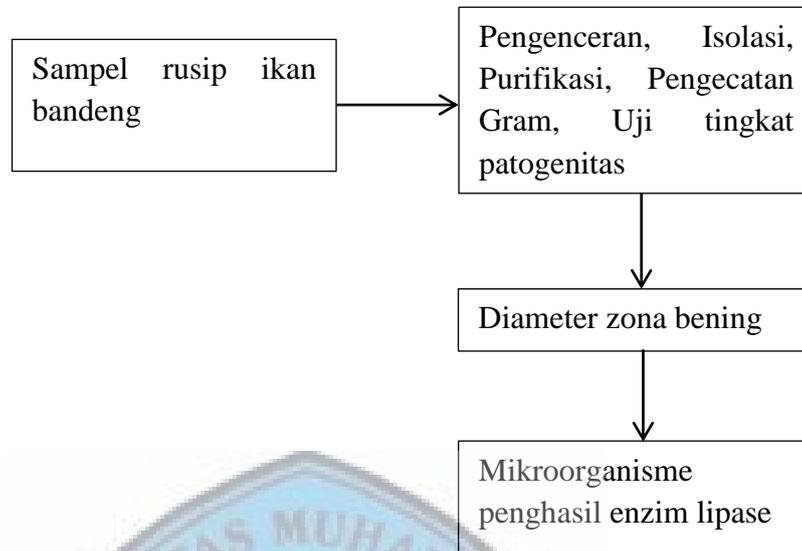


## 2.6 Kerangka Teori



Bagan 1. Kerangka teori bakteri penghasil lipase.

## 2.7 kerangka konsep



Bagan 2. Kerangka konsep

