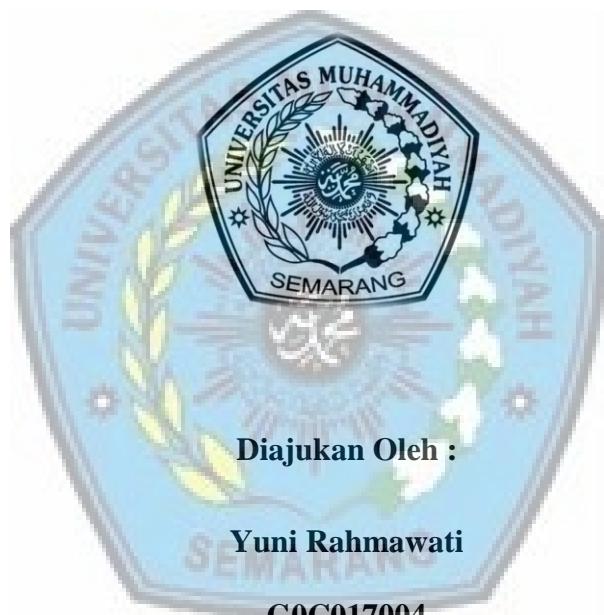


**ISOLASI DAN UJI TINGKAT PATOGENITAS BAKTERI  
PENGHASIL ENZIM LIPASE DARI RUSIP IKAN BANDENG  
(*Chanos chanos*)**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan  
Pendidikan Diploma III kesehatan  
Bidang Analis Kesehatan**



**Diajukan Oleh :**

**Yuni Rahmawati**

**G0C017004**

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN  
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG  
2020**

# ISOLASI DAN UJI TINGKAT PATOGENITAS BAKTERI PENGHASIL ENZIM LIPASE DARI RUSIP IKAN BANDENG (*Chanos chanos*)

*Isolation And Test Of The Level Of Bacteria Generating Lipase Enzymes From Bandeng Fish Ruspes (*Chanos chanos*)*

**Yuni Rahmawati<sup>1</sup> Norma Eticha<sup>2</sup> Ana Hidayati<sup>3</sup>**

Program Studi D-III Analis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Semarang

e-mail : [yunirahmawati1904@gmail.com](mailto:yunirahmawati1904@gmail.com)<sup>1</sup> [norma@unimus.ac.id](mailto:norma@unimus.ac.id)<sup>2</sup>  
[ana\\_hidayati@unimus.ac.id](mailto:ana_hidayati@unimus.ac.id)<sup>3</sup>

## Abstrak

Di Indonesia kebutuhan enzim semakin meningkat. Namun di indonesia sendiri belum mampu memproduksi enzim dalam skala besar, sehingga masih bergantung pada Negara lain. Enzim lipase secara luas bersumber pada hewan, tanaman,dan mikroorganisme. Salah satu cara untuk mendapatkan enzim lipase dari bakteri adalah dengan cara melakukan isolasi bakteri. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat bakteri penghasil enzim lipase dari Rusip Ikan Bandeng pasca fermentasi 7 hari. Uji penghasil enzim lipase bakteri dilakukan pada media *Tributirin Agar* (TA) yang ditandai adanya pembentukan zona bening disekitar koloni. Selanjutnya uji kemampuan memfermentasi laktosa menggunakan media MacConkey Agar (MC) dan uji patogenias menggunakan media Blood Agar Plate (BAP)dari hasil penelitian ini diperoleh 3 isolat bakteri yaitu FRCC-1, FRCC-2 dan FRCC-3 yang seluruhnya merupakan bakteri lipolitik dan berdasarkan karakteristik pada media MC 2 dari 3 isolat bakteri bersifat mampu memfermentasi laktosa dan BAP bersifat nonpatogen. Demikian dari ketiga isolate bakteri yang diperoleh dari penelitian ini berpotensi untuk digunakan dalam industri pangan. Isolate yang sudah dikarakterisasi isolate tersebut berpotensi untuk diaplikasikan di bidang industri pangan dan kesehatan.

**Kata kunci :** Enzim lipase, rusip ikan bandeng, bakteri lipolitik,

## Abstract

In Indonesia, the need for enzymes is increasing. However, Indonesia itself has not been able to produce enzymes on a large scale, so it still depends on other countries. Lipase enzymes are widely sourced from animals, plants and microorganisms. One way to get the lipase enzyme from bacteria is by isolating the bacteria. The aim of this study was to obtain lipase-producing bacteria isolates from milkfish Rusip after 7 days of fermentation. Bacterial lipase-producing test was carried out on Tributirin Agar (TA) medium which was marked by the formation of a clear zone around the colony. Furthermore, the test of the ability to ferment lactose using MacConkey Agar (MC) media and pathogenicity test using Blood Agar Plate (BAP) media from the results of this study obtained 3 bacterial isolates, namely FRCC-1, FRCC-2 and FRCC-3 which were all lipolytic bacteria and based on The characteristics of MC 2 media of 3 bacterial isolates were able to ferment lactose and BAP was non-pathogenic. Thus, the three bacterial isolates obtained from this study have the potential to be used in the food industry. Isolates that have been characterized by these isolates have the potential to be applied in the food and health industry.

**Key words:** Lipase enzyme, milkfish rusip, lipolytic bacteria,

## **1. PENDAHULUAN**

Lipase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Di Indonesia kebutuhan enzim semakin meningkat. Namun di indonesia sendiri belum mampu memproduksi enzim dalam skala besar, sehingga masih bergantung pada Negara lain (Meliawati, 2016).

Enzim lipase secara luas bersumber pada hewan, tanaman,dan mikroorganisme.(Gupta dkk., 2003). Salah satu cara untuk mendapatkan enzim lipase dari bakteri adalah dengan cara melakukan isolasi bakteri untuk menemukan isolat bakteri lipase. Isolasi bakteri penghasil enzim lipase dapat dilakukan pada sampel makanan olahan hasil fermentasi ikan bandeng (rusip).

Rusip merupakan produk makanan tradisional berupa awetan ikan laut terutama berbahan baku ikan bandeng yang diolah dengan cara fermentasi dengan penambahan garam dan gula dalam jumlah tertentu. Bakteri asam laktat sering ditemukan secara alamiah dalam bahan pangan khususnya pangan fermentasi.(Smid dan Gorris, 2007). Selama proses fermentasi ikan terjadi proses degradasi lemak menjadi asam-asam lemak. Degradasi lemak ini terjadi karena adanya aktivitas enzim lipase yang secara alami terdapat dalam bahan pangan atau yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang tumbuh dalam bahan pangan fermentasi selain itu, degredasi lemak juga disebabkan terjadinya hidrolisis lemak (Aryanta, 1994). Perlu dilakukan isolasi bakteri penghasil lipase guna mendapatkan informasi mengenai tingkat patogenitas bakteri yang nantinya dapat dimanfaatkan dalam skala besar.

Media yang digunakan untuk mendapatkan enzim lipase yaitu media Tributirin. Media Tributirin merupakan media selektif untuk menumbuhkan dan menyeleksi bakteri penghasil lemak dalam mendegradasi lemak. Media Tributirin dibuat dari intisari peptik jaringan hewan, ekstrak ragi, dan agar (Gupta dkk., 2003). Hasil dari media tributirin terdapat zona bening disekitar koloni (Arifiani, 2018). Ketika suatu organisme menghasilkan lipase dan memecah tributirin, halo yang jernih mengelilingi area di mana organisme penghasil lipase telah tumbuh (Abruzzi, 2003). Uji akivitas lipolitik dilihat dari indeks lipolitik yang terbentuk. Indeks lipolitik merupakan nisbah antara zona bening dan diameter koloni.

Semakin besar indeks lipolitik yang dihasilkan semakin besar enzim yang dihasilkan oleh isolat. Indeks lipolitik diperoleh menggunakan rumus berikut :

$$\text{Indeks lipolitik : } \frac{DB - DK}{DK}$$

Ket :

DB : Diameter zona bening (mm)

DK : Diameter Koloni (mm)

## 2. METODE

### Alat dan Bahan

Bahan utama untuk isolasi, pemurnian dan seleksi isolate bakteri yaitu sampel rusip ikan, medium *Nutrien Agar*, agar Macconkey (MC), agar darah (BAP).

Alat utama untuk fermentasi ikan bandeng adalah botol bermulut lebar, kantong plastik dan kotak untuk penyimpanan fermentasi. Untuk isolasi, pemurnian dan seleksi isolate bakteri, alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi steril, Bunsen, inkubator, autoclaf, mikropipet, tip steril.

### Prosedur

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Juni – Juli 2020. Pengenceran sampel dilakukan dengan cara yang pertama menumbuk sampel hingga halus dengan mortar sebanyak 1 g, dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan NaCl fisiologis hingga 10 ml. Selanjutnya, sebanyak 6 tabung reaksi steril masing-masing tabung diisi dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak 9 ml, kemudian tabung reaksi diberi label pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ . Sampel dipipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung pengenceran  $10^{-1}$ . Pengenceran dilakukan secara bertingkat hingga  $10^{-6}$ . Sampel hasil dari pengenceran selanjutnya diinokulasi pada media NA. setelah diinkubasi selama 24 jam pada temperatur  $37^{\circ}\text{C}$  diamati morfologi koloni yang terpisah-pisah selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram (Eticha dkk., 2017). Isolasi bakteri lalu dipurifikasi dengan menggunakan media NA sebanyak 3 kali atau

sampai diperoleh koloni murni dan tidak campur dengan koloni lain. Koloni hasil purifikasi diinokulasi pada media MC Agar dan Media BAP kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Lalu koloni bakteri yang tumbuh diamati. Koloni yang dipilih dari media BAP yaitu bakteri dengan tipe gama hemolis, yaitu koloni yang tidak dapat menghemolisa sel darah merah (Buxton, 2005).

Selanjutnya pada media MC agar koloni yang dipilih yaitu koloni yang menghasilkan warna merah muda pada media yang menunjukkan kemampuan memfermentasi laktosa. Uji penghasil enzim lipase oleh bakteri dengan patogenitas rendah atau disebut non patogen yaitu dilakukan dengan menggunakan media Tributirin Agar. Sampel bakteri yang lolos kemudian diuji patogenitas dan diinokulasi pada media Tributirin Agar kemudian di inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C. bakteri yang tumbuh dan membentuk zona bening jika ditambahkan iodin 1%, sekitar koloni pada media Tributirin Agar adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim lipase.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran umum Rusip Ikan Bandeng, memiliki bau khas yaitu asam. Hasil dari isolasi bakteri sampel Rusip Ikan Bandeng ditemukan 3 isolat berbeda dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Morfologi isolat Bakteri

Kode	Bentuk	Warna	Ukuran	Tepi	Elevasi	Konsistensi
FRCC-1	Bulat	Kuning	0,4 cm	Entire	Convex	Smooth
FRCC-2	Bulat	Putih keruh	0,3 cm	Undulate	Flat	Smooth
FRCC-3	Bulat	Putih keruh	0,2 cm	Entire	Convex	Smooth

Koloni bakteri yang ditemukan dari isolasi bakteri pada sampel Rusip Ikan Bandeng kemudian diidentifikasi karakteristik dan jenis bakteri berdasarkan pewarnaan Gram (Darmawati dkk., 2015). Hasil pewarnaan bakteri dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Tabel 4.1 Karasteristik Bakteri pada Pewarnaan Gram

Kode sampel	Karasteristik bakteripada pewarnaan gram
FRCC-1	Gram (-) Coccus (+) duplo
FRCC-2	Gram (+) Coccus (+) bergerombol
FRCC-3	Gram (-) basil (+) soliter



Gambar 1. Hasil dari Purifikasi koloni bakteri dari sampel Rusip

Ikan Bandeng.



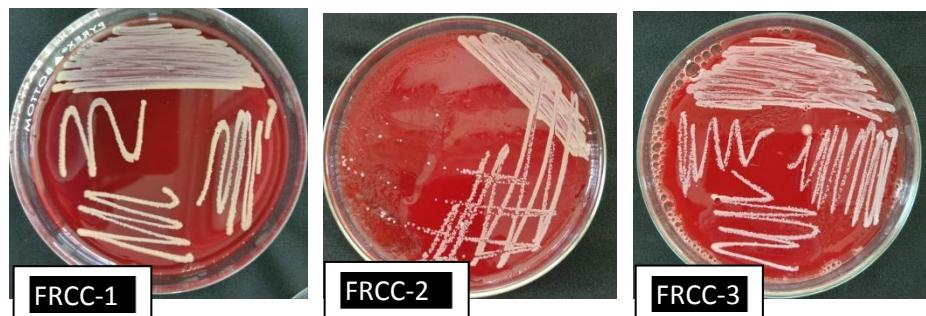
Gambar 2. Hasil fermentasi laktosa menggunakan media *MacConkey* (MC).

FRCC-1 mampu memfermentasi laktosa, FRCC-2 tidak mampu

Memfermentasi laktosa, dan FRCC-3 mampu memfermentasi laktosa sebagian.

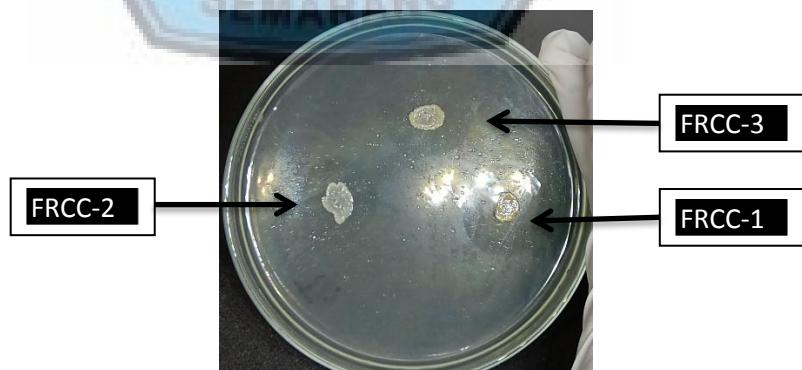
Hasil isolat dari purifikasi yang murni pada gambar 1 kemudian diuji kemampuan memfermentasi laktosa dan tingkat patogenitasnya menggunakan media MC dan BAP. Hasil dari seleksi media MC ditunjukkan pada gambar 2. Berdasarkan gambar yang ditunjukkan pada gambar 2 terlihat bahwa kode isolat FRCC-1 mampu memfermentasi laktosa, kode isolat FRCC-2 tidak mampu

memfermentasi laktosa, sedangkan kode isolat FRCC-3 mampu memfermentasi laktosa sebagian atau lambat.



Gambar 9. Hasil Uji Patogenitas Mikroorganisme menggunakan *Media Blood Agar Plate* (BAP). P3, P4 dan P5 tidak mampu mendestruksi sel darah merah  $\gamma$  hemolisis.

Hasil dari uji Patogenitas mikroorganisme menggunakan media Blood Agar Plate (BAP) yaitu pada isolat FRCC-1, FRCC-2 dan FRCC-3  $\gamma$  – hemolisis (non hemolisis) tidak mampu mendestruksi sel darah merah sehingga tidak mampu mengubah warna medium disekitar koloni. Umumnya bakteri yang tidak mampu mendestruksi sel darah merah atau tipe  $\gamma$  hemolisis (gama hemolisis) merupakan bakteri non patogen.



Gambar 3. Hasil uji kemampuan Bakteri Penghasil Lipase menggunakan media selektif *Tributirin Agar* (TA).

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada gambar 3 bahwa 3 isolat tersebut mampu menghasilkan zona bening disekitar koloni. Dengan adanya zona bening di sekitar bagian yang ditumbuhi bakteri, hal tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri mampu menghasilkan enzim lipase yang dapat menghidrolisis lemak.

Ikan Bandeng 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). Degradasi lemak ini terjadi karena adanya aktivitas enzim lipase yang secara alami terdapat dalam bahan pangan atau yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang tumbuh dalam bahan pangan fermentasi selain itu, degradasi lemak juga disebabkan terjadinya hidrolisis lemak (Aryanta, 1994).

Selain bakteri yang menghasilkan enzim pendegradasi lemak, ke tiga isolate tersebut merupakan bakteri yang berpatogen rendah. Hal tersebut berarti dari ke 3 isolat tersebut memenuhi kriteria untuk digunakan pada skala luas.

#### **4. KESIMPULAN**

Proses isolasi bakteri dari Rusip Ikan Bandeng menghasilkan 3 koloni bakteri yaitu FRCC-1, FRCC-2 dan FRCC-3. Dari hasil uji aktivitas bakteri penghasil enzim lipase terbukti semua isolat yang terpilih menghasilkan zona bening yang berarti menghasilkan enzim lipase. Sedangkan hasil seleksi patogenitas ketiga isolat tersebut bersifat nonpatogen atau berpatogen rendah. Dengan demikian ketiga isolat bakteri yang diperoleh dari penelitian ini berpotensi untuk digunakan dalam industri pangan.

## 5. DAFTAR PUSTAKA

- Adawayah, R. 2007. Pengolahan dan Pengawetan ikan. Bumi Aksara. Jakarta.
- Gupta,R., Pooja Rathi, Namita Gupta, Sapna Bradoo. 2003. Bacterial Lipases: An overview of Production, Purification and Biochemical Properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 64:763-781.
- Hasan, F., Aamer, A. S., Abdul H., 2007. Microbiology Research Laboratory, Depertement of Biological Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamad, Pakistan. *Industrial Applications of Microbial Lipases.*
- Kasipah, cica., Sinta Rismayanti, Ihsanawati, Zelly Nurachman., 2013. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil. *Balai Besar Tekstil.*
- Aryanta, W.R. 1994. Lactid Acid Fermented Fish Product. *Majalah Chemic Unud.* 42(21): 10-15.
- Aryanta, I W.R 2007. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Industri Pengolahan Bahan Pangan. Prosiding Orasi Ilmiah Guru Besar Universitas Udayana tahun 1991-2005. *Badan Penjaminan Mutu Universitas Udayana, Denpasar.*
- Arifiani, Nisa, Stalis Norma Ethica., 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Lipase dan Protease yang berpotensi senagai Agen Bioremediasi dari Limbah Biomedis Cair Puskesmas Halmahera Kota Semarang. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus. Vol. 1.*
- Candra, I.J. 2006. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Produk Bekasam Ikan Bandeng (chanos chanos). Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Deverina, MP, Anto Budiharjo, Endang Kusdiyantini. 2014., 2014. Isolasi, Karakterisasi bakteri asam Laktat, dan Analisis Proksimat dari Pangan Fermentasi Rusip Ikan Teri (*Steleporus sp*). *Jurnal Biologi. Vol. 3 no 2, 2014.*
- Desniar. 2012. Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Produk Fermentasi Ikan Bekasam. Disertasi. Institut pertanian Bogor. Bogor.
- Sabrina, A. N, Stalis Norma Ethica. 2018. Potensi Bakteri Indigen Penghasil Enzim Protease dan Lipase sebagai Agen Bioremediasi Limbah

- Biomedis Puskesmas Tlogosari Kulon. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus. Vol. 1.*
- Steinkraus, K.H. 2002. Fermentasi in Word food processing. *Comprehensive Review in food science and food safety. J. food science. 1: 23-30.*
- Telussa, I. 2013. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Dari *Coco Butter substitute* Dan Karakteristik Lipasenya, *Jurnal Kimia, FMIPA Universitas Patimura. Ambon.*
- Adiputra, Y.T, Chuang JL, Gwo JC. 2012. Genetic diversity of Indonesia milkfish (*Chanos chanos*) using amplified fragment length polymorphism (AFLP) analisis. *African Journal of Biotechnology. 11(13):3055-3060.*
- Hafiludin. 2015. Analisis Kandungan Gizi Ikan Bandeng yang Berasal Dari Habitat Yang Berbeda. Jurusan ilmu kelautan Universitas Trunojoyo Madura. *Jurnal kelautan vol.8 No 1 hal : 40.*
- Balai Pengembangan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan. 2004. *Ikan Bandeng dan Produk Diversifikasinya.* Jakarta : Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Rinto, Hafif Subarka. 2017. Kajian Keamanan Dan Kualitas Rusip Bangka. Palembang.
- Sumartini, F.S, Tri Winarni Agustini. 2014. Analisis Asam Lemak Omega 3, 6, 9 dan kadar fenol ikan bandeng asap dengan kombinasi jarak tungku dan lama pengasapan. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan Vol. 3. No 1, Hal 157-166.*
- Sana, N.K, Hossin, I, Haque, E.M dan Shaha, R.K. 2004. Identifikation, Purification and Characterization of lipase from germination oil seed (Brassica Napus L.). *Pakistan journal of Biological Sciences.7: 246-252.*
- Saktiwansyah, E. 2001. Karakterisasi Enzim Lipase Intraseluler dengan Aktivitas Esterifikasi dari Kapang *Rhizopus Orizae* TR 32. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hidayat, N.,M.C Padaga, dan Suhartini, S. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Jagtap, S. 2010. Optimization of medium for Lipase Production by *Acinetobakter Haemolyticus* from Healthy Human Skin.

Umaiya, A.U. 2015. Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam Penghasil Lipase Pada Substrat Margarin. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.

Winarno, F.G. 1995. Enzim Pangan. Gramdia Pustaka Utama, Jakarta.

Zusfahir, Tien setyaningtyas, Amin Fatoni. 2010. Isolasi, Pemurnian dan Karakteristik Lipase Bakteri Hasil Skrining dari Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas. *Jurnal Natur Indonesia* 12(2) : 124-129.

