

PENENTUAN INDUSER MEDIA PERTUMBUHAN, SUHU DAN KONSENTRASI ION KALSIMUM OPTIMUM LIPASE DARI MIKROBA LIPOLITIK TANAH HUTAN MANGROVE PANTAI SUWUNG KAUH BALI

I P. J. D. A. Suartama, I N. Wirajana*, dan A. A. B. Putra

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Jimbaran, Bali, Indonesia

**Email: nengah_wirajana@unud.ac.id*

ABSTRAK

Lipase memainkan peranan penting dalam era industri *green chemistry* yang perlu dieksplorasi dari berbagai sumber untuk mengetahui kondisi optimum yang dibutuhkan agar diperoleh aktivitas enzim tertinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan jenis induser dalam media pertumbuhan, suhu dan konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) optimum lipase dari mikroba lipolitik tanah hutan mangrove pantai Suwung Kauh Bali. Mikroba lipolitik yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroba lipolitik tunggal (ML.THM1) dan konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) yang telah diisolasi dari tanah hutan mangrove. Pantai Suwung Kauh Bali pada penelitian sebelumnya. Mikroba lipolitik ditumbuhkan pada 3 (tiga) macam komposisi media yang berbeda dalam hal penambahan induser yaitu minyak zaitun (MSL.A), minyak jelantah (MSL.B) dan tanpa penambahan induser (MSL.C). Aktivitas lipase ditentukan dengan menggunakan metode titrasi asam basa. Jenis induser media pertumbuhan mikroba tunggal lipolitik dan konsorsium mikroba lipolitik yang optimum adalah minyak zaitun (MSL.A). Suhu optimum lipase dari konsorsium mikroba lipolitik tanah hutan mangrove (KML.THM1) adalah 37°C dengan aktivitas lipase sebesar $0,0667 \pm 72,95 \times 10^{-4}$ U/mL. Konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) optimum lipase dari konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) pada suhu 37°C , 39°C , dan 41°C adalah 15 mM.

Kata Kunci: ion kalsium, konsorsium mikroba, lipase, lipolitik, tanah hutan mangrove.

ABSTRACT

Lipase plays an important role in the era of the green chemistry industry, which needs to be explored from various sources in order to determine the optimum conditions to obtain the highest enzyme activity. The purpose of this study was to determine the optimum type of growth media inducer, temperature and lipase concentration of calcium ion (Ca^{2+}) from the lipolytic microbes of the mangrove forest in Suwung Kauh Beach Bali. The lipolytic microbes used in this study were single lipolytic microbes (ML.THM1) and lipolytic microbial consortia (KML.THM1) which had been isolated from mangrove forest soil in Suwung Kauh Beach Bali in previous studies. Lipolytic microbes were grown on 3 (three) types of media with different compositions in terms of adding an inducer of olive oil (MSL.A), waste cooking oil (MSL.B), and without the addition of inducer (MSL.C). Lipase activity was determined using the acid-base titration method. The optimum type of inducer of the lipolytic single microbial and the lipolytic microbial consortia growth medium was olive oil (MSL.A). The optimum temperature of lipase from the lipolytic microbial consortia (KML.THM1) was 37°C with lipase activity of $0.0667 \pm 72.95 \times 10^{-4}$ U / mL. The optimum concentration of calcium ion (Ca^{2+}) from the lipolytic microbial consortia (KML.THM1) at 37°C , 39°C , and 41°C was 15 mM.

Keywords: calcium ion, lipase, lipolytic, microbial consortia, mangrove forest soil.

PENDAHULUAN

Aplikasi enzim dalam bidang industri bioteknologi semakin luas karena prosesnya yang bersifat ramah lingkungan atau lebih dikenal dengan istilah *green technology*. Kebutuhan enzim semakin meningkat, namun sumber dan biaya produksi enzim yang masih relatif mahal

mendorong berbagai penelitian untuk menekan biaya tersebut. Salah satunya adalah menggali sumber enzim dari mikroorganisme lipolitik tanah hutan mangrove. Tanah hutan mangrove merupakan ekosistem yang memiliki keanekaragaman mikroorganisme untuk eksplorasi berbagai macam enzim. Beberapa peneliti telah melaporkan ditemukan aktivitas

lipase yang ditentukan secara langsung dari tanah hutan mangrove (Malelak, 2014; Laksmiwati *et al.*, 2016).

Lipase merupakan enzim yang bekerja untuk menghidrolisis lipida menjadi asam lemak dan gliserol yang dibutuhkan dalam proses metabolisme. Lipase akan memecah ikatan ester pada permukaan antara fase cair, enzim terlarut, dan fase substrat yang tidak terlarut. Tingginya aktivitas lipase dalam reaksi hidrolisis membuat enzim ini sering digunakan dalam berbagai jenis industri kosmetik, farmasi, makanan dan minuman (Damaso, 2008).

Aktivitas enzim pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti suhu, pH, jenis substrat dan konsentrasinya, perlu tidaknya ion-ion logam dan konsentrasinya, serta kondisi lainnya yang tergantung dari struktur, sifat fisika kimia dan sumber enzim tersebut diperoleh (Suckling *et al.*, 1998). Menurut Su'i (2012) menemukan bahwa ion Ca^{2+} dengan konsentrasi 0,1 mM dapat meningkatkan aktivitas lipase dari kentos kelapa sebesar 180,98%. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan eksplorasi enzim lipase dari tanah hutan mangrove Pantai Suwung Kauh Bali, dan diperoleh mikroba tunggal lipolitik (ML.THM1) dan konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1). Namun kondisi optimum enzim ini seperti suhu dan konsentrasi ion kalsium belum pernah diteliti. Selain itu penentuan jenis induser pada media pertumbuhan yang dapat menghasilkan aktivitas lipase tertinggi juga belum dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan penentuan induser media pertumbuhan mikroba lipolitik, suhu dan konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) optimum lipase dari mikroba lipolitik tanah hutan mangrove Pantai Suwung Kauh Bali.

MATERI DAN METODE

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroba tunggal lipolitik dengan kode sampel ML.THM1 dan konsorsium mikroba lipolitik dengan kode sampel KML.THM1, yang telah diisolasi dari tanah hutan mangrove pantai Suwung Kauh Denpasar Bali pada penelitian sebelumnya. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini berkualitas *pro analysis* (p.a) kecuali disebutkan lain, diantaranya adalah natrium klorida, natrium hidroksida, asam oksalat, fenolftalein, aseton, etanol, magnesium sulfat, kalsium klorida, *bacto* tripton, glukosa anhidrat, minyak zaitun, minyak jelantah (minyak

goreng bekas 1 kali, merk Bimoli), kapas, perban atau kain kasa, sarung tangan (*disposable*), aluminium foil, dan plastik pembungkus untuk sterilisasi.

Peralatan

Peralatan gelas meliputi tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, pipet volume, pipet tetes, gelas Beaker, thermometer, buret, dan Erlenmeyer. Peralatan non-gelas meliputi tabung mikro Eppendorf, pipet mikro 3 jenis (1-10 μL , 10-100 μL , dan 100-1000 μL), tip putih (untuk pengambilan 1-10 μL), tip kuning (untuk pengambilan 10-100 μL), tip biru (untuk pengambilan 100-1000 μL), botol semprot, dan *ball filler*. Peralatan lain yang digunakan adalah jarum ose, *hot plate* dan magnetic stirrer, neraca analitik, inkubator shaker, *laminar flow*, *water bath*, dan *Micro Centrifuge* (TOMY MX-301).

Cara Kerja

Penentuan jenis induser dalam media pertumbuhan mikroba tunggal lipolitik (ML.THM.1) dan konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) untuk produksi lipase

Sampel mikroba tunggal lipolitik (ML.THM1) diambil sebanyak satu goresan jarum ose yang dikerjakan secara steril dalam *laminar flow*, dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL yang telah berisi media cair dengan volume 20 mL. Media yang digunakan ada 3 (tiga) macam, yaitu: MSL.A, MSL.B, dan MSL.C. Media MSL.A mengandung *bacto* tripton (1% b/v) ditimbang seberat 0,2 g ; glukosa (1% b/v) ditimbang seberat 0,2 g ; NaCl (0,01% b/v) ditimbang seberat 0,002 g ; MgSO_4 (0,001% b/v) ditimbang seberat 0,0002 g ; CaCl_2 (0,001% b/v) ditimbang seberat 0,0002 g dan minyak zaitun (1% v/v) sebanyak 0,2 mL. Media MSL.B mengandung komposisi yang sama dengan MSL.A, tetapi minyak zaitun diganti dengan minyak jelantah. Media MSL.C juga mengandung komposisi yang sama dengan MSL.A maupun MSL.B, namun tidak ditambahkan minyak zaitun atau pun minyak jelantah. Semua media tersebut disterilisasi dengan autoklaf terlebih dahulu sebelum digunakan. Setiap media tersebut dibuat 3 (tiga) buah untuk digunakan 3 kali ulangan dalam penentuan aktivitas enzim. Media yang mengandung kultur mikroba selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam atau 3 hari pada *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm. Setelah inkubasi, kultur diambil sebanyak 1,5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung mikro

steril. Kultur ini disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm pada suhu ruang selama 3 menit. Supernatan yang diperoleh diuji aktivitas lipasenya. Untuk konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) dilakukan dengan cara yang sama seperti di atas.

Uji aktivitas lipase

Uji aktivitas lipase dilakukan dengan metode titrimetri (titrasi asam basa). Supernatan ekstrak kasar enzim sebanyak 0,5 mL ditambahkan 25 mL aquades steril dan 0,25 mL minyak zaitun. Kemudian campuran diinkubasi pada suhu 37°C dalam *shaker incubator* selama 60 menit dengan kecepatan 100 rpm. Campuran tersebut ditambahkan 1,0 mL etanol-aseton (1:1) kemudian dikocok. Setelah itu campuran tersebut dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 100 mL dan ditambahkan 1-2 tetes indikator PP 1% lalu dikocok agar tercampur merata. Setelah itu dititrasi dengan NaOH 0,04 N yang sudah dibakukan dengan larutan baku primer $H_2C_2O_4$ 0,04 N. Titrasi dihentikan pada saat terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang dikocok selama 1 menit tidak hilang, ini artinya telah mencapai titik akhir titrasi. Volume NaOH yang terpakai dicatat.

Aktivitas lipase dihitung menggunakan rumus berikut ini:

$$\text{Aktivitas lipase (U/mL)} = \frac{A-B \times 1000}{t} \quad (1)$$

Keterangan:

A = konsentrasi asam pada t=60 (mol/L)

B = konsentrasi asam pada t=0 (mol/L)

1000 = konversi dari mol/L ke $\mu\text{mol/mL}$

t = waktu inkubasi reaksi enzimatik (t = 60 menit)

Penentuan suhu dan konsentrasi ion kalsium optimum lipase

Penentuan kondisi suhu optimum lipase dilakukan dengan prosedur yang sama seperti uji aktivitas lipase, namun pada saat inkubasi reaksi enzimatik (campuran reaksi antara lipase dan substrat minyak zaitun) dilakukan pada beberapa suhu, yaitu 35, 37, 39, 41, 43 dan 45°C. Masing-masing sampel dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Penentuan kondisi konsentrasi ion kalsium optimum lipase juga dilakukan dengan prosedur yang sama seperti uji aktivitas lipase, namun pada campuran reaksi enzimatik ditambahkan $CaCl_2$ (ion kalsium) dengan konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, dan 25 mM. Inkubasi

reaksi enzimatik dilakukan pada suhu optimum enzim dan dua suhu di atas suhu optimumnya. Masing-masing sampel dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induser dalam Media Pertumbuhan Mikroba Lipolitik untuk Menghasilkan Lipase

Jenis induser dalam media pertumbuhan mikroba lipolitik pada penelitian ini adalah minyak zaitun dengan nama MSL A. Untuk MSL B dengan jenis induser minyak jelantah, dan MSL C tanpa penambahan induser. Perbandingan aktivitas lipase pada berbagai media tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan data yang dipaparkan pada Tabel 1, lipase dapat diproduksi dari kultur mikroba tunggal dan konsorsium mikroba lipolitik yang ditumbuhkan dengan baik pada media MSL.A. Media MSL.A merupakan media yang mengandung minyak zaitun. Hasil ini menunjukkan bahwa minyak zaitun mampu menginduksi biosintesis protein lipase, baik dalam mikroba tunggal maupun konsorsium mikroba lipolitik. Minyak jelantah yang terkandung dalam media MSL.B hanya mampu menginduksi biosintesis protein lipase dalam konsorsium mikroba lipolitik. Namun aktivitas lipasenya hanya 38.42% dari aktivitas lipase dari konsorsium mikroba lipolitik pada media MSL.A. Lipase masih dapat diproduksi dari konsorsium mikroba lipolitik pada media MSL.C, walaupun tidak mengandung substrat lipida (minyak zaitun maupun minyak jelantah), namun aktivitas lipasenya amat rendah, yaitu 0.0022 U/mL atau hanya 3,54% dari aktivitas lipase konsorsium mikroba lipolitik pada media MSL.A. Biosintesis suatu enzim, seperti lipase dalam sel mikroba dapat terjadi pada medium tanpa lipida, namun agar meningkatkan produksi lipase dapat dilakukan penambahan senyawa induser yaitu lipida pada medium, seperti minyak zaitun. Namun, konsorsium mikroba lipolitik dalam media pertumbuhan dengan penambahan minyak jelantah (MSL.B) diperoleh aktivitas lipase yang lebih kecil, sekitar 38.42% dari aktivitas lipase konsorsium mikroba lipolitik dengan penambahan minyak zaitun. Walaupun dalam minyak jelantah (minyak goreng bekas) juga mengandung lipida (trigliserida) seperti dalam minyak zaitun, tetapi kemungkinan biosintesis lipase tidak mampu diinduksi secara optimal.

Tabel 1. Aktivitas lipase (U/mL) dari kultur mikroba tunggal lipolitik (ML.THM1) dan konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) pada media MSL.A, MSL.B, dan MSL.C

Kultur	Aktivitas Lipase (U/mL) \pm SD	Aktivitas Lipase Relatif (%)
ML.THM1-MSL.A	$0,0128 \pm 125,09 \times 10^{-4}$	20.58
ML.THM1-MSL.B	0	0
ML.THM1-MSL.C	0	0
KML.THM1-MSL.A	$0.0622 \pm 67,55 \times 10^{-4}$	100
KML.THM1-MSL.B	$0.0239 \pm 100,48 \times 10^{-4}$	38.42
KML.THM1-MSL.C	$0.0022 \pm 38,68 \times 10^{-4}$	3.54

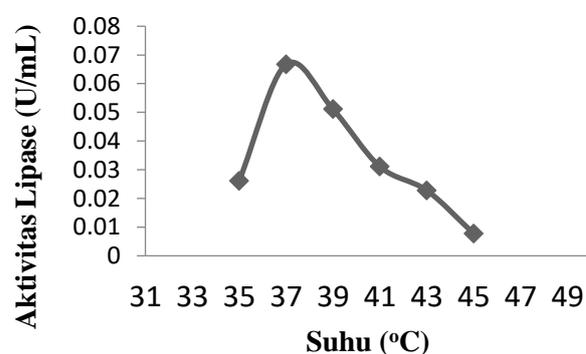
Menurut Mahreni (2010), minyak goreng bekas (jelantah) yang telah mengalami proses pemanasan dapat mengubah sifat fisika-kimia minyak. Pemanasan mempercepat hidrolisis trigliserida, sehingga dapat meningkatkan kandungan asam lemak bebas di dalam minyak jelantah. Kandungan asam lemak bebas yang tinggi dalam minyak jelantah dapat mengurangi aktivitas lipase, karena konsentrasi produk reaksinya cukup tinggi diduga dapat untuk menggeser kesetimbangan reaksi ke arah kiri (reaktan).

Berbeda dengan konsorsium mikroba lipolitik, pada mikroba lipolitik tunggal hanya mampu menghasilkan lipase pada media pertumbuhan dengan penambahan minyak zaitun. Konsorsium mikroba merupakan sekumpulan mikroba yang bekerjasama dalam suatu kelompok, sehingga mempunyai kemampuan yang lebih tinggi untuk mendegradasi suatu senyawa organik dibandingkan dengan mikroba tunggal. Mikroba yang terdapat di dalam konsorsium mempunyai peluang yang besar untuk memperoleh energi serta bertahan hidup. Konsorsium mikroba lipolitik mengandung sekelompok mikroba yang berperan penting dalam mendegradasi lipida. Mikroba lipolitik mampu memanfaatkan lipida sebagai sumber karbon dan energinya.

Suhu Optimum Lipase KML.THM1

Lipase yang digunakan untuk penentuan suhu optimum adalah lipase ekstraseluler ekstrak kasar hasil isolasi dari konsorsium mikroba lipolitik tanah hutan mangrove pantai Suwung Kauh Bali (KML.THM1) yang ditumbuhkan pada media MSL.A, karena memiliki aktivitas tertinggi seperti yang telah dipaparkan pada penentuan jenis induser dalam media pertumbuhan. Data hasil pengujian aktivitas lipase dari konsorsium mikroba KML.THM1 pada suhu inkubasi

penentuan aktivitas lipase 35-45°C ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas lipase konsorsium mikroba lipolitik tanah hutan mangrove pantai Suwung Kauh Bali (KML.THM1) pada suhu pada 35-45°C.

Pada Gambar 1 ditunjukkan kurva hubungan antara suhu (35-45°C) terhadap aktivitas lipase untuk menentukan suhu optimum lipase dari konsorsium mikroba KML.THM1. Berdasarkan kurva tersebut, dapat disimpulkan bahwa suhu optimumnya adalah 37°C, dengan aktivitas lipase sebesar $0,0667 \pm 72,95 \times 10^{-4}$ U/mL. Suhu optimum lipase dari mikroba *Bacillus subtilis* yang dilakukan oleh Yuneta dan Putra (2009) diperoleh pada 45°C. Zufahair *et al.* (2010) melaporkan bahwa bakteri dari tanah TPA Gunung Tugel Kabupaten Banyumas dapat menghasilkan lipase ekstraseluler dengan suhu optimum 40°C. Lipase yang diproduksi oleh jamur *Aspergillus.niger* dengan induser minyak goreng sawit melalui proses fermentasi memiliki suhu optimum pada 30°C (Murni *et al.*, 2011). Hertadi and Widhyastuti (2015) melaporkan aktivitas lipase yang diisolasi dari *Chromohalobacter javanicus* BK-AB18 mempunyai suhu optimum pada 45°C. Suhu merupakan salah satu faktor yang menentukan aktivitas enzim, seperti lipase. Struktur tiga

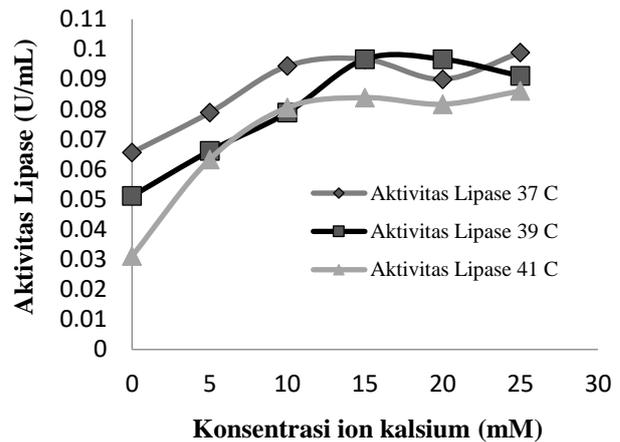
dimensi enzim sebagai struktur protein fungsional memiliki sifat yang dipengaruhi oleh suhu. Suhu optimum enzim merupakan suhu dimana struktur protein enzim berada pada konformasi terbaik untuk dapat terjadinya interaksi dengan substratnya, sehingga enzim dapat dengan cepat mengubah substrat menjadi produk. Oleh sebab itulah pada kondisi suhu tersebut aktivitasnya tertinggi daripada suhu lainnya (Pratt and Cornely, 2014). Pada penelitian ini, lipase dari konsorsium mikroba KML.THM1 memiliki struktur protein dengan konformasi terbaik berinteraksi dengan substratnya pada suhu 37°C.

Konsentrasi Ion Kalsium Optimum Lipase KML.THM1

Untuk mengetahui konsentrasi ion kalsium optimum lipase dari konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1), maka dilakukan penentuan aktivitas lipase pada konsentrasi ion kalsium 0, 5, 10, 15, 20, 25 mM. Penentuan aktivitas lipase dilakukan pada suhu optimum 37°C, dan suhu yang lebih tinggi pada suhu 39°C dan 41°C untuk mengetahui efek ion kalsium terhadap stabilitas enzim pada suhu yang lebih tinggi dari suhu optimumnya. Perbandingan aktivitas lipase pada beberapa konsentrasi ion kalsium untuk suhu 37, 39, dan 41°C ditunjukkan dalam bentuk diagram batang pada Gambar 2. Pada gambar ini ditunjukkan bahwa aktivitas lipase lebih tinggi diperoleh pada semua konsentrasi penambahan ion kalsium dibandingkan dengan tanpa penambahan ion kalsium, baik pada suhu 37, 39, dan 41°C. Berdasarkan data yang diperoleh juga menunjukkan bahwa konsentrasi ion kalsium yang semakin tinggi, cenderung dapat meningkatkan aktivitas lipase pada suhu 37, 39, dan 41°C. Konsentrasi ion kalsium yang semakin tinggi diduga dapat meningkatkan stabilitas lipase terhadap suhu yang lebih tinggi, sehingga aktivitas lipasenya ada kecenderungan semakin meningkat.

Konsentrasi ion kalsium optimum baik pada suhu 37°C, 39°C, dan 41°C adalah 15 mM. Bentuk kurva pada Gambar 4.4 yang ditunjukkan pada kedua suhu (37°C dan 41°C) hampir sama, mengalami kenaikan aktivitas lipase pada konsentrasi ion kalsium 15 mM, lalu turun pada konsentrasi 20 mM dan naik kembali pada konsentrasi 25 mM. Hal yang menarik ditemukan pada suhu 39°C, karena pada konsentrasi ion kalsium 15 mM dan 20 mM diperoleh aktivitas lipase tertinggi yang sama (0,0967 U/mL), dan turun menjadi 0,0911 U/mL pada konsentrasi ion

kalsium 25 mM. Untuk lebih memastikan konsentrasi ion kalsium optimum dari lipase konsorsium mikroba lipolitik tanah hutan mangrove Pantai Suwung Kauh Bali (KML.THM1), perlu dilakukan penelitian lanjutan pada rentang konsentrasi yang lebih kecil dari 5 mM dan lebih tinggi dari 25 mM.



Gambar 2. Aktivitas lipase konsorsium mikroba lipolitik dari tanah hutan mangrove Pantai Suwung Kauh Bali (KML.THM1) pada konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) 0, 5, 10, 15, 20, dan 25 mM serta suhu inkubasi 37°C, 39°C, 41°C

Ion kalsium diduga dapat meningkatkan stabilitas lipase konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1), sehingga aktivitasnya menjadi lebih tinggi pada beberapa suhu reaksi enzimatik daripada tanpa penambahan ion kalsium. Hertadi and Widhyastuti (2015) melaporkan bahwa lipase yang diisolasi dari *Chromohalobacter javanicus* BK-AB18 dapat ditingkatkan aktivitasnya dengan adanya ion kalsium karena stabilitasnya meningkat terhadap suhu. Zufahair *et al.*, (2010) juga melaporkan lipase ekstrak kasar ekstraseluler dari bakteri tanah TPA Gunung Tugel Kabupaten Banyumas aktivitasnya meningkat dengan penambahan ion kalsium.

Menurut Yang *et al.*, (2000) konformasi aktif lipase dari mikroba *Pseudomonas* distabilkan dengan ion kalsium. Peningkatan aktivitas lipase akibat induksi kalsium dapat dikaitkan dengan peran penting yang dimainkan oleh ion kalsium dalam membangun struktur enzim katalitik yang stabil. Hal ini sebagai akibat dari ion kalsium yang mampu mengikat struktur internal enzim, sehingga mengubah kelarutan dan sifat asam lemak terionisasi pada antarmuka (Barbosa *et al.*, 2012). Khattabi *et al.*, (2003)

melaporkan peran penting ion kalsium dalam menstabilkan lipase yang diisolasi dari *Burkholderia glumae*, terutama menstabilkan ikatan disulfida dalam struktur protein enzim pada kondisi denaturasi karena suhu tinggi. Berdasarkan pemaparan hasil penelitian dan diskusi diatas dapat ditunjukkan bahwa peranan penting ion kalsium dalam meningkatkan kestabilan struktur lipase sehingga aktivitas lipase menjadi meningkat, baik pada suhu optimumnya yakni 37°C, maupun pada suhu yang lebih tinggi pada 39°C dan 41°C.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Media pertumbuhan mikroba tunggal lipolitik (ML.THM1) dan konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) tanah hutan mangrove Pantai Suwung Kauh Bali yang dapat menghasilkan lipase dengan aktivitas tertinggi media adalah yang mengandung inducer minyak zaitun (1% v/v). Suhu optimum lipase dari konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) adalah 37°C dengan aktivitas lipase sebesar $0,0667 \pm 72,95 \times 10^{-4}$ U/mL. Konsentrasi ion kalsium (Ca^{2+}) optimum lipase KML.THM1 pada suhu 37°C, 39°C, dan 41°C adalah 15 mM.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, saran yang dapat diusulkan adalah optimasi konsentrasi inducer minyak zaitun dalam media pertumbuhan mikroba tunggal lipolitik (ML.THM1) dan konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) tanah hutan mangrove pantai Suwung Kauh Bali perlu dilakukan lebih lanjut untuk menghasilkan lipase dengan aktivitas tertinggi. Selain itu, aktivitas lipase dari konsorsium mikroba lipolitik (KML.THM1) tanah hutan mangrove pantai Suwung Kauh Bali perlu ditentukan lebih lanjut pada rentang konsentrasi ion kalsium yang lebih kecil dari 5 mM dan lebih tinggi dari 25 mM untuk memastikan kondisi optimumnya.

DAFTAR PUSTAKA

Barbosa, J. M. P., Souza, R. L., de Melo, C. M., Fricks, A. T., and Lima, C. M. F. S. A. S. 2012. Biochemical Characterisation of Lipase from New Strain of *Bacillus* sp. ITP-001. *Quim. Nova.* 35 (6): 1173-1178.

- Damaso M., P. 2008. Utilization of Agroindustrial Residues for Lipase Production by Solid-State Fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology.* 39(4):676-681.
- Hertadi, R. and Widhyastuti, H. 2015. Effect of Ca^{2+} Ion to Activity and Stability of Lipase Isolated from *Chromohalobacter javanicus* BK-AB18. *Procedia Chemistry.* 16: 306-313.
- Laksmiwati, A. A. I. A. M., Wirajana, I. N., dan Suci, D. 2016. Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Lipase yang Diinduksi Dengan Minyak Jelantah Pada Tanah Dari Hutan Mangrove Pantai Suwung Kauh Bali. 10(2): 255-262.
- Mahreni. 2010. Peluang dan Tantangan Komersialisasi Biodiesel-Review. *Jurnal Eksergi - Jurnal Prodi Teknik Kimia UPN "Veteran" Yogyakarta.* 10(2).
- Malelak, G. A., Wirajana, I. N., dan Mahardika, I. G. 2014. Pengaruh dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Lipase pada Tanah Hutan Mangrove Pantai Tablolong Kupang. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry).* 2(2): 25-31.
- Pratt, C. W. and Cornely, K. 2014. Essential Biochemistry. 3rd Ed. John Wiley and Sons.
- Suckling, C. J., Gibson, C. L., and Pitt, A. R. 1998. Enzyme Chemistry: Impact & Applications. 3th Ed., Glasgow London: Blackie Academic & Professional.
- Su'i, M. 2012. Identifikasi Enzim Lipase Dalam Santan Kelapa. *Cakrawala: Jurnal Litbang Kebijakan.* 7(1): 9-13.
- Yang, J., Kobayashi, K., Iwasaki, Y., Nakano, H. and Yamane, T. 2000. In Vitro Analysis of Roles of a Disulfide Bridge and a Calcium Binding Site in Activation of *Pseudomonas* sp. Strain KWI-56 Lipase. *Journal of Bacteriology.* 182(2): 295-302.
- Zusfahair, Setyaningtyas, T. dan Fatoni, A. 2010. Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Lipase Bakteri Hasil Skrining dari Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas. *Jurnal Natur Indonesia.* 12(2): 124-129.