

# ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL ENZIM LIPASE EKSTRASELULERDARI LUMPUR AKTIF INSTALASI PENGOLAHAN AIR LIMBAH INDUSTRI TEKSTIL

## *ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIAPRODUCER EXTRACELLULAR LIPASE ENZYME FROM AN ACTIVATED SLUDGE WASTE WATER TREATMENTPLAN OF TEXTILE INDUSTRY*

Cica Kasipah\*, Sinta Rismayani\*, Ihsanawati\*\*, Zeily Nurachman\*\*

\*Balai Besar Tekstil

Jl. A. Yani No. 390 Bandung Telp. 022.7206214-5 Fax. 022.7271288  
E-mail: texirdti@bdg.centrin.net.id

\*\*Kelompok Keahlian Biokimia FMIPA – ITB  
Jl Ganesha No. 10, Bandung

Tanggal diterima : 17 Januari 2013, direvisi : 29 April 2013, disetujui terbit : 25 Mei 2013

### ABSTRAK

Lumpur aktif dari instalasi pengolahan air limbah industri tekstil mengandung berbagai jenis mikroorganisme antara lain mikroorganisme yang memiliki aktivitas lipase yang tinggi. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari lumpur aktif instalasi pengolahan air limbah industri tekstil. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi isolasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari lumpur aktif melalui skrining dengan media yang mengandung rodamin dan minyak zaitun, penentuan aktivitas enzim lipase dan karakterisasi lipase yang dihasilkan terhadap variasi temperatur, pH, dan pengaruh ion  $Ca^{2+}$ . Hasil identifikasi secara mikrobiologi menunjukkan bahwa bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari lumpur aktif adalah spesies *Erwiniachrysantemi*. Enzim lipase ekstraseluler tersebut memiliki aktivitas 4,75 U/mL dengan temperatur optimum 40°C dan pH optimum 9. Penambahan ion  $Ca^{2+}$  tidak memberikan pengaruh berarti terhadap aktivitas enzim lipase.

**Kata kunci :** Enzim lipase, lumpur aktif, aktivitas enzim, bakteri *Erwiniachrysantemi*

### ABSTRACT

*Activated sludge of textile industry waste water treatment plant contain various type of microorganisms such as a high lipase activity microorganism. The purpose of this research is to isolate and characterize bacteria producer extracellular lipase from activated sludge of textile industry waste water treatment plant. The steps of research was done included isolation of bacteria that produce extracellular lipase enzyme from activated sludge by screening with media containing rhodamine and olive oil, determination of lipase activity and characterization of lipase against variations in temperature, pH, and the effect of  $Ca^{2+}$ . The microbiological identification showed that the bacteria producer extracellular lipase enzyme from activated sludge was species of *Erwiniachrysantemi*. The extracellular lipase enzyme has an activity 4,75 U/mL with optimum temperature of 40°C and optimum pH 9. The addition of  $Ca^{2+}$  ions do not give significant influence to the activity of the lipase enzyme.*

**Keywords :** *Lipase enzyme, activated sludge, enzyme activity, Erwiniachrysantemi bacteria*

### PENDAHULUAN

Sistem pengolahan limbah dengan lumpur aktif saat ini banyak digunakan industri tekstil untuk mencapai kadar pencemaran yang rendah agar dapat dibuang ke badan air penerima. Umumnya limbah dari industri tekstil mengandung senyawa lipida, karbohidrat atau protein. Senyawa dengan ukuran yang besar perlu dipecah menjadi senyawa pecahannya, sehingga dapat dicerna oleh

mikroorganisme dalam lumpur aktif. Proses pemecahan senyawa ini menjadi senyawa yang lebih sederhana dilakukan secara enzimatis oleh mikroorganisme.

Enzim merupakan biokatalisator yang sangat efektif meningkatkan kecepatan reaksi kimia spesifik secara nyata, reaksi ini tanpa enzim akan berlangsung lambat. Sifat-sifat istimewa enzim adalah kapasitas katalitik dan spesifisitasnya yang sangat tinggi. Disamping itu enzim mempunyai peran dalam

transformasi berbagai jenis energi. Berdasarkan tempat bekerjanya, enzim dapat dibedakan dalam 2 golongan, yaitu endoenzim dan eksoenzim. Endoenzim disebut juga enzim intraseluler, dihasilkan di dalam sel yaitu pada bagian membran sitoplasma dan melakukan metabolisme di dalam sel. Eksoenzim (enzim ekstraseluler) merupakan enzim yang dihasilkan sel kemudian dikeluarkan melalui dinding sel sehingga terdapat bebas dalam media yang mengelilingi sel dan bereaksi memecah bahan organik tanpa tergantung pada sel yang melepaskannya.<sup>1</sup> Enzim merupakan golongan protein, sehingga mempunyai sifat fisik dan kimia yang mirip dengan protein. Dalam melakukan aktivitasnya, enzim dipengaruhi oleh lingkungan. Pengaruh tersebut dapat mengganggu stabilitas enzim sehingga menjadi masalah yang sering dihadapi dalam industri. Stabilitas enzim dapat didefinisikan sebagai kestabilan aktivitas enzim selama penyimpanan dan penggunaan enzim tersebut, serta kestabilan terhadap senyawa yang bersifat merusak seperti pelarut tertentu (asam, basa) dan oleh pengaruh temperatur dan pH ekstrim.<sup>2</sup>

Lipase merupakan salah satu enzim yang telah diaplikasikan pada proses industri baik industri pangan maupun non pangan. Lipase dikenal sebagai *lipolytic enzyme* dan didefinisikan sebagai hidrolase ester asam lemak berantai panjang. Lipase berfungsi sebagai katalis pada reaksi hidrolisis triasilgliserol dan ester selain dari asilgliserol.<sup>3</sup> Enzim lipase secara luas dapat ditemukan pada hewan, tanaman dan mikroorganisme. Lipase mikroorganisme dapat diproduksi dari golongan bakteri, khamir dan jamur, baik sendiri maupun bersama-sama dengan jenis lain dari famili hidrolase, seperti esterase.<sup>3</sup> Metoda yang umum digunakan untuk memproduksi enzim lipase adalah metode fermentasi semi padat atau fermentasi medium cair. Fermentasi medium cair merupakan suatu fermentasi dengan menggunakan media cair yang substratnya terlarut atau terdispersi dalam cairan dan mikroorganismenya berada di bawah permukaan cairan pada kondisi aerob dengan bantuan aerasi dan agitasi.<sup>4</sup>

Aktivitas lipase mempunyai satuan unit (U). Satu Unit aktivitas enzim lipase setara dengan 1  $\mu$ mol asam lemak bebas yang dihasilkan dari hidrolisis substrat yang dikatalisis oleh lipase tiap satuan menit. Untuk menentukan aktivitas optimum pada kondisi optimum lipase, maka perlu dilakukan pengukuran aktivitas enzimatis pada variasi temperatur dan pH, sehingga akan diketahui aktivitas lipase disetiap rentang temperatur dan pH yang ditentukan.<sup>4</sup> Metode yang digunakan untuk memperkirakan aktivitas lipase secara kuantitatif adalah metode *interfacial*, tensiometri, kromatografi, konduktometri, titrimetri, spektrofotometri.<sup>3,4,5</sup>

Beberapa peneliti mempelajari aktivitas enzim dalam pengolahan limbah domestik dengan sistem lumpur aktif dan sistem ekstraksi enzim lipase dan protease dalam lumpur aktif dengan tujuan untuk

melihat aktivitas enzim lipase dalam hal degradasinya pada senyawa organik dalam air limbah.<sup>6,7</sup> Berdasarkan penelitian, enzim lipase yang diperoleh dari mikroorganisme selain lebih murah juga lebih stabil terhadap lingkungan. Dengan demikian mempunyai spektrum yang lebih luas untuk diaplikasikan di industri, diantaranya industri lemak, minyak, susu, obat-obatan dan tekstil.<sup>8</sup> Penelitian lain mengungkapkan bahwa enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari *Bacillus thermoleovorans* ID-1 pada salah satu sumber air panas di Indonesia memiliki aktivitas optimum pada temperatur 40°C, tetapi pada temperatur 70°C enzim masih aktif 50%, dengan pH optimum 7,5.<sup>9</sup> Selain itu, enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari *Yarrowia lipolytica* memiliki aktivitas pada temperatur optimum 40°C, tetapi aktivitasnya menurun drastis pada temperatur 45°C, dengan pH optimum 8.<sup>10</sup>

Mengingat sistem lumpur aktif untuk pengolahan air limbah industri tekstil mempunyai kesamaan dengan sistem lumpur aktif untuk pengolahan limbah domestik, maka dilakukan upaya pengambilan dan karakterisasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari lumpur aktif instalasi pengolahan air limbah industri tekstil.

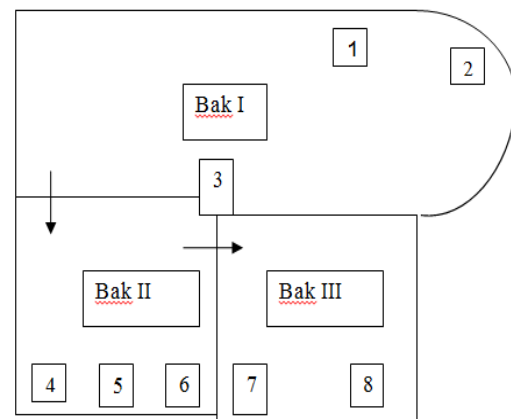
## METODE

### Bahan

Lumpur aktif yang diperoleh dari salah satu industri tekstil.

### Sampling dan karakterisasi lumpur aktif

Pengambilan sampel dilakukan di 8 titik pada 3 bak pengolahan limbah yaitu bak I (3 titik), bak II (3 titik), dan bak III (2 titik) seperti terlihat pada Gambar 1. Sampel lumpur aktif diambil secara acak dan dikarakterisasi nilai MLSS (*mix liquor suspended solid*), pH, TSS (*total suspended solid*), COD (*chemical oxygen demand*), minyak/lemak, *sludge volume* 30 menit (SV 30).



**Gambar 1.** Skema sampling lumpur aktif  
Keterangan : 1,2,3,4,5,6,7,8 : titik sampling

## Prosedur Percobaan dan Pengujian

### Pembiakan bakteri dari lumpur aktif

Masing-masing sampel lumpur aktif (8 titik sampel) ditempatkan pada media agar Luria Bertani (LB) dalam cawan petri yang mengandung rodamin. Masing-masing cawan petri di bagi menjadi 9 kotak sebagai tempat pembiakan bakteri. Bakteri yang menghasilkan enzim lipase teridentifikasi berpendar warna merah muda di bawah sinar lampu UV.

### Penapisan dan isolasi bakteri

Penapisan bakteri dilakukan untuk mendapatkan 1 koloni bakteri penghasil lipase ekstraseluler. Bakteri yang positif menghasilkan enzim lipase digoreskan pada media agar LB yang baru dan diinkubasi selama 3 hari pada temperatur 37°C. Untuk menghasilkan satu koloni tunggal, campuran koloni bakteri yang telah diinkubasi diambil sedikit dan diencerkan hingga 1 juta kali dengan penambahan media LB cair. Hasil pengenceran disebar pada media agar LB dan diinkubasi selama 3 hari pada temperatur 37°C. Koloni tunggal bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler yang diperoleh ditumbuhkan ke dalam 100 mL media cair LB. Bakteri yang telah diisolasi dikembangkan dalam media cair, agar enzim lipase ekstraseluler diproduksi terus menerus dan dapat dikarakterisasi.

### Uji aktivitas enzim lipase ekstraseluler dengan cara spektrofotometri<sup>5</sup>

Larutan p-NPP (para nitro fenol palmitat) 10 mM dalam asetonitril di pipet sebanyak 500 µL, bufer fosfat 50 mM pada pH 8,0 sebanyak 47,5 mL, dan etanol 2 mL ditambahkan ke dalam campuran tersebut. Campuran ini merupakan substrat A. Untuk uji aktivitas dilakukan pencampuran dengan komposisi; Enzim lipase ekstraseluler 1,5 mL, substrat A 0,75 mL, bufer 0,75 mL (konsentrasi p-NPP akhir / dalam tabung = 10 mM x 1/50 x 0,75/3 = 0,05 mM). Hasil pencampuran diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm setiap 30 detik sampai reaksinya sempurna.<sup>5</sup>

### Penentuan pH optimum<sup>9</sup>

Penentuan pH optimum lipase dilakukan dengan bufer suksinat – glisin yang dibuat dengan interval pH 4–12.

### Penentuan temperatur optimum

Penentuan temperatur optimum dilakukan dengan mereaksikan enzim dan substrat A pada temperatur 40–70°C.

### Penentuan pengaruh ion Ca<sup>2+</sup>,<sup>9</sup>

Disiapkan larutan Ca<sup>2+</sup> dengan konsentrasi akhir 0,02 mM; 0,06 mM; 0,2 mM. Larutan yang

mengandung masing-masing konsentrasi Ca<sup>2+</sup> (berasal dari CaCl<sub>2</sub> 1 mM) dicampur dengan 750 µL substrat A, 300 µL enzim lipase ekstraseluler, bufer fosfat pH 8 (masing-masing 1,890 µL; 1,770 µL; 1,350 µL), dengan blanko (750 µL substrat A; 2,225 µL buffer fosfat pH 8). Masing-masing campuran yang mengandung Ca<sup>2+</sup> diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm.

### Identifikasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler

Identifikasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari limbah lumpur aktif mengacu pada metode yang dilakukan oleh Cappuccino et al.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik lumpur aktif

Tabel 1 menunjukkan karakteristik limbah lumpur aktif yang diambil secara acak dari 8 titik sampling sebagaimana pada gambar 1.

Tabel 1. Karakteristik lumpur aktif

No.	Karakteristik Limbah	Konsentrasi
1	MLSS	8000 – 9000 mg/L
2	pH inlet	10,0
3	pH outlet	7,5
4	TSS inlet	4 mg/L
5	TSS outlet	3 mg/L
6	COD inlet	487 mg/L
7	COD outlet	191 mg/L
8	ML inlet	14 mg/L
9	ML outlet	1,6 mg/L
10	SV 30 menit	900 mg/L

Lumpur aktif industri tersebut mempunyai nilai MLSS yang tinggi 8000–9000 mg/L, hal ini mengakibatkan lumpur sulit dipisahkan dari cairannya yang dapat dilihat dari nilai SV30 menit sebesar 900 mg/L, selama 30 menit *sludge* yang mengendap masih memenuhi volume 900 mL dari volume total 1 L.

Tingginya MLSS ini menunjukkan jumlah mikroorganisme yang ada dalam lumpur aktif cukup tinggi, dan ini akan menguntungkan bila dilakukan ekstraksi enzim dari lumpur. Kadar minyak/lemak inlet sebesar 14 mg/L cukup tinggi dan menjadi 1,6 mg/L setelah air limbah diolah oleh lumpur aktif. Hal ini menunjukkan dalam sistem lumpur aktif terdapat mikroorganisme penghancur minyak/lemak. Sedangkan pH inlet yang tinggi (pH 10,0) dan outlet 7,5 menunjukkan sistem lumpur aktif dapat mengolah limbah yang bersifat basa tanpa harus menetralkannya terlebih dahulu. Dapat diindikasikan bahwa lumpur aktif tersebut mengandung mikroorganisme yang tahan terhadap pH tinggi.

**Tabel 2.** Hasil biakan bakteri dalam media mengandung rodamin

No cawan (titik sampling)	Hasil Pengamatan (merah muda)	Jumlah koloni (berwarna merah muda)	Jumlah kotak yang ditumbuhi koloni (dari 9 buah kotak yang ada)
0	-	-	-
1	-	-	-
2	+	1	2
3	+	1	2
4	+	2-3	8
5	+	1	3
6	+	1	5
7	+	1-2	5
8	+	1-2	6

#### Pembiakan bakteri dari lumpur aktif

Bakteri yang terdapat pada lumpur hasil sampling dibiakan di media agar yang mengandung rodamin. Reaksi positif merupakan reaksi antara enzim lipase yang dihasilkan bakteri dengan rodamin pada media agar, yang ditunjukkan dengan pendaran warna merah muda sekitar koloni bakteri di bawah sinar lampu UV. Hasil reaksi hidrolisis antara lipase dengan substrat (minyak zaitun) menghasilkan produk berupa asam lemak bebas. Adanya ikatan kompleks antara rodamin dengan asam lemak bebas tersebut menghasilkan warna merah muda saat diiradiasi di bawah sinar UV.<sup>6</sup> Hasil pembiakan bakteri (Tabel 2) memperlihatkan bahwa pada media agar tumbuh bakteri yang berasal dari sampel lumpur aktif dan menunjukkan reaksi positif. Bakteri yang berasal dari cairan hanya tumbuh sedikit dan tidak menunjukkan reaksi positif terhadap rodamin.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada cawan no. 4 terdapat jumlah koloni berwarna paling banyak dibandingkan cawan yang lainnya. Hal ini berarti pada titik sampling no. 4 pada Gambar 1 merupakan tempat tumbuhnya bakteri penghasil lipase ekstraseluler paling banyak.

#### Penapisan dan isolasi bakteri

Penapisan bakteri dilakukan untuk mendapatkan 1 koloni bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler. Penapisan dilakukan pada bakteri hasil pembiakan yang positif menghasilkan enzim lipase ekstraseluler.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa bakteri yang diperoleh masih merupakan campuran beberapa koloni bakteri. Agar diperoleh koloni tunggal bakteri penghasil lipase, dilakukan pengenceran bertingkat



**Gambar 2.** Kultur campuran bakteri penghasil enzim lipase

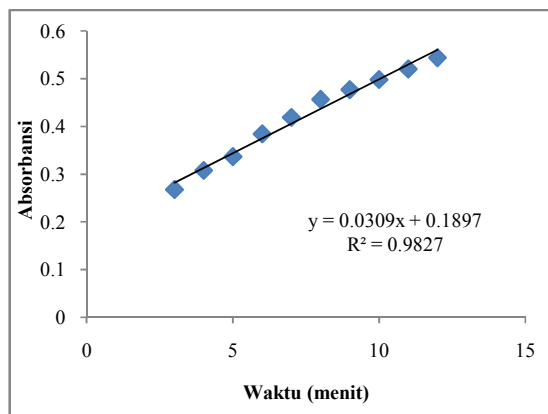


**Gambar 3.** Koloni tunggal bakteri penghasil enzim lipase

Hasil penapisan setelah pengenceran bertingkat, koloni bakteri sudah terpisah-pisah sehingga membentuk koloni tunggal berupa bulatan-bulatan kecil seperti terlihat pada Gambar 3.

Pengamatan secara mikroskopi terlihat bahwa koloni tersebut adalah koloni tunggal. Koloni tunggal ini penting bagi isolasi suatu jenis bakteri sehingga dapat dipastikan sifat/karakteristik bakteri tersebut memang berasal dari satu jenis bakteri, bukan merupakan sifat campuran dari beberapa jenis bakteri. Koloni tunggal ini sangat penting untuk karakterisasi bakteri penghasil enzim lipase. Satu koloni bakteri dikembangkan dalam media cair, agar dapat menghasilkan enzim lipase ekstraseluler yang lebih banyak dan dapat dikarakterisasi lebih lanjut.

### Uji aktivitas enzim lipase



**Gambar 4.** Hasil uji aktivitas enzim lipase pada panjang gelombang 410 nm

Pada Gambar 4 dapat dilihat hasil uji aktivitas enzim lipase ekstraseluler menunjukkan kemiringan yang cukup tinggi. Aktivitas disini didefinisikan sebagai jumlah paranitrofenol (p-NP) yang terbentuk ( $\mu\text{mol}$ ) per menit untuk setiap mililiter enzim yang bereaksi dengan paranitrofenol palmitat (p-NPP) dan dinyatakan dengan unit aktivitas U/mL. Aktivitas enzim lipase ekstraseluler dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{v \times Vt}{\epsilon \times Ve}$$

Dengan  $v$  = kemiringan (laju raksi) sebesar 0,0309 mM/menit,  $Vt$  = volume total reaksi yaitu 3 mL,  $Ve$  = volume enzim lipase ekstraseluler sebanyak 1,5 mL, nilai konversi standar p-nitrofenol adalah 0,013  $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , maka nilai aktivitas enzim lipase ekstraseluler:

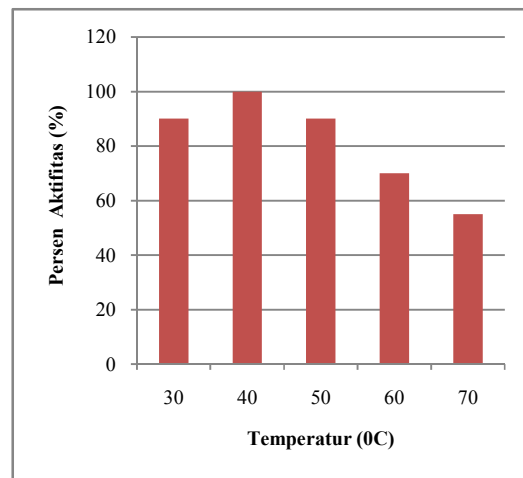
$$\text{Aktivitas enzim} = \frac{0,0309 \times 3}{0,013 \times 1,5} = 4,75 \text{ U/mL}$$

Nilai aktivitas enzim lipase ekstraseluler tersebut (4,75 U/mL) menunjukkan aktivitas relatif tinggi bila dibandingkan dengan enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari sumber lain, sebagai contoh enzim lipase yang diekstraksi dari *Aspergillus niger* memiliki aktivitas 1,5 U/mL dan dari *Bacillus cereus* memiliki aktivitas 2,51 U/mL.<sup>4,12</sup>

### Uji temperatur dan pH optimum

Enzim yang akan mengkatalisis reaksi harus berada pada kondisi lingkungan yang optimum. Zona ini ditunjukkan dari parameter temperatur dan derajat keasaman (pH), sehingga setiap enzim memiliki temperatur optimum. Laju reaksi akan meningkat seiring dengan peningkatan temperatur sampai batas optimumnya, yang kemudian akan menurun karena enzim akan mengalami denaturasi. Selain itu temperatur yang terlalu rendah juga akan menghambat aktivitas enzim.<sup>1</sup>

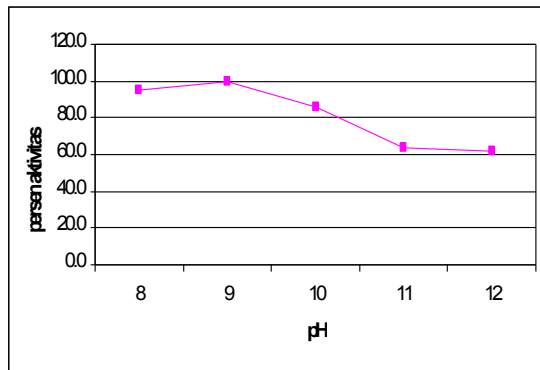
Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim diuji pada rentang 30°C sampai 70°C menggunakan bufer suksinat pH 8 selama 30 menit. Gambar 5 menunjukkan enzim lipase ekstraseluler hasil ekstraksi mempunyai aktivitas optimum pada temperatur 40°C yaitu sebesar 4,75 U/mL, akan tetapi perlakuan pemanasan selanjutnya sampai mencapai temperatur 70°C enzim masih mempunyai aktivitas sebesar 55 % aktivitas maksimum. Dengan demikian, enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari lumpur aktif bersifat termotabil (tahan terhadap temperatur tinggi) dibandingkan dengan enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari sumber lain yang memiliki aktivitas maksimum pada temperatur 40°C.<sup>9,10</sup>



**Gambar 5.** Temperatur optimum aktivitas enzim lipase

Selaintemperatur, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh pH. Setiap enzim memiliki karakter yang berbeda dan kondisi optimum pH lingkungan merupakan hal yang spesifik untuk setiap enzim. Kondisi pH yang jauh dari kondisi spesifik akan

menyebabkan ketidak aktifan enzim karena enzim akan mengalami kerusakan struktur protein.<sup>1</sup>



**Gambar 6.** pH optimum aktivitas enzim lipase

Pada gambar 6 terlihat bahwa enzim lipase ekstraseluler hasil ekstraksi dari limbah lumpur aktif memiliki pH optimum 9 dengan aktivitas sebesar 4,75 U/mL (100% aktivitas maksimum). Akan tetapi peningkatan pH sampai pH 11 masih memberikan aktivitas yang cukup tinggi (80%), hal ini akan menguntungkan apabila nantinya enzim akan digunakan pada proses industri tekstil yang umumnya dilakukan dalam kondisi basa. Dengan demikian, enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari lumpur aktif industri tekstil lebih bersifat tahan basa dibandingkan dengan enzim lipase ekstraseluler yang diekstraksi dari sumber lain yang memiliki aktivitas maksimum pada pH 8 dan 7,5.<sup>9,10</sup>

### Uji pengaruh $Ca^{2+}$

Uji kofaktor  $Ca^{2+}$  dilakukan mengingat seringkali reaksi enzim dipengaruhi oleh hadirnya logam/non logam tertentu yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim. Karena unsur  $Ca^{2+}$  umumnya dijumpai di air baku, maka pada penelitian ini dilakukan uji terhadap kofaktor  $Ca^{2+}$ .

**Tabel3.** Pengaruh  $Ca^{2+}$  terhadap aktivitas enzim lipase ekstraseluler

$Ca^{2+}$ (mM)	Enzim	A 410 nm
0,02	300 uL	0,5594
0,06	300 uL	0,6112
0,2	300 uL	0,5548
Control	300 uL	0,5659

Tabel 3 menunjukkan enzim lipase ekstraseluler tidak dipengaruhi oleh ion  $Ca^{2+}$  secara signifikan, hasil absorbansi terhadap aktivitas enzim lipase ekstraseluler hampir sama. Kondisi tersebut menguntungkan jika enzim digunakan di industri tekstil.

Menurut Mingrui *et al.*(2007) dan Dong-Woo *et al.*(1999) kofaktor  $Ca^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  dapat menstimulasi aktivitas enzim lipase ekstraseluler. Sedangkan  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ , dan  $Cu^{2+}$  dapat menghambat aktivitas enzim lipase ekstraseluler. Oleh karena itu jika enzim lipase ekstraseluler diaplikasikan pada proses tekstil, air baku yang digunakan harus bebas ion  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ , dan  $Cu^{2+}$ .

### Identifikasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler

Tabel 4 merupakan data hasil identifikasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler dari lumpur aktif. Dari hasil uji mikrobiologi, hal yang mendukung bahwa bakteri yang diisolasi adalah bakteri penghasil lipase terutama pada uji lemak dan gelatin yang menunjukkan hasil tes positif. Selanjutnya isolat bakteri yang diidentifikasi mengarah kepada spesies *Erwinia chrysantemi*.

**Tabel4.** Hasil Identifikasi bakteri penghasil enzim lipase ekstraseluler

Karakter Isolat	Isolat 1
Makroskopis koloni	<i>Circular, entire, convex, engkilat, translucent.</i>
Mikroskopis sel	Sel berbentuk batang, Gram negatif, tidak menghasilkan endospora.
Motilitas	Motil
<b>Uji biokimia</b>	
-Hidrolisis pati	Negatif
-Hidrolisis lemak	Positif
-Hidrolisis kasein	Positif
-Hidrolisis gelatin	Positif
-Fermentasi glukosa	Positif, asam dan gas
-Fermentasi sukrosa	Positif, asam dan gas
-Fermentasi laktosa	Negatif
-Produksi $H_2S$	Tidak ada <i>blackning</i> , tapi ada gas
-Produksi indol	Negatif
-Produksi urease	Negatif
-Produksi katalase	Positif
-Uji metil merah	Positif
-Uji Voges-Proskauer	Positif
-Uji TSI	Positif
-Uji Simmon's sitrat	Positif
-Reduksi nitrat	Positif

### KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri hasil isolasi dari lumpur aktif instalasi pengolahan air limbah industri tekstil tergolong bakteri *Erwinia chrysantemi* dan merupakan bakteri penghasil enzim lipase. Enzim lipase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri tersebut memiliki aktivitas 4,75 U/mL dengan pH optimum 9, pada pH 11 enzim masih mempunyai aktivitas sebesar 80 %, temperatur optimum 40°C dan dengan peningkatan temperatur hingga 70°C enzim masih mempunyai aktivitas sebesar 55 %. Penambahan ion  $Ca^{2+}$  tidak memberikan pengaruh berarti terhadap aktivitas enzim lipase ekstraseluler.

**PUSTAKA**

- <sup>1</sup> Lehninger, A. L., (1995), *Dasar – Dasar Biokimia I*, Erlangga, Jakarta.
- <sup>2</sup> Dosanjh, N. S., dan Kaur, J.,(2002), Immobilization, Stability, and Esterification Studies of A Lipase from Bacillus sp., *Journal Biotechnology and Applied Biochemistry*, 36, 7 – 12, Punjab University, Chandigarh.
- <sup>3</sup> Saxena, R. K., et al., (2003), Purification Strategies for Microbial Lipases, *Journal of Biotechnological Method*, 52, 1 – 18.
- <sup>4</sup> Murni, S. W., dkk, (2011), Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari Aspergillus niger, *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia, Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, ISSN 1693-4393.
- <sup>5</sup> Dimitrijhvic, A., et al., (2011), Production of Lipase from Pseudozyma aphidis and Determination of the Activity and Stability of the Crude Lipase Preparation in Polar Organic Solvent, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76 (8), 1081 – 1092.
- <sup>6</sup> Yin Li, Chrost R.J., (2006), Microbial Enzymatic Activities in Aerobic Activated Sludge Model Reactor, *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 68-572.
- <sup>7</sup> Gessesse, A., et al., (2003), Lipase and Protease Extraction from Activated Sludge, *Water Research*, 37, 3652 – 3657.
- <sup>8</sup> Hasan, F., Aamer, A. S., Abdul, H., (2007) *Industrial Application of Microbial Lipases*, Microbiology Research Laboratory, Departement of Biological Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad, Pakistan.
- <sup>9</sup> Dong-Woo Lee, et al., (1999), Isolation and Characterization of a Thermophilic Lipase from Bacillus thermoleovorans ID-1, *Journal of FEMS Microbiology Letters*, 179, 393-400.
- <sup>10</sup> Mingrui Yu, Shaowei Qin, Tianwei Tan, (2007), Purification and Characterization of Extracellular Lipase Lip2 from Yarrowia lipolitica, *Journal of Process Biochemistry*, 42, 384 – 391.
- <sup>11</sup> Cappuccino, J.G. & Sherman, N., (2005), *Microbiology: A Laboratory Manual* 2<sup>nd</sup> ed. The Benjamin Cummings Publishing Company. Inc. USA.
- <sup>12</sup> Akanbi, T. O., et al., 2010, Highly Thermostable Extracellular Lipase-Producing Bacillus Strain Isolated from a Malaysian Hotspring and Identified Using 16S rRNA gene Sequencing, *International Food Research Journal*, 17, 45 – 53