

OPTIMASI PRODUKSI ENZIM LIPASE DARI ISOLAT *Aspergillus oryzae* PADA KOPRA BERJAMUR

Seniwati Dali^{1*}, Abd. Rauf Patong¹, M. Noor Jalaluddin¹, Pirman AP²

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Hasanuddin

²Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Makassar

Abstrak. Optimasi produksi enzim lipase dari isolat *Aspergillus oryzae* pada kopra berjamur telah dilakukan. Isolasi enzim dilakukan setelah fungi tersebut diaktifkan dan dikultur pada media yang mengandung pepton dan minyak zaitun pada suhu 37°C dan pH 7,0 selama 8 hari. Optimasi produksi enzim lipase dilakukan dengan memvariasikan komposisi media produksi yaitu; konsentrasi pepton dan minyak zaitun serta kecepatan pengadukan optimum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada konsentrasi pepton 1%, konsentrasi minyak zaitun 3% dan kecepatan pengadukan 150 rpm. Dari optimasi konsentrasi media produksi dan kecepatan pengadukan diperoleh bahwa ada kenaikan aktivitas enzim lipase dari 13.222 U/mL menjadi 18.888 U/mL.

Kata kunci: Enzim lipase, *Aspergillus oryzae*, kopra berjamur, media produksi.

Abstract. Production optimization of lipase enzyme from *Aspergillus oryzae* isolate on moldy copra has been conducted. Enzyme isolation is carried out after the fungi is activated and cultured on media containing peptone and olive oil at 37°C in temperature and 7,0 in pH during 8 days. Production optimization of lipase enzyme is conducted by varying composition of production media, namely: peptone concentration and olive oil and optimal stirring speed. The study results showed that activity of the highest lipase enzyme is acquired on pepton concentration of 1 %, olive oil concentration of 3 % and the stirring speed is 150 rpm. Of concentration optimization of production media and stirring speed is acquired that there is an increasing activity of the lipase enzyme from 13.222 U/mL to 18888U/mL.

Keywords: Lipase enzyme, *Aspergillus oryzae*, moldy copra, production media

*Alamat korespondensi: seniwatid@gmail.com

PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi enzim dewasa ini semakin meningkat dengan pengaplikasiannya yang semakin luas dalam proses pengolahan pangan maupun non pangan komersial karena memberikan beberapa keuntungan dibandingkan dengan pengolahan secara kimia maupun fisika. Keuntungan yang bisa diperoleh dari penggunaan enzim, diantaranya adalah kerja enzim sangat spesifik sehingga tidak memberikan reaksi samping yang tidak dikehendaki, dalam penggunaannya tidak diperlukan pH dan suhu yang ekstrim, biaya pengolahan limbah dapat diperkecil dan ramah lingkungan.

Salah satu enzim yang mendapat perhatian akhir-akhir ini adalah enzim lipase, yaitu enzim yang bekerja secara spesifik pada hidrolisis lemak dan minyak. Dewasa ini enzim lipase telah banyak diaplikasikan dalam industri, baik industri pangan maupun non pangan. Menurut Suhartono (1989), industri yang telah menggunakan lipase adalah industri deterjen, industri keju sebagai penghasil aroma, serta industri susu sebagai perombak aroma susu.

Enzim lipase dapat pula digunakan sebagai biokatalis untuk meningkatkan kualitas *crude palm oil* (CPO) yang lebih baik yaitu minyak sehat (*healthy oil*). *Healthy Econa Cooking Oil* telah diproduksi massal pada tahun 2001 oleh Kao Industries of Japan bekerjasama dengan Novozymes, Co. Bahan utama yang terkandung di dalam minyak ini adalah diasilgliserol yang dibuat secara enzimatik menggunakan minyak murni. Dalam jangka panjang minyak ini mampu mencegah peningkatan lemak tubuh, terutama lemak yang terdeposit dalam organ internal (Kao Corporation, 2004).

Produksi enzim dari mikroba sangat dipengaruhi oleh media dimana

mikroba tersebut tumbuh. Menurut Darwis dan Sukara (1990), komposisi media adalah faktor paling penting bagi pertumbuhan mikroorganisme sekaligus untuk produksi enzim. Beberapa penelitian yang memproduksi enzim lipase dari mikroba menggunakan berbagai macam media produksi, diantaranya: Shaoxin Chen *et al* (2007) menggunakan tripton, Nawani *et al* (2006) menggunakan *wheat bran* (tepung gandum) dan Abbas *et al* (2002) menggunakan pepton .

Dalam penelitian ini dicoba menggunakan campuran pepton dan minyak zaitun dalam media produksi. Menurut Macrae (1983) penambahan trigliserida seperti minyak zaitun, minyak kacang tanah, minyak biji kapas dan asam oleat pada media pertumbuhan dapat merangsang pertumbuhan *pseudomonas mephitica* dan *Geotrichum candidum* untuk memproduksi enzim lipase. Minyak zaitun berperan sebagai inducer untuk aktivitas enzim lipase, selain itu dapat pula berperan sebagai sumber karbon.

METODE PENELITIAN

Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat fungi dari *Aspergillus oryzae* yang diisolasi dari kopra berjamur. Biakannya dipelihara serta diperbanyak pada medium agar.

Media

Media agar yang digunakan adalah : pepton 0,5 %, KH_2PO_4 0,1 %, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,001 %, bacto agar 1,5 %, minyak zaitun 1 %. Komposisi media produksi (fermentasi) terdiri dari, pepton 0,5 %, KH_2PO_4 0,1 %, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,001 %, minyak zaitun 1 %.

Fermentasi

Inokulum yang telah disiapkan dimasukkan secara aseptik ke dalam media fermentasi, lalu diinkubasi selama 8 hari pada suhu 37⁰C di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm. Cairan fermentasi yang mengandung enzim lipase dipisahkan dari selnya dengan sentrifuse pada kecepatan 4000 rpm, suhu 4⁰C selama 30 menit. Filtrat enzim yang didapat diuji aktivitas.

Penentuan aktivitas enzim

Penentuan aktivitas enzim berdasarkan pada penguraian substrat oleh enzim. Aktivitas enzim lipase ditentukan dengan metode Vorderwulbecke, *et al.*, 1992. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai perubahan 1 umol substrat permenit pada kondisi optimum. Substrat yang digunakan adalah *p*-nitrofenilbutirat yang dihidrolisis oleh enzim lipase menjadi *p*-nitrofenol.

Penentuan kadar protein

Kadar protein ditentukan dengan Metode Lowry (1951), dan sebagai standar protein digunakan bovin serum albumin.

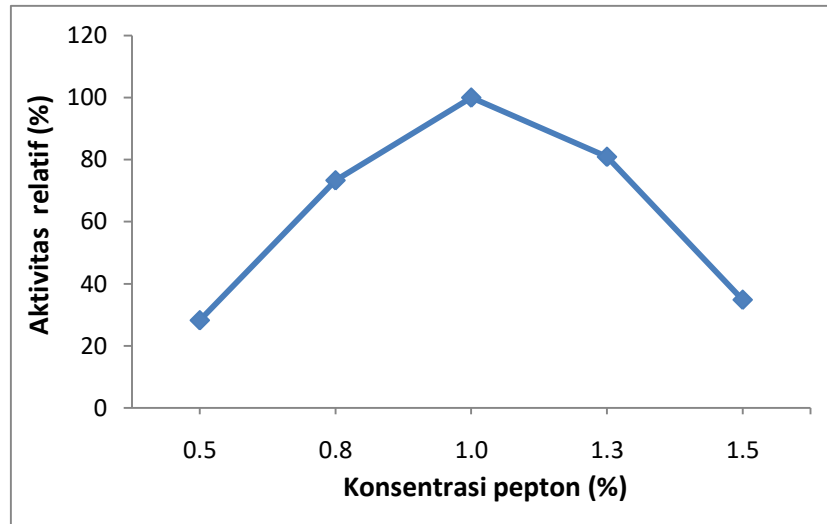
Pengaruh konsentrasi media produksi dan kecepatan pengadukan

Pada pembuatan media produksi dibuat variasi konsentrasi pepton, (yaitu: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 %). Konsentrasi pepton optimum digunakan dalam menentukan konsentrasi minyak zaitun optimum, (yaitu: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 %). Konsentrasi pepton dan minyak zaitun optimum digunakan dalam menentukan kecepatan pengadukan optimum, (yaitu: 50, 100, 150, 200 dan 250 rpm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi produksi enzim lipase Variasi konsentrasi pepton

Data yang ditampilkan pada Gambar 1 menunjukkan bahwa aktivitas enzim lipase tertinggi diperoleh pada konsentrasi pepton 1,0%, setelah itu menurun sampai pada konsentrasi 1,5%. Pepton adalah komponen pada media produksi yang berfungsi sebagai sumber nitrogen. Senyawa nitrogen merupakan senyawa pembentuk protoplasma dan dinding sel. Pepton diperlukan oleh mikroba (*Aspergillus oryzae*) untuk pertumbuhannya dalam memproduksi enzim lipase. Kelebihan nitrogen dapat pula menyebabkan pertumbuhan mikroba terganggu, sehingga produksi enzim lipase menurun.

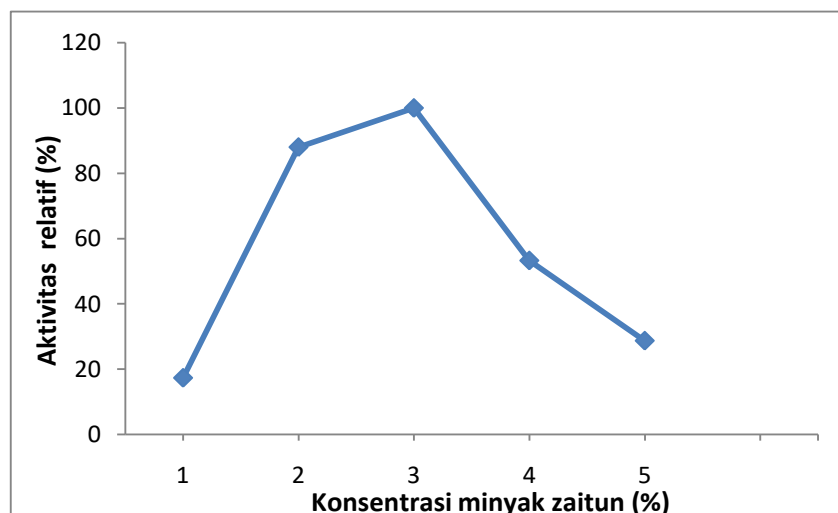


Gambar. 1. Pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas enzimlipase

Variasi konsentrasi minyak zaitun

Data yang ditampilkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa aktivitas enzim lipase tertinggi diperoleh pada konsentrasi minyak zaitun 3%, setelah itu aktivitas enzim lipase menurun. Mikroorganisme memerlukan karbon untuk pembentukan sel dan sumber energi. Komposisi nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme berbeda untuk setiap

mikroorganisme (Suhartono,1989), sehingga diperkirakan pada konsentrasi minyak zaitun diatas 3% aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus oryzae* mulai menurun. Minyak zaitun adalah komponen pada media produksi yang berfungsi sebagai sumber karbon juga sebagai inducer yaitu zat penginduksi pada sintesis enzim lipase dari *Aspergillus oryzae*.



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi minyak zaitun terhadap aktivitas enzim lipase

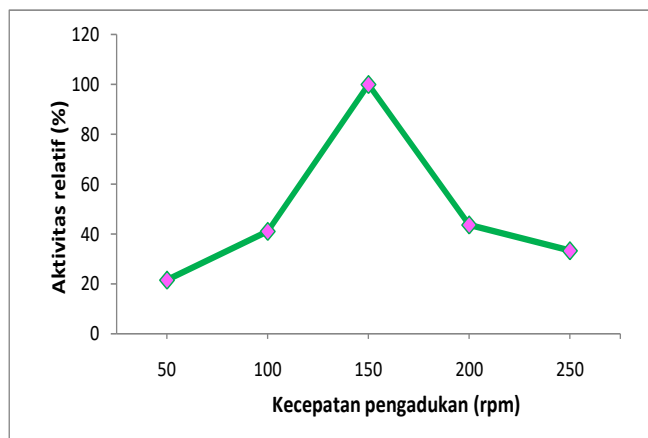
Variasi kecepatan pengadukan

Data yang ditampilkan pada Gambar 3 menunjukkan bahwa aktivitas enzim lipase tertinggi pada kecepatan pengadukan 150 rpm.

Tujuan dari proses ini adalah mendispersi udara di dalam larutan nutrient dan menyeragamkan suhu dan konsentrasi nutrisi di dalam proses fermentasi. Selama proses fermentasi

berlangsung, diperlukan pengocokan (pengadukan) terus menerus agar konsumsi oksigen selalu ada. Oksigen adalah gas yang sedikit larut dalam air, sehingga perlu ditransfer terus-menerus ke dalam media fermentasi. Penurunan oksigen terlarut menyebabkan penurunan dalam laju pertumbuhan sel-sel di dalam medium

fermentasi (Praweda, 2004). Menurut Chander *et al* (1980) aktivitas enzim lipase pada kultur yang teraduk 50% lebih tinggi dibandingkan dengan kultur yang tidak teraduk. Namun kecepatan pengadukan yang terlalu tinggi dapat pula menurunkan aktivitas enzim lipase seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh kecepatan pengadukan terhadap aktivitas enzim lipase

Optimasi produksi enzim lipase sebelum variasi komposisi media

produksi dan kecepatan pengadukan dapat dilihat pada Tabel 2, 3 dan 4.

Tabel 1. Aktivitas enzim lipase sebelum variasi komposisi media produksi dan kecepatan pengadukan (suhu 37⁰C; pH 7.0; [S]= 0.1 M; [E] = 10 %)

Volume media produksi (mL)	Komposisi media produksi (%)	Kecepatan pengadukan(rpm)	Serapan (410 nm)	Aktivitas (U/mL)
100	pepton 0,5 Minyak 1 zaitun	150	0,126	13.222

Tabel 2. Aktivitas enzim lipase setelah variasi komposisi media produksi dan kecepatan pengadukan (suhu 37⁰C; pH 7.0; [S= 0.1 M]; [E= 10 %]

Volume media produksi (mL)	Komposisi media produksi (%)	Kecepatan pengadukan(rpm)	Serapan (410 nm)	Aktivitas (U/mL)
100	pepton 1 Minyak 3 zaitun	150	0,140	14.777

Tabel 3. Aktivitas enzim lipase setelah variasi komposisi media produksi dan kecepatan pengadukan pada kondisi optimum (Suhu 35⁰C; pH 8.2; [S]= 0.2 M; dan [E]= 45 %

Volume media produksi (mL)	Komposisi media produksi (%)	Kecepatan pengadukan(rpm)	Serapan (410 nm)	Aktivitas (U/mL)
100	pepton 1 Minyak 3 zaitun	150	0,230	18.888

Dari Tabel 1, 2 dan 3 menunjukkan bahwa komposisi media produksi dan kecepatan pengadukan pada kondisi optimum dapat meningkatkan aktivitas enzim lipase dari 13.222 U/mL menjadi 18.888 U/mL .

KESIMPULAN

Produksi ekstrak kasar enzim lipase isolat *Aspergillus oryzae* dari kopra berjamur telah dilakukan. Diketahui bahwa enzim ini merupakan enzim ekstraseluler dengan suhu dan tingkat keasaman optimum berturut-turut 35⁰C dan pH 8,2. Optimasi produksi enzim lipase dengan memvariasikan konsentrasi media produksi yaitu pepton dan minyak zaitun serta kecepatan pengadukan diperoleh konsentrasi pepton optimum 1% dan konsentrasi minyak zaitun optimum 3% serta kecepatan

pengadukan 150 rpm. Dari optimasi konsentrasi media produksi dan kecepatan pengadukan diperoleh bahwa ada kenaikan aktivitas enzim lipase dari 13.222 U/mL menjadi 18.888 U/mL.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suhartono, M. T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, 172-220.
2. Kao Corporation, 2004. General Properties and cooking characteristic of diacylglycerol as an edible oil in Y. Katsuragi (ed). *Diacylglycerol oil* chapter 19-22, AOCS Press.P. 197-252
3. Darwis, A.A. dan Sukara. 1990. *Isolasi, Purifikasi, Karakterisasi enzim. Penuntun praktikum PAU Bioteknologi IPB*. Bogor
4. Shaoxin Chen, Lili Qian, and Bingzhao Shi, 2007. Purification

- and properties of enantioselective lipase from a newly isolated *Bacillus cereus* C71. *Process Biochemistry* 42 (988-944)
5. Nawani, N., Singh, R, and Kaur, J. 2006. Immobilization and Stability Studies of Lipase from Thermophilic *Bacillus* sp: The Effect of Process Parameters on Immobilization of Enzyme, *Electronic Journal of Biotechnology* 9 : 559-565
 6. Abbas, H.Abel .H, Valeric. D, and Louis .C. 2002. Isolation and characterization of an extracellular lipase from *Mucor* sp strain isolated from palm fruit. *Enzyme and Microbial Technology*, 31 , 968-975
 7. Macrae, A.R. 1983. Extracellular Microbial Lipases. In W.M. Forgatty. *Microbial Enzyme and Biotechnology*. Appl. Scie. Publ. London.
 8. Vorderwulbecke, T., K. Kieslich, and H. Erdmann (1992), Comparison of Lipases by Different Assay. *Enzyme. Microb. Technol.* 14 : 631-639.
 9. Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L., and Randal, R. J., 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent,. *Journal of Biol. Chem*, 193, 265-275.
 10. Praweda, 2004. Penerapan Teknologi Enzim, (Online),(http://free.vlsm.org/v12/sponsor/sponsor_pendamping/praweda/biologi.htm, diakses 16 september 2004)
 11. Chander, H. V. K. Batish, S.S. Sannabhadti, and A.R. Srinivasan.1980. Factors affecting lipase production in *Aspergillus Wentii*. *J. Food Sci.* 45:598-600