



PRODUKSI ENZIM LIPASE DARI *Aspergillus niger* ISOLAT KAPANG KOPRA DENGAN MENGGUNAKAN MEDIUM KELAPA PARUT

[Lipase Production from *Aspergillus niger* of Copra Mold Isolates Using Grated Coconut Medium]

Indah^{1*}, Mappiratu¹, Musafira²

¹⁾ Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako
Jl. Soekarno Hatta Km.9, Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Telp. 0451- 422611

²⁾ Universitas Sulawesi Barat
Jln. Prof. Dr. Baharuddin Lopa, SH, Talumung, Majene, Sulawesi Barat, Telp/Fax: (0422) 22559

*)Corresponding author: indaherlan09@gmail.com (hp: 082293580306)

Diterima 20 Juli 2017, Disetujui 10 Oktober 2017

ABSTRACT

The investigation about the lipase enzyme production from *Aspergillus niger* using grated coconut as a medium has been done. The aim of the study is to determine the best incubation time, pH and water content which produced lipase enzyme with high activity. Randomized Block Design (RBD) with 2 factorial pattern (incubation time and pH of the medium) was used in this research. Each factor consists of three levels and it was done in triplo. The level of incubation time and of pH were 48, 60, 72 hours and pH 5, 6, and 7, respectively. The observed parameter was the obtained lipase enzyme activity. The result showed that the highest activity was achieved at pH 7 for 48 hours of incubation time with 45% of water content. The amount of lipase enzyme activity was 1.70 $\mu\text{mol/ml.minutes}$.

Keywords: mold coconut, *Aspergillus niger*, lipase

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang produksi enzim lipase dari *Aspergillus niger* isolat kapang kopra dengan menggunakan medium kelapa parut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi terbaik, pH medium terbaik dan kadar air medium terbaik yang menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi. Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri atas 1 faktor kelompok yaitu waktu inkubasi terdiri atas 3 taraf (48 jam, 60 jam dan 72 jam) dan 2 faktor yaitu pH medium terdiri atas 3 taraf (pH 5, pH 6 dan pH 7) dan kadar air medium terdiri atas 3 taraf yaitu (25%, 35% dan 45%) yang masing-masing dilakukan secara triplo. Parameter yang diamati adalah aktivitas enzim lipase yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan waktu inkubasi terbaik adalah 48 jam, pH medium terbaik adalah pH 7 dan kadar air medium terbaik adalah kadar 45% dalam produksi enzim lipase dengan aktivitas tertinggi yang diperoleh adalah 1,70 $\mu\text{mol/ml.menit}$.

Kata Kunci : Kelapa berjamur, *Aspergillus niger*, lipase

LATAR BELAKANG

Pemanfaatan enzim dalam bidang bioteknologi dan industri semakin meningkat, oleh karena itu pengkajian enzim perlu dilakukan untuk dapat digunakan dalam bidang tersebut. Sifat enzim yang sangat spesifik dibandingkan dengan katalis anorganik menyebabkan enzim banyak digunakan dalam berbagai proses industri pangan maupun non pangan. Selain itu, lebih dari 70% industri kimia menggunakan enzim sebagai katalis. Hal tersebut dikarenakan penggunaan enzim mempunyai beberapa keuntungan, yaitu mempunyai aktivitas yang selektif, aman, mudah dikontrol, dapat didegradasi secara biologis, memiliki daya katalitik yang tinggi. Selain itu, reaksi enzimatik yang terjadi tidak menghasilkan produk samping dan enzim dapat aktif pada suhu dan pH tertentu, sehingga enzim sangat potensial untuk menggantikan katalis kimiawi dalam bidang industri (Lin *et al.*, 1998).

Enzim yang cukup banyak dikaji adalah enzim lipase. Enzim ini dibutuhkan oleh beberapa industri, karena dapat menghasilkan asam lemak yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan deterjen, pembuatan polimer dan zat pengemulsi pada industri farmasi. Gliserol selain digunakan untuk bahan peledak, banyak juga digunakan dalam bidang kosmetik dan obat-obatan (Crueger & Crueger, 1984). Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati memiliki peluang besar untuk mengembangkan

produksi enzim lipase dari mikroba lokal. Adapun produksi lipase dapat dilakukan melalui teknik fermentasi secara substrat padat dengan menggunakan mikroorganisme khususnya kapang. Kapang merupakan jenis mikroba yang memenuhi 80% kebutuhan substratnya dari makromolekul berantai karbon (Putranto *et al.*, 2006). Pemanfaatan kapang pada proses fermentasi memungkinkan terjadinya perombakan komponen bahan yang sulit dicerna menjadi lebih tersedia, sehingga dimungkinkan nilai nutrisinya juga meningkat. Kualitas produk fermentasi tergantung pada jenis mikroba serta medium padat yang digunakan. Kadar protein produk fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* lebih baik dibandingkan dengan *Rhizopus oligosporus* (Kompiang *et al.*, 1994).

Medium padat yang dapat digunakan pada penumbuhan *Aspergillus niger* ialah kelapa. Kelapa yang diolah menjadi kopra dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri pembuatan minyak nabati. Pembuatan kopra dapat dilakukan secara tradisional dalam beberapa tahapan, meliputi pengupasan tempurung kelapa, penjemuran sampai kering, dan pengasapan. Pada proses pengolahan tersebut, seringkali dijumpai kopra yang rusak atau berjamur. Sekitar 1-5% kelapa yang diolah menjadi kopra dapat berjamur, sehingga biasanya hanya menjadi limbah. Kopra yang berjamur tersebut dapat digunakan sebagai sumber mikroba

penghasil enzim, seperti lipase. Kadar air yang masih tinggi pada kopra merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba utamanya jenis kapang. Jenis kapang yang biasanya tumbuh pada kopra dan telah teridentifikasi adalah *Aspergillus niger* dan genus *Penicillium* (Dali & Pirman 2005).

Penggunaan *Aspergillus niger* sebagai sumber lipase ekstraseluler sangat potensial karena memiliki keunggulan dalam menghasilkan enzim ekstraseluler dengan aktivitas tinggi dan pemeliharaannya yang mudah. Selain itu, secara ekonomi mudah didapat dengan harga yang murah dan berkembang pada media yang relatif lebih murah.

Murni *et al.* (2011) telah melakukan penelitian tentang produksi, karakterisasi, dan isolasi lipase dari *Aspergillus niger* dengan menggunakan induser minyak goreng sawit dan melaporkan bahwa aktivitas enzim lipase tertinggi (1,5 $\mu\text{mol/ml}\cdot\text{menit}$) dicapai pada waktu 12 jam, pH 7, dan suhu 30°C.

Mengacu dari penelitian sebelumnya dan melihat banyaknya manfaat dari enzim lipase maupun *Aspergillus niger*, maka dalam penelitian ini akan dilakukan produksi enzim lipase dari *Aspergillus niger* isolat kapang kopra dengan menggunakan medium kelapa parut.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopra berjamur,

daging buah kelapa parut kering, bahan lain terdiri atas bahan medium pertumbuhan mikroba untuk isolasi dan bahan kimia untuk analisis aktivitas enzim yang terdiri atas: medium Potato Dextrosa Agar (PDA), medium Nutrien Agar (NA), kalsium klorida, asam tartrat, alkohol, aseton, minyak zaitun, natrium klorida, indikator metil merah, indikator Phenopthalien, buffer posfat (pH 5, 6 dan 7), inokulum kapang *Aspergillus niger*, minyak kelapa, aseton-etanol (1:1 v/v) dan natrium hidroksida.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian mencakup: labu ukur, corong bukhner, penangas air, buret, statif, klem, pipet, mesin kocok, neraca analitik, lemari pendingin, mikroskop, sterilisator, inkubator dan alat-alat gelas lain yang umum digunakan dalam Laboratorium Mikrobiologi Dan Laboratorium Kimia.

Prosedur Penelitian

Isolasi mikroba penghasil enzim lipase pada kopra berjamur (Mappiratu, 1997).

Kopra yang digunakan sebagai sampel adalah kopra berjamur. Isolasi kapang dilakukan menggunakan metode tuang. Kopra berjamur dihancurkan, kemudian ditimbang sebanyak 1 gram, selanjutnya disuspensikan dengan air destilata steril sebanyak 10 ml. Suspensi yang telah diperoleh diencerkan dengan pengenceran sampai 10^{-4} . Larutan hasil pengenceran masing-masing diambil 0,1 ml, kemudian dituangkan dalam agar cawan PDA yang mengandung asam

tartrat 10% dengan kandungan 3 g/100 g PDA. Medium ini adalah medium selektif untuk kapang. Medium agar cawan PDA yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Kapang yang tumbuh dipindah tumbuhkan pada medium NA yang mengandung minyak zaitun 1 %, indikator metil merah 9,93 %. Medium yang telah diinokulasi tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Koloni yang tumbuh yang mempunyai areal merah mudah disekelilingnya, dipindahkan pada agar miring PDA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Kultur yang diperoleh diidentifikasi dan digunakan sebagai kultur untuk produksi lipase.

Produksi enzim lipase (Mappiratu, 1997)

Produksi lipase dilakukan pada medium padat, yakni pada medium kelapa parut kering dengan cara sebagai berikut : 50 g kelapa parut kering dimasukkan dalam Erlenmeyer 500 ml kemudian ditambahkan larutan buffer posfat dengan pH sesuai perlakuan (pH 5, pH 6, pH 7). Penambahan buffer dilakukan sesuai perlakuan (25%, 35% dan 45%) atas dasar berat kelapa parut kering. Campuran diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan inokulum kapang *Aspergillus niger* konsentrasi 1% atas dasar berat kelapa parut kering. Campuran diinkubasi dengan inkubator bergoyang pada suhu ruang dengan waktu inkubasi sesuai perlakuan (48, 60 dan 72 jam). Lipase yang ada dalam medium diekstrak menggunakan larutan kalsium klorida 0,01

M dengan rasio 2:1. Campuran dikocok selama 1 jam diatas mesin kocok, selanjutnya disaring filtratnya ditampung sebagai larutan enzim lipase dan diuji aktivitasnya.

Penentuan aktivitas enzim (Linfield et al., 1984)

Minyak kelapa sebanyak 2 g, dimasukkan kedalam erlenmeyer bertutup 500 ml, kemudian ditambahkan 4 ml larutan buffer 0,01 M (pH 6,0), 1 ml larutan kalsium klorida 1 M dan 1 ml filtrate (larutan enzim). Campuran selanjutnya diinkubasi pada inkubator bergoyang agitasi 300 rpm pada suhu ruang selama 1 jam. Setelah waktu inkubasi tercapai segera substrat enzim diinaktifkan dengan penambahan campuran aseton-etanol (1:1 v/v) sebanyak 10 ml. Lalu campuran dibuat homogen dengan pengocokan, kemudian ditambahkan 3 tetes indikator pp dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida standar sampai campuran berwarna merah jambu. Untuk blanko dilakukan dengan cara yang sama akan tetapi setelah ditambahkan enzim langsung ditambahkan dengan campuran aseton-etanol 1:1 (v/v). Aktivitas lipase yang dinyatakan dalam satuan $\mu\text{mol FFA per ml enzim per menit}$ dihitung menggunakan persamaan :

$$\text{Aktivitas lipase} = \frac{(A-B) \times N \text{ NaOH} \times 1000}{V \times t}$$

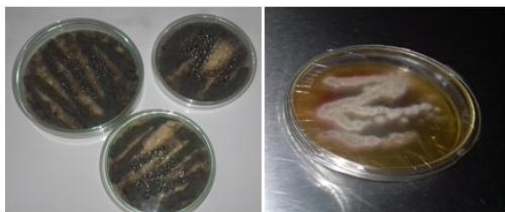
Keterangan :

A	= volume NaOH sampel (mL)
B	= volume NaOH blanko (mL)
N NaOH	= 0,05 N
1000	= nilai konversi dari mmol ke μmol
V	= volume enzim (mL)
t	= waktu inkubasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat kapang kopra *Aspergillus niger* penghasil enzim lipase

Isolasi kapang penghasil lipase yang tumbuh pada kopra dilakukan menggunakan medium Potato Dextrosa Agar (PDA) selektif kapang yang dilanjutkan dengan medium Nutrien Agar (NA) yang mengandung minyak dan indikator metil merah (medium Morinaga *et al.*, 1986). Medium nutrien agar ini merupakan medium selektif kapang penghasil lipase. Kapang yang memproduksi lipase akan menghidrolisis minyak menghasilkan warna merah muda dengan indikator metil merah sehingga kapang penghasil lipase akan menampilkan areal merah muda disekeliling koloni karena adanya indikator metil merah.



(Medium Potato Dextrosa Agar (PDA)) (Medium Nutrient Agar NA)

Gambar 1. Kapang *Aspergillus niger* dengan areal merah muda disekeliling koloni

Hasil pengamatan menunjukkan terdapat beberapa jenis kapang penghasil lipase yang tumbuh pada kopra. Hal ini ditandai dari adanya beberapa koloni yang menghasilkan areal merah muda disekeliling koloni. Kemudian dengan pemisahan lanjut untuk menghasilkan satu koloni ditemukan koloni yang berwarna hitam, hijau terang dan kuning kehijauan

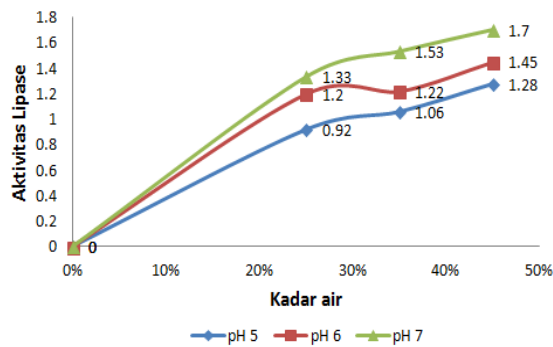
yang merupakan koloni penghasil lipase. Hal yang sama ditemukan oleh Mappiratu (1997), yang telah mengidentifikasi setiap koloni berdasarkan morfologisnya dengan menunjukkan bahwa morfologi koloni berwarna hitam merupakan morfologi kapang *Aspergillus niger*, koloni berwarna hijau terang sama dengan morfologi *Aspergillus flavus* dan koloni berwarna kuning kehijauan sama dengan morfologi kapang *Rhizopus sp.*

Aktivitas Enzim Lipase *Aspergillus niger* Isolat Kapang Kopra.

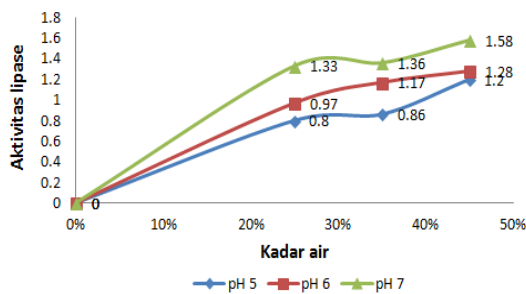
Produksi enzim lipase oleh kapang termasuk kapang *Aspergillus niger* dalam proses fermentasi dengan aktivitas enzim tertinggi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, faktor lama inkubasi, pH medium dan kadar air media (August, 2000). Hasil yang diperoleh memperlihatkan aktivitas enzim lipase yang terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1 Aktivitas enzim lipase *Aspergillus niger* isolate kapang kopra

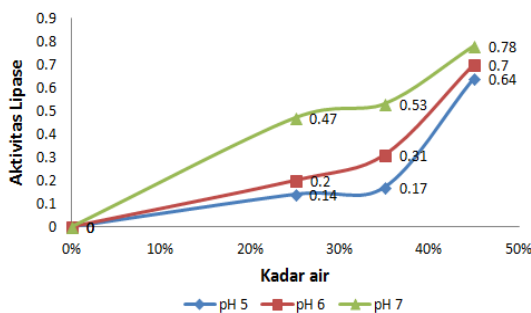
Waktu	pH	Aktivitas enzim lipase pada kadar air (µmol/ml.menit)		
		25%	35%	45%
48	5	0.92	1.06	1.28
	6	1.20	1.22	1.45
	7	1.33	1.53	1.70
60	5	0.80	0.86	1.20
	6	0.97	1.17	1.28
	7	1.33	1.36	1.58
72	5	0.14	0.17	0.64
	6	0.20	0.31	0.70
	7	0.47	0.53	0.78



Gambar 2. Pengaruh pH medium dan kadar air medium terhadap aktivitas enzim lipase pada waktu 48 jam.



Gambar 3. Pengaruh pH medium dan kadar air medium terhadap aktivitas enzim lipase pada waktu 60 jam.



Gambar 4. Pengaruh pH medium dan kadar air medium terhadap aktivitas enzim lipase pada waktu 72 jam.

Waktu inkubasi enzim lipase

Berdasarkan ketiga gambar diatas (Gambar 2, 3 dan 4) menunjukkan bahwa aktivitas enzim lipase meningkat seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi

sampai pada hari ke dua, setelah itu terjadi penurunan aktivitas enzim lipase. Hal ini disebabkan karena pada hari pertama hingga hari ke dua (48 jam) pertumbuhan mikroba memasuki fase eksponensial. Namun setelah hari ke dua jumlah mikroorganisme menurun, berarti pertumbuhan telah memasuki fasa stationer dan fasa kematian karena nutrisi di dalam medium dan energi cadangan di dalam sel sudah habis sehingga aktivitas enzim menurun dengan drastis.

Menurut Maryanty *et al.*, (2010) dalam produksi crude lipase dari *aspergillus niger* pada substrat onkok menggunakan metode fermentasi fasa padat didapatkan hasil bahwa pada jam ke-36 sampai 60 jamur mengalami pertumbuhan terus menerus. Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada waktu ke-72 sampai 108 merupakan fase stationer.

pH maksimum enzim lipase

Aktivitas enzim lipase dilakukan dengan variasi pH yaitu pH 5, 6 dan 7. Hasil pengamatan aktivitas enzim lipase maksimum yang dicapai pada pH 7 (netral). Menurut Christakopoulos (1992) dimana pada pH tinggi atau rendah memungkinkan terjadinya denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Karena enzim merupakan protein, perubahan pH akan menyebabkan ionisasi pada molekul protein berubah pula. Perubahan ini akan mengakibatkan struktur tiga dimensinya berubah sehingga

fungsi katalitiknya terganggu. Hal tersebut dapat dilihat dari grafik diatas, pada aktivitas enzim pada pH 6 masih menunjukkan aktivitas lebih rendah dibanding pada pH 7. Selain itu, terlihat pada ketiga gambar diatas, terdapat rentang pH yang dapat menyebabkan aktivitas lipase tertinggi, dan pH inilah yang dinamakan dengan pH optimum. Besarnya pH optimum yang sama, yaitu pH = 7 (netral), dilaporkan untuk lipase dari *Calvatia gigantea* (Christakopoulos, 1992). Selain itu, menurut penelitian Murni *et al.*, (2011), dimana aktivitas enzim lipase optimum dari *Aspergillus niger* berada pada pH 7 dengan aktivitas sebesar 1,5 $\mu\text{mol/ml.menit}$.

Kadar air enzim lipase

Tingkat keasaman (pH) larutan atau jumlah air pada medium sering diatur pada saat dilakukan inkubasi. Kadang-kadang jumlah air medium diatur saat dilakukan penambahan larutan asam maupun basa (bahan). Tingkat keasaman medium perlu diatur pada pH yang cocok untuk pertumbuhan mikroba karena kebanyakan mikroba hanya tumbuh pada daerah pH tertentu. Pengaturan tersebut biasanya dengan penambahan buffer yang cocok. Buffer adalah suatu larutan bahan kimia yang digunakan untuk mempertahankan pH suatu larutan. Salah satu buffer yang biasa dipakai adalah buffer fosfat. Pada penelitian ini digunakan buffer fosfat dengan berbagai kadar air yakni 25%, 35%, dan 45%.

Berdasarkan hasil yang didapatkan kadar air 45% merupakan aktivitas lipase tertinggi. Hal ini disebabkan karena kebanyakan jamur dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas yaitu pH 2-8,5 tetapi biasanya pertumbuhannya akan lebih baik pada kondisi asam atau pH netral (Srikandi.F, 1989). Selain itu kadar air dari bahan juga sangat mempengaruhi laju reaksi enzimatik, kadar air yang rendah menghambat kerja enzim atau substrat, akibatnya hidrolisis hanya terjadi pada bagian substrat yang langsung berhubungan dengan enzim.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan waktu inkubasi kapang *Aspergillus niger* pada medium kelapa parut yang menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi adalah pada waktu inkubasi 48 jam. pH medium yang menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi adalah pH 7, sedangkan kadar air medium kelapa parut yang menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi adalah kadar air 45%, dengan aktivitas tertinggi 1,70 $\mu\text{mol/ml.menit}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Secara khusus peneliti menyampaikan ucapan terima kasih kepada Laboran Jurusan Kimia dan Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKIM) FMIPA UNTAD.

DAFTAR PUSTAKA

- August, E. G. 2000. *Kajian lipase amobil dari Aspergillus niger pada pembuatan MAG yang bersifat antibakteri dari minyak kelapa.* (Tesis). Bogor: Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Christakopoulos, P., Constantina Tzia, Dimitris Kekos, Basil J. Macris. 1992. Production and characterization of extracellular lipase from *Calvatia gigantea*. *Journal Appl Microbiol Biotechnol.* 32:194-197.
- Crueger W., Crueger A. 1984. *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology.* Science Tech Inc. USA.
- Dali S., Pirman. 2005. Eksplorasi dan Isolasi Enzim Lipase dari Fungi Imperfeksi (genus *Aspergillus* dan *Penicillium indigenus*). *Laporan Penelitian.* Makassar: UNHAS.
- Kompiang, I P., J. Darma, T. Purwadaria, A. Sinurat, Supriyati. 1994. Laporan Hasil Penelitian Protein *Enrichment*. Studi Cassava *Enrichment* melalui Proses Biologi bekerjasama dengan Proyek Pengembangan Penelitian Pertanian Nasional Badan Litbang Pertanian.
- Lin, L. L., Chyau, C. C., Hsu, W. H. 1998. Production and Properties of a Raw-Starch Degrading Amylase from Thermophilic and Alkaliphilic *Bacillus* sp. TS-23. *Biotechnology and Applied Biochemistry.* 28 (4) : 61–68.
- Linfield, W.M., D.J. O'Brien, S. Serota, R.A. Barauskas. 1984. Lipid- lipase interactions. I. Fat splitting with lipase from *Candida rugosa*. *J. Am. Oil Chem Soc.* 61 (1) : 1067-1071.
- Mappiratu. 1997. *Isolasi Mikroba Penghasil Enzim Protease, Amilase dan Lipase serta Pengujian Potensi Produksinya.* (Tesis). Palu: Fakultas Pertanian Universitas Tadulako.
- Maryanty Yanty, Hesti Pristianti, Paulina Ruliawati. 2010. Produksi Crude Lipase Dari *Aspergillus niger* Pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat. *Jurnal Pengembangan Teknologi Kimia.* 4 (2) : 59-64.
- Morinaga, T, S. Kanda, R. Naomi. 1986. Lipase Production Of a New Thermophilic Fungus *Humicola lanuginosa* Var. *Catenulata.* *International Journal Ferment Technol.* 64 (5) : 451-453.
- Murni Sri Wahyu, Siti Diyar Kholisoh, Renaldo A. N., Nurul Arifin S. S. 2011. Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* dengan Induser Minyak Goreng Sawit. *Jurnal Pengembangan Teknologi Kimia.* 21 (7) : 88-94.
- Putranto, A.R., Santoso, D., Tri-Panji, Suharyanto, Budiani A. 2006. Karakterisasi Gen Penyandi Lipase dari Kapang *Rhizopus oryzae* dan *Absidia corymbifera.* *Menara Perkebunan.* 74(1):23-32.
- Srikandi F.1989. *Mikrobiologi Pangan.* Bogor: Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi.