

PENGARUH SUBSTRAT DAN ION LOGAM TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI *Aspergillus oryzae* PADA KOPRA BERJAMUR

Seniwati Dali¹, Abd. Rauf Patong¹, M. Noor Jalaluddin¹, Pirman AP²

¹Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar

²Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Makassar

ABSTRAK

Penelitian ini menggunakan isolat fungi *Aspergillus oryzae* dari kopra ber-jamur sebagai sumber enzim lipase. Isolasi enzim dilakukan setelah fungi tersebut diaktifkan dan dikultur pada masing-masing media fermentasi yang mengandung substrat olive oil, virgin oil, triolein dan palm oil pada suhu 37°C dan pH 7,0 selama 8 hari. Enzim lipase yang dihasilkan dilakukan uji aktivitas, dan dari uji aktivitas didapatkan bahwa enzim lipase dapat menghidrolisis semua substrat, dan aktivitas paling tinggi diperoleh pada substrat triolein. Uji aktivitas dilakukan dengan menam-bahkan ion-ion logam yaitu: Co^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} dan EDTA, dengan konsentrasi masing-masing 1mM dan 10 mM. Dari hasil penelitian diperoleh ion-ion Co^{2+} , Ca^{2+} dan Mg^{2+} dapat meningkatkan aktivitas enzim sebesar masing-masing Co^{2+} = 19% dan 6%, Ca^{2+} = 4% dan 8% pada konsentrasi 1mM dan 10 mM, Mg^{2+} tidak meningkatkan aktivitas enzim pada konsentrasi 1mM, tetapi pada konsentrasi 10 mM meningkatkan aktivitas enzim 11%. Ion Ni^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+} tidak meningkatkan aktivitas enzim, demikian pula dengan penambahan EDTA.

Kata kunci: Enzim lipase, *Aspergillus oryzae*, kopra berjamur, ion logam, substrat.

PENDAHULUAN

Indonesia dengan keaneka-ragaman hayatinya berpeluang besar untuk mengembangkan produksi en-zim lipase dari mikroba lokal. Eksplo-rasi mikroba lipolitik lokal telah di-lakukan, namun hingga saat ini enzim lipase komersial lokal belum terdapat di pasaran. Fungi (jamur) merupakan mikroba yang 80% kebutuhan subs-tratnya dipenuhi oleh makromolekul yang memiliki rantai karbon. Beberapa fungi penghasil enzim lipase antara lain *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* (1). Survei menunjukkan bahwa kopra dengan kadar air yang masih tinggi merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba, terutama fungi.

Alasan utama dari pemanfaat-an mikroba untuk memproduksi enzim adalah untuk dapat menghemat enzim tersebut. Sel mikroba merupakan sumber penghasil enzim yang sangat potensial, karena peningkatan produk-si enzim dapat dilakukan dengan lebih mudah, misalnya dengan cara peng-aturan kondisi lingkungan pertumbuh-annya (2).

Lipase merupakan kelompok enzim yang secara umum berfungsi dalam hidrolisis lemak, mono-, di-, dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol (3). Enzim ini juga digunakan untuk hidrolisis triasilgliserol menjadi diasilgliserol dan asam lemak bebas. Diasilgliserol ada-lah ester gliserol

digunakan sebagai bahan pengemulsi dan penstabil pro-duk makanan, kosmetika dan farma-setika (4).

Enzim lipase dapat pula di-gunakan sebagai biokatalisator 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 bekerja sama dengan Novo-zymes, Co. Bahan utama yang ter-kandung di dalam minyak ini adalah diasilgliserol yang dibuat secara enzi-matik dengan menggunakan minyak murni. Dalam jangka panjang minyak ini mampu mencegah peningkatan lemak tubuh, terutama lemak yang terdeposit dalam organ internal (5).

Penelitian ini merupakan lan-jutan dari penelitian sebelumnya, yang bertujuan memproduksi enzim lipase. Sebagai sumber enzim digunakan fungi *Aspergillus oryzae* yang diisolasi dari kopra berjamur (6). Enzim hasil isolasi tersebut selanjutnya akan di-gunakan dalam hidrolisis triasilgliserol dari minyak kelapa (diproduksi secara tradisional) menjadi emulsifier diasil-gliserol dan monoasilgliserol pada in-dustri makanan. Fokus penelitian ada-lah pengujian aktivitas enzim pada variasi substrat fermentasi dan pada penambahan ion-ion logam.

METODE PENELITIAN

Pemilihan Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat fungi dari *Aspergillus oryzae* yang di-isolasi dari kopra berjamur. Biakan dipelihara serta diperbanyak pada media 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%, olive oil 1 %. Komposisi media produksi (fermentasi) terdiri dari pep-ton 0,5 %, KH_2PO_4 0,1 %, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,001 %, olive oil 1 %, virgin oil 1% , triolein 1% dan palm oil 1%.

Fermentasi

Inokulum yang telah disiapkan dimasukkan secara aseptik ke dalam masing-masing media fermentasi yang mengandung olive oil, virgin oil, triolein dan palm oil, lalu diinkubasi selama 8 hari pada suhu 37°C pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm. Cairan fermentasi yang mengandung enzim lipase dipisahkan dari selnya dengan sentrifus pada ke-cepatan 3500 rpm, suhu 4°C selama 30 menit. Filtrat enzim yang didapat diuji aktivitasnya. Pada uji aktivitas, enzim ditambah dengan ion-ion Co^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ni^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} dan EDTA.

Penentuan Aktivitas Enzim

Penentuan aktivitas enzim berdasarkan pada penguraian substrat oleh enzim. Aktivitas enzim lipase ditentukan dengan metode Vorderwul-becke, *et al.* (7). Satu unit aktivitas enzim dihitung dari jumlah paranitro-fenol yang diperoleh dari hidrolisis paranitrofenilbutirat 0,1M. Kadar para-nitrofenol yang diperoleh dihitung dengan membandingkan pada kurva kalibrasi larutan standar paranitrofenol.

Penentuan Kadar Protein

Kadar protein ditentukan dengan Metode Lowry, dan *bovin serum albumin* digunakan sebagai protein standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Jenis Substrat Dalam Media Fermentasi

Pada umumnya enzim lipase yang dihasilkan oleh jamur (fungi) ter-dapat di luar sel seperti halnya *Aspergillus oryzae* yang diisolasi dari kopra berjamur. Fermentasi dilakukan dalam gelas erlenmeyer yang mengandung substrat yang berbeda pada setiap gelas, yaitu olive oil, virgin oil, triolein dan palm oil. Proses fermentasi berlangsung selama 8 hari pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm. Hasil

fermentasi disentrifus pada ke-cepatan 3500 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C . Supernatan yang di-peroleh masing-masing diuji aktivitas-nya. Hasil pengujian diperlihatkan pada Tabel 1.

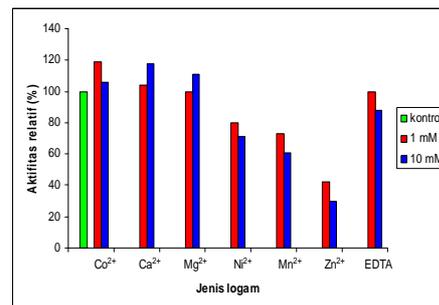
Tabel.1 Spesifisitas substrat media fermentasi terhadap aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus oryzae*

Jenis substrat	Aktivitas spesifik (%)
triolein	100
olive oil	25,8
virgin oil	14
palm oil	10

Pada tabel 1 terlihat bahwa enzim lipase dari *Aspergillus oryzae* dapat menghidrolisis semua substrat, dan aktivitas yang paling tinggi diperoleh pada substrat triolein, dengan aktivitas spesifik 100%.

Pengaruh Ion Logam

Hasil uji aktivitas enzim lipase terhadap penambahan ion-ion logam diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh ion-ion logam terhadap aktivitas enzim lipase dari jamur *Aspergillus oryzae*

Dari gambar 1 terlihat bahwa ion Co^{2+} , Ca^{2+} dan Mg^{2+} dapat meningkatkan aktivitas enzim, yaitu Co^{2+} = 19% dan 6%, Ca^{2+} = 4% dan 8% pada konsentrasi 1 mM dan 10 mM. Sedangkan Mg^{2+} tidak meningkatkan aktivitas enzim pada konsentrasi 1 mM, tetapi pada konsentrasi 10 mM meningkatkan aktivitas enzim 11%. Ion Ni^{2+} , Mn^{2+} dan Zn^{2+} tidak meningkatkan aktivitas enzim, baik pada konsentrasi 1 mM maupun 10 mM.

Menurut Palmer (8) beberapa enzim memerlukan ion-ion logam tertentu untuk meningkatkan aktivitas-nya. Pada konsentrasi tertentu, ion logam dapat bertindak sebagai aktivator dan pada konsentrasi tertentu pula dapat bertindak sebagai inhibitor. Ion logam dapat berfungsi sebagai ko-faktor bagi enzim

karena dapat berperan dalam pengikatan enzim dengan substrat untuk menstabilkan konformasi aktif enzim. Pada gambar 1 diperlihatkan pula bahwa penambahan EDTA pada konsentrasi 1 mM maupun pada konsentrasi 10 mM tidak dapat mengaktifkan enzim lipase. Hal ini kemungkinan karena EDTA mengkelat logam yang berperan penting dalam stabilitas enzim dan juga berperan sebagai kofaktor.

KESIMPULAN

Enzim lipase yang diproduksi dari *Aspergillus oryzae* dengan variasi substrat pada media fermentasi, semuanya dapat menghidrolisis substrat triolein, olive oil, virgin oil dan palm oil dan hidrolisis paling tinggi yaitu pada substrat triolein.

Penambahan ion logam pada konsentrasi tertentu dapat meningkatkan aktivitas enzim lipase dan dapat pula menurunkan aktivitas enzim lipase. Sedangkan penambahan EDTA baik pada konsentrasi 1 mM maupun 10 mM tidak meningkatkan aktivitas enzim lipase.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sharma, R., Chisti, Y., and Banerjee, U.C., Production, Purification, Characterization, and Application of Lipase. *Biotechnology Advances*, **19**, 2001, pp. 627-662.
2. Setiasih, S., Wahyuntari, B., Trismillah, dan Apriliani, D., Karakterisasi Enzim α -Amilase Ekstrasel dari Iso-lat Bakteri Termofil SW2. *Jurnal Kimia Indonesia*. Vol 1(1), 2006 hal. 22-27
3. Mingrui Yu, Shaowei Qin, Tianwei Tan. Purification and Characterization of The Extracellular Lipase Lip2 from *Yarrowia lipolytica*, *Process Biochemistry*. **42**, 2007 pp. 384-391
4. Ling-Zhi Cheong, Chin-Ping Tan, Long, K., Yusoff, M., S., A., Arifin, N., Seong-Koon Lo, and Oi-Ming Lai. Production of a Diacylglycerol-Enriched Palm Olein Using Lipase-Catalyzed Partial Hydrolysis: Optimization Using Response Surface Methodology. *Food Chemistry*, **105** 2007 pp. 1614-1622
5. Kao Corporation, General Properties and cooking characteristic of diacylglycerol as an edible oil in Y. Katsuragi (ed). *Diacylglycerol oil* chapter 19-22, AOCS Press. 2004. pp. 197-252
6. Dali, S dan Pirman. *Eksplorasi dan Isolasi Enzim Lipase dari Fungi Imperfekti* (genus

Aspergillus dan *Penicillium*) *Indigenus*. Lembaga Penelitian UNHAS, 2005.

7. Vorderwulbecke, T., K. Kieslich, and H. Erdmann, Comparison of Lipases by Different Assay. *Enzyme. Microb. Technol.* **14** 1992 pp. 631-639
8. Palmer, T., Understanding Enzymes. Ellis Harwood. Chichester, West Sussex. England. 1991.