



STUDI POTENSI LIPASE *Alcaligenes faecalis* UNTUK APLIKASI BIODETERJEN

Stuy of Lipase of *Alcaligenes faecalis* Potential for the Application of Biodetergent

Ika Rahmatul Layly*, Nita Oktavia Wiguna

Laboratorium Pengembangan Teknologi Agro dan Biomedika BPPT
Gedung LAPTIAB 611-612, Kawasan Puspiptek Setu, Tangerang Selatan, Banten

*E-mail: ika.rahmatul@bppt.go.id

Abstract

*In detergent industry, enzymes are used enormously in terms of quantity and economic value. Lipase catalyzes the hydrolysis of triglycerides into diglycerides and monoglycerides by releasing fatty acids. Lipase is produced by bacteria, fungi, and yeasts. This study aims to determine the potential of *Alcaligenes faecalis* lipase for its application as biodetergent, through stability testing of its lipase activity against detergent components by exposing the enzyme to the commercial detergents, as well as performance testing through washing. *Alcaligenes faecalis* lipase was produced using Luria Bertani (LB) culture medium supplemented with 1% olive oil inducer. Production is carried out for 24 hours, and the enzyme was harvested at the 18th hour. The harvested enzyme was tested for their stability after being exposed to commercial detergents at a concentration of 1-5%. Results showed that the exposure to the detergents decreased the enzyme activity to 22, 38, 48, 68 and 90%. Performance test showed that the olive oil impurity removal from the fabric was 29%.*

Keywords: *Alcaligenes faecalis* lipase, biodetergent, lipase activity, washing test

Abstrak

Pada industri detergen penggunaan enzim sangatlah besar baik secara jumlah maupun nilai ekonomi. Lipase mengkatalis hidrolisis trigliserida menjadi digliserida dan monogliserida dengan membebaskan asam lemak. Lipase dihasilkan oleh bakteri, jamur, dan yeast. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi lipase *Alcaligenes faecalis* untuk aplikasi biodeterjen, melalui uji stabilitas aktivitas lipase terhadap komponen deterjen dengan memaparkan terhadap deterjen komersial serta uji kinerja melalui *washing test*. Lipase *Alcaligenes faecalis* diproduksi menggunakan media Luria Bertani (LB) dengan penambahan induser minyak zaitun 1%. Produksi dilakukan selama 24 jam dengan waktu pemanenan enzim pada jam ke-18. Enzim yang sudah dipanen diuji stabilitasnya setelah dipapar dengan deterjen komersial pada konsentrasi 1-5%. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas setelah dipapar terlihat penurunan aktivitas berturut-turut sebesar 22, 38, 48, 68 dan 90%. Hasil uji kinerja menunjukkan bahwa noda minyak zaitun yang hilang dari kain sebesar 29%.

Kata kunci: Lipase *Alcaligenes faecalis*, biodeterjen, aktivitas lipase, washing test

PENDAHULUAN

Lipase (Triasil gliserol asil hidrolase EC 3.1.1.3) adalah kelompok enzim yang mengkatalisis hidrolisis rantai panjang trigliserida. Lipase merupakan enzim lipolitik yang larut dalam air dan dapat bekerja dalam emulsi minyak dalam air. Enzim ini mengkatalisis hidrolisis lemak dan minyak menjadi gliserol dan asam lemak dengan adanya air. Selama hidrolisis lipase mengambil gugus asil dari gliserida membentuk kompleks lipase-asil, kemudian gugus asil tersebut ditransfer ke gugus OH dari air (Cherif et al. 2011).

Sumber lipase bisa didapatkan dari tanaman, hewan atau mikroba. Lipase yang dipakai untuk industri didapatkan dari mikroba. Lebih dari lima puluh persennya didapatkan dari jamur dan fungi sedangkan tiga puluh persennya didapatkan dari bakteri (Amara et al. 2009).

Hingga saat ini, enzim lipase yang dikomersialkan adalah lipase ekstraseluler yang dihasilkan dari mikroba. Hal ini dikarenakan produksi enzim menggunakan mikroba memiliki beberapa keunggulan yakni mikroba dapat dikulturkan dengan cepat dalam ruang yang kecil untuk menghasilkan enzim dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat, kandungan enzim yang dihasilkan lebih mudah dikontrol dan diprediksi, komposisi media dan komponen lain dapat diatur serta biaya produksinya lebih murah jika dibandingkan dengan menggunakan sumber enzim dari tanaman atau hewan (Verma et al. 2012).

Saat ini lipase banyak digunakan untuk aplikasi dalam bidang pangan, industri berbasis agrokimia, formulasi deterjen, farmasi dan obat-obatan, bahan kimia sintetis, agrokimia, bioremediasi serta kosmetik. Aplikasi komersial utama lipase hidrolitik adalah kegunaannya untuk deterjen (Verma et al. 2012).

Dari total penjualan lipase, 32% adalah dari penjualan lipase untuk deterjen. Lipase yang digunakan untuk deterjen membutuhkan beberapa karakteristik, yakni harus termostabil dan tetap mempunyai aktivitas pada lingkungan yang basa. Diperkirakan 1.000 ton lipase ditambahkan ke 13 miliar ton deterjen yang dihasilkan setiap tahun (Sharma et al. 2001).

Karena kemampuannya dalam menghidrolisis lemak, lipase secara luas

digunakan sebagai komponen aktif untuk industri *laundry* dan deterjen rumah tangga. Lipase deterjen secara khusus dipilih karena memenuhi beberapa kriteria sebagai berikut: (1) spesifisitas substrat yang rendah yakni mampu menghidrolisis lemak dari berbagai komposisi, (2) kemampuan untuk bertahan pada kondisi pencucian yang ekstrim yakni pada pH 10-11 dan pada suhu 30-60°C, dan (3) kemampuan untuk bertahan dari kerusakan karena surfaktan dan enzim-enzim lain yang merupakan komponen penting dari deterjen enzim (Hasan et al. 2010).

Pemakaian lipase sebagai deterjen lebih menguntungkan dari segi ekonomi dan lingkungan. Normalnya noda lemak atau minyak susah dihilangkan pada kondisi suhu rendah jika dengan menggunakan deterjen konvensional. Namun dengan menggunakan lipase sebagai deterjen, noda lemak dan minyak mudah dihilangkan. Hal ini merupakan penghematan dalam pemakaian energi. Selain itu penggunaan deterjen lipase mengurangi dampak pencemaran bahan kimia terhadap lingkungan karena deterjen lipase dapat terurai secara alami di lingkungan, tidak beracun dan tidak meninggalkan residu yang berbahaya (Amara et al. 2009).

Beberapa kelompok bakteri diketahui sebagai penghasil lipase untuk aplikasi deterjen, diantaranya adalah dari genus *Achromobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* (Gupta et al. 2004). BPPTCC (BPPT Culture Collection) mempunyai koleksi bakteri *Alcaligenes faecalis*, yang berdasarkan paparan dari Gupta et al. (2004) bahwa bakteri dari genus *Alcaligenes* berpotensi sebagai penghasil lipase untuk aplikasi deterjen. Dengan demikian pada penelitian ini akan dilakukan uji potensi enzim lipase bakteri *Alcaligenes faecalis* untuk kandidat sebagai biodeterjen. Uji potensi yang dilakukan meliputi uji stabilitas terhadap komponen deterjen dan uji kinerja melalui *washing test*.

BAHAN DAN METODE

Produksi

Produksi enzim lipase dari bakteri *Alcaligenes faecalis* menggunakan metode dari Gupta et al. (2004) dengan modifikasi.

Bakteri *Alcaligenes faecalis* didapatkan dari biakan murni koleksi kultur BPPTCC. Media produksi yang digunakan adalah media Luria Bertani (LB) dengan komposisi Trypton 10g/L, Yeast Ekstrak 5g/L, NaCl 10g/L. Tahapan kerja yang dilakukan adalah sebanyak satu ose *Alcaligenes faecalis* diinokulasi pada media LB 100 mL dengan ditambahkan induser minyak zaitun sebanyak 1 mL. Produksi dilakukan di dalam flask 500 mL selama 24 jam, pada suhu 37°C dan agitasi 150 rpm, dengan waktu panen pada jam ke 18. Pada jam ke 18, media produksi diambil secara aseptis dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang merupakan enzim lipase kasar selanjutnya akan digunakan untuk pengujian aktivitas enzim, uji kestabilan terhadap komponen deterjen dan *washing test* untuk mengetahui kemampuan hidrolisis lipase terhadap minyak.

Uji aktivitas enzim

Aktivitas enzim lipase diuji dengan menggunakan metode titrasi (Chavan et al. 2012). Sebanyak 5 mL substrat (25% minyak zaitun + 1,5% Poly Vinyl Alcohol (PVA) + air) + 4 mL Buffer Phospat 0.05 M pH 7 selanjutnya ditambahkan dengan 1 mL enzim. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit pada agitasi 150 rpm. Selanjutnya ditambah 20 mL methanol dan 2 tetes indikator Phenol Phtalin (PP), dan dilakukan titrasi dengan titran NaOH 0.05 M. Satu unit enzim didefinisikan sebagai kemampuan enzim untuk membebaskan 1 μ mol *Free Fatty Acid* (Asam lemak Bebas) dalam setiap menit.

Stabilitas aktivitas enzim

Stabilitas aktivitas enzim lipase terhadap komponen deterjen dilakukan dengan cara menambahkan deterjen komersial (Rinso) dengan persentase mulai dari 0, 1, 2, 3, 4, 5% (w/v). Enzim lipase untuk kelompok perlakuan ditambah dengan deterjen pada konsentrasi 1 hingga 5%, sedangkan untuk kelompok kontrol tanpa ditambahkan dengan deterjen. Selanjutnya enzim kelompok perlakuan dan kontrol diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C (Grbavcic et al. 2011). Setelah inkubasi, dilakukan pengujian stabilitas aktivitasnya

dengan menggunakan metode titrasi (Chavan et al. 2012).

Washing test

Washing test dilakukan untuk mengetahui kemampuan hidrolisa enzim lipase terhadap lemak dari berbagai komposisi (Li et al. 2014). Adapun tahapan kerjanya adalah dengan menyiapkan kain katun berwarna putih, dipotong dengan ukuran 4 × 4 cm. Setelah kain direndam dengan kloroform selama 5 menit, selanjutnya dikering-anginkan selama semalam pada suhu ruang. Kemudian berat kain ditimbang (W_a). Minyak zaitun yang dilarutkan ke dalam aseton (100 μ l/mL) di tuangkan kepada masing-masing kain pada kedua sisinya. Setelah itu berat kain ditimbang kembali (W_b). Kain kemudian dikering-anginkan pada suhu ruang selama 15 menit, dan dilanjutkan dengan perendaman dalam 10 mL larutan enzim, dan diikuti dengan inkubasi pada suhu 37°C serta agitasi 180 rpm selama 1 jam. Akhirnya kain dikeringkan pada suhu ruang selama semalam. Setelah kering berat kain ditimbang kembali (W_c). Untuk mengetahui kemampuan hidrolisa enzim lipase, dilakukan penghitungan terhadap persentase minyak yang hilang. Penghitungan ini dilakukan dengan menggunakan rumus sbb:

$$\omega (\%) = \frac{W_b - W_c}{W_b - W_a} \times 100$$

Keterangan:

W_a : berat kain sebelum diberi minyak zaitun

W_b : berat kain setelah diberi minyak zaitun

W_c : berat akhir kain

ω : minyak yang hilang dari kain (%)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas enzim

Sebelum dipapar dengan deterjen, enzim lipase *Alcaligenes faecalis* yang sudah dipanen diuji aktivitasnya. Hasil pengujian aktivitas enzim lipase sebelum dipaparkan dengan deterjen (kelompok kontrol) adalah 5 U/mL. Setelah dipaparkan dengan deterjen (kelompok perlakuan) terjadi penurunan aktivitas. Paparan deterjen dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5% menurunkan aktivitas berturut-turut 22, 38, 48, 68 dan 90%, dengan nilai aktivitas 3,9,

Tabel 1. Aktivitas lipase pada paparan deterjen berbagai konsentrasi

Perlakuan terhadap Enzim	Aktivitas Lipase (U/mL)	Penurunan Aktivitas (%)	Aktivitas Relatif (%)
Tanpa deterjen	5	-	-
Detergen 1%	3,9	22	78
Detergen 2%	3,1	38	62
Detergen 3%	2,6	48	52
Detergen 4%	1,6	68	32
Detergen 5%	0,5	90	10

3,1, 2,6, 1,6 dan 0,6 U/mL. Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa pada paparan konsentrasi deterjen 1%, 2% dan 3% aktivitas enzim masih dapat dikatakan stabil, karena penurunannya kurang dari 50%, dengan aktivitas relatif berturut-turut 78, 62 dan 52%. Namun pada paparan deterjen 4% dan 5%, aktivitas enzim mengalami penurunan lebih dari 50% sehingga aktivitas relatif yang tersisa kurang dari 50%, yakni mengalami penurunan berturut-turut sebesar 68 dan 90% (Tabel 1).

Hasil stabilitas enzim lipase *Alcaligenes faecalis* terhadap paparan deterjen ini menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Rathi et al. (2001). Mereka

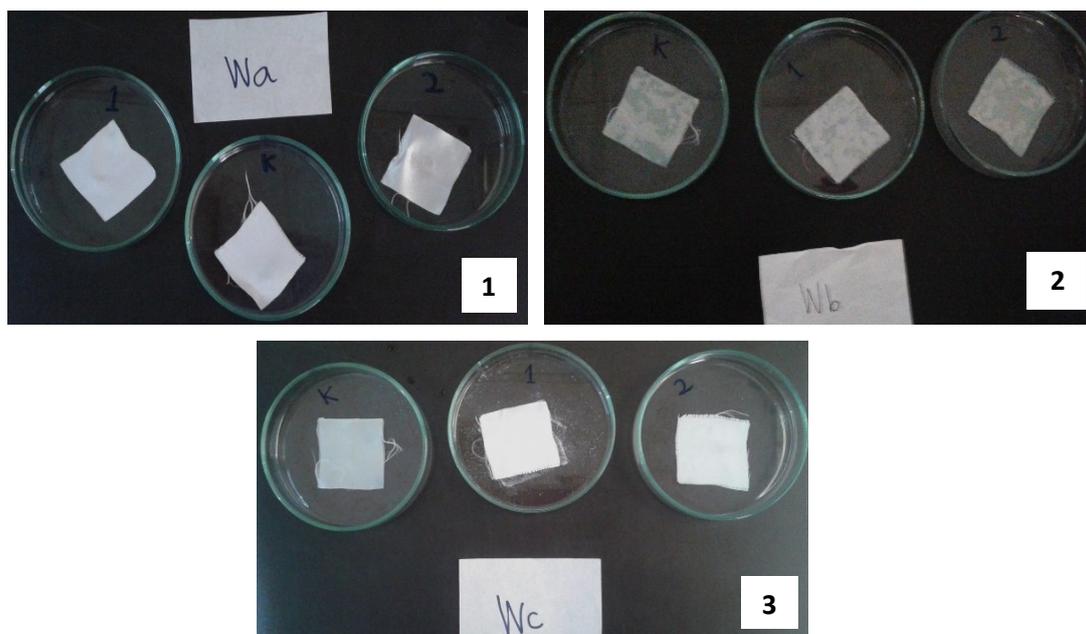
mendapatkan bahwa paparan deterjen dengan merek Ariel, Wheel, Nirma, Fena, Surf Ultra dan Rin Supreme pada konsentrasi 1% (w/v) dengan waktu inkubasi 1 jam pada suhu 30°C menyisakan aktifitas relatif enzim lipase *Bacillus cepacia* dari 57 hingga 80%.

Penelitian yang dilakukan oleh Grbavcic et al. (2011), menunjukkan bahwa hasil aktivitas relatif enzim lipase lebih dari 70% yang mampu bertahan pada paparan deterjen 1% dapat dijadikan kandidat untuk diformulasikan menjadi biodeterjen. Hal yang serupa didapatkan oleh Chauhan et al. (2013) bahwa paparan deterjen dengan konsentrasi 7mg/mL terhadap lipase *Staphylococcus sp* masih menyisakan aktivitas lebih dari 80%.

Berdasarkan hasil pengujian kestabilan aktivitas lipase terhadap paparan deterjen, dapat dikatakan bahwa lipase *Alcaligenes faecalis* mempunyai potensi dan layak dijadikan kandidat untuk aplikasi biodeterjen.

Washing test enzim lipase

Selanjutnya akan dilakukan uji kinerja enzim sebagai biodeterjen, melalui *washing test* (Gambar 1). Uji kinerja *washing test* dilakukan untuk mengetahui kemampuan hidrolisis lipase *Alcaligenes faecalis*, sehingga layak atau tidak untuk



Gambar 1. *Washing test* enzim lipase *Alcaligenes faecalis*. (Keterangan: Wa (1): berat kain sebelum diberi minyak zaitun; Wb (2): berat kain setelah diberi minyak zaitun; Wc (3): berat akhir kain)

diformulasikan lebih lanjut untuk aplikasi sebagai biodeterjen. Uji kinerja ini dilakukan berdasarkan metode Li et al. (2014).

Hasil *washing test* enzim lipase bakteri *Alcaligenes faecalis* menunjukkan bahwa persentase minyak zaitun yang hilang dari kain adalah 29%. Persentase minyak zaitun yang hilang ini lebih dari 2%, yakni lebih dari persentase minyak zaitun yang hilang pada kelompok kontrol. Terlihat adanya perbedaan yang besar antara ada tidaknya reaksi hidrolisis pada kelompok kontrol dengan perlakuan (Tabel 2)

Hasil tersebut mengindikasikan bahwa enzim lipase bakteri *Alcaligenes faecalis* menunjukkan kinerjanya dalam menghidrolisis minyak zaitun. Kinerja enzim lipase bakteri *Alcaligenes faecalis* dapat dikatakan sebanding jika dibandingkan dengan kinerja enzim lipase dari bakteri *Staphylococcus sp.* Penelitian yang dilakukan oleh Chauhan et al. (2013) menunjukkan bahwa lipase bakteri *Staphylococcus sp* mampu menghilangkan minyak zaitun dari kain katun sebesar 19 hingga 26%, dengan kondisi suhu pencucian 37°C selama 30 menit. Hal yang sama dilaporkan oleh Li et al. (2014) bahwa minyak zaitun yang hilang dari kain katun oleh reaksi hidrolisis lipase *Cryptococcus sp* pada kondisi optimumnya adalah sebesar 19,6 hingga 43,1%.

Kinerja *washing test* enzim lipase *Alcaligenes faecalis* juga dibandingkan dengan enzim lipase dari isolat lain, yang juga diuji potensinya untuk aplikasi biodeterjen, yakni lipase dari isolat *Candida parapsilopsis* dan *Bacillus subtilis Rec.* Sedangkan sebagai kontrol positif digunakan lipase komersial *Thermomyces lanuginosus.* Jika dibandingkan, hasil kinerja lipase *Alcaligenes faecalis* masih lebih rendah dari

pada kinerja lipase *Candida parapsilopsis.* Namun jika dibandingkan dengan lipase dari *Bacillus subtilis Rec,* maka kinerja lipase *Alcaligenes faecalis* dapat dikatakan lebih baik. Terlihat dari Tabel 2 bahwa persentase minyak zaitun yang hilang dari kain berturut-turut sebesar 29, 36 dan 20%. Sedangkan jika dibandingkan dengan kinerja dari kontrol positif lipase *Thermomyces* komersial, hasil kinerja lipase *alcaligenes faecalis* lebih rendah hampir setengahnya, yakni prosentase minyak zaitun yang hilang adalah 29%. Pada lipase *Thermomyces,* persentase minyak zaitun yang hilang adalah sebesar 55%.

Hasil penelitian Jurado et al. (2007) yang mendukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Chauhan et al. (2013), menyatakan bahwa persentase minyak zaitun yang hilang karena proses hidrolisis lipase bervariasi dari 26 hingga 55%. Dari hasil dan ulasan tersebut dapat dikatakan bahwa lipase *Alcaligenes faecalis* mampu berkinerja sebagai biodeterjen.

KESIMPULAN

Lipase *Alcaligenes faecalis* mempunyai kestabilan yang bagus terhadap paparan deterjen komersial (Rinso). Paparan deterjen 1% yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam masih menyisakan aktivitas relatif sebesar 78%. Uji kinerja melalui *washing test* menunjukkan perbedaan hasil yang besar antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Minyak yang hilang dari kain pada kelompok kontrol sebesar 2% sedangkan pada kelompok perlakuan sebesar 29%. Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa Lipase *Alcaligenes faecalis* berpotensi untuk diaplikasikan sebagai biodeterjen.

Tabel 2. Uji *washing test* lipase yang berasal dari sejumlah mikroba

Sumber enzim lipase	Berat Kain (g)			% ω
	Wa	Wb	Wc	
Kontrol	0,1607	0,2210	0,2198	2
<i>Alcaligenes faecalis</i>	0,1612	0,2578	0,2294	29
<i>Candida parapsilopsis</i>	0,1638	0,2564	0,2231	36
<i>Bacillus subtilis Rec</i>	0,1607	0,2132	0,2028	20
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	0,164	0,2245	0,1912	55

DAFTAR PUSTAKA

- Amara AA, Salem SR, Shabeb MSA (2009) The possibility to use bacterial protease and lipase as biode detergent. *Global J Biotechnol Biochem* 4:104-114.
- Chauhan M, Chauhan RS dan Garlapati VK (2013) Evaluation of a new lipase from *Staphylococcus* sp. for detergent additive capability. *BioMed Research International* Vol 2013. DOI: 10.1155/2013/374967.
- Chavan A, Chougale D, Lakshmikantha RY, Satwadi SPR (2012) Mutational study of bacillus species for production, purification and characterization of lipase. *Int J Pharm Chem Biol Sci* 2:545-551.
- Cherif S, Mnif S, Hadrich F, Abdelkafi S, Sayady S (2011) A newly high alkaline lipase: an ideal choice for application in detergent formulations. *Lipids Health Dis* 10:221. DOI: 10.1186/1476-511X-10-221.
- Grbavcic S, Bezbradica D, Izrael-Zivkovic L, Avramovic N, Milosavic N, Karadzic I, Knezevic-Jugovic Z (2011) Production of lipase and protease from an indigenous *Pseudomonas aeruginosa* strain and their evaluation as detergent additives: Compatibility study with detergent ingredients and washing performance. *Bioresour Technol* 102:11226-11233. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.09.076.
- Gupta R, Gupta N, Rathi P (2004) Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol* 64:763-781. DOI: 10.1007/s00253-004-1568-8.
- Hasan F, Shah AA, Javed S, Hameed A (2010) Enzymes used in detergents: Lipases. *Afr J Biotechnol* 9:4836-4844.
- Jurado E, Bravo V, Luzon G, Fernandez-Serrano M, Garcia-Roman M, Altmajer-Vaz D, Vicaria JM (2007) Hard-surface cleaning using lipases: Enzyme-surfactant interactions and washing test. *J Surfact Deterg* 10:61-70.
- Li XL, Zhang WH, Wang YD, Dai YJ, Zhang HT, Wang Y, Wang HK, Lu FP (2014) A high-detergent-performance cold-adapted lipase from *Pseudomonas stutzeri* PS59 suitable for detergent formulation. *J Mol Catal B:Enzym* 102:16-24. DOI: 10.1016/j.molcatb.2014.01.006.
- Rathi P, Saxena RK, Gupta R (2001) A novel alkaline lipase from *Burkholderia cepacia* for detergent formulation. *Process Biochem* 37:187-192. DOI: 10.1016/S0032-9592(01)00200-x.
- Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC (2001) Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances* 19:627-662.
- Verma N, Thakur S, Bhatt AK (2012) Microbial Lipases: Industrial Applications and Properties (A Review). *Int Res J Biological Sci* 1:88-92.