

Karakterisasi Substrat dan Suhu Ekstrak Kasar Lipase *Aspergillus Niger M1407*

Amelia M. Salmon, Mellissa E. S. Ledo, Merpiseldin Nitsae

Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Kristen Artha Wacana, Indonesia, email: ameliasalmon05@gmail.com

Artikel Ini Telah Diseminarkan Pada Seminar Nasional Saintek Unimor 2019

Article Info

Article history:

Received 23 Oktober 2019

Received in revised form 31 Mei 2020

Accepted 2 Juni 2020

DOI:

<https://doi.org/10.32938/slk.v3i1.1038>

Keywords:

Aspergillus niger M1407,

karakterisasi,

substrat,

Eksrak kasar lipase

Abstrak

Isolasi ekstrak kasar *Aspergillus niger* M1407 menggunakan medium tepung biji kesambi melalui *solid state fermentation* telah dilakukan sehingga perlu dilakukan karakterisasi substrat dan suhu untuk menentukan kondisi optimal reaksi enzim substrat ekstrak kasar lipase *Aspergillus niger* M1407. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil substrat dan suhu ekstrak kasar lipase *Aspergillus niger* M1407. Penelitian ini dilakukan di laboratorium (mikrobiologi dan kimia) Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Kristen Artha Wacana Kupang, pada bulan januari 2019 – maret 2019. Metode yang digunakan dalam penelitian ini terbagi menjadi empat tahapan yaitu pembuatan medium untuk isolat lipase *Aspergillus niger* M1407; pembuatan medium *Solid-State Fermentation* selama 7 hari; karakterisasi substrat menggunakan asam oleat +etanol dalam isooktan dan asam oleat + metanol dalam isooktan dan karakterisasi suhu pada variasi suhu 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C; serta pengujian Analisis aktivitas lipase menggunakan metode titrasi. Data yang di peroleh di analisis secara deskriptif kuantitatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim ekstrak kasar lipase *Aspergillus niger* M1407 lebih baik pada substrat asam oleat dalam metanol yang memiliki aktivitas 200 U/mL sedangkan karakterisasi suhu, merupakan aktivitas ekstrak kasar lipase *Aspergillus niger* M1407 memiliki suhu optimum pada suhu 40°C dengan aktivitas enzim yaitu 580 u/mL.

1. Pendahuluan

Lipase merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam bioteknologi modern, dan terkenal memiliki aktivitas yang tinggi dalam reaksi hidrolisis dalam kimia sintesis. Lipase dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi hidrolisis, esterifikasi, alkoholisis, asidolisis (Murni dkk.,2011). Salah satu enzim yang mempunyai peranan penting dalam perkembangan bioteknologi adalah lipase. Enzim lipase juga berperan dalam produksi seperti produksi pestisida, pengolahan limbah, industri makanan (pembuatan roti dan keju), biosensor, detergen, industri kulit, pembuatan kertas, dan industri oleokimia (Handayani dkk.,2007).

Aspergillus niger merupakan jenis mikroba yang memiliki keunggulan, yaitu menghasilkan enzim ekstraseluler dengan aktivitas tinggi serta mudah dalam pemeliharaannya. Selain itu, secara ekonomi mikroba tersebut harus mudah didapat dengan harga yang murah, dan mampu berkembang pada media yang biayanya relatif murah serta ketersediaannya mudah didapatkan(Murni dkk., 2011).

Sumber enzim lipase, menurut Suhendra dkk.(2004) dalam Nurosid dkk, (2008) lipase dapat dihasilkan dari tanaman, hewan, manusia, *yeast*, jamur dan bakteri. Salah satu tanaman yang diketahui menghasilkan lipase adalah biji wijen (*Sesamum indicum*). Fadiloglu dan Erkemen, (2002) dalam Nurosid dkk.(2008) mengatakan bahwa pada manusia dan hewan, lipase yang dihasilkan terdapat pada kelenjar pankreas. Kelompok *yeast* yang dapat menghasilkan lipase adalah dari *Candida rugosa*, sedangkan Mahadik dkk.(2002) dalam Nurosid dkk. (2008) menemukan bahwa kelompok jamur adalah *Aspergillus niger* dan *Penicillium aurantiogriseum*. Jospeh dkk.(2007) dalam Nurosid dkk.(2008) mengatakan bahwa kelompok bakteri, lipase dihasilkan dari genera *Bacillus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Chromobacterium*, *Serratia*, *Vibrio*, *Aeromonas*, dan *Staphylococcus*.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sele. (2014), ditemukan bahwa fungi lipolitik penghasil enzim lipase yang berhasil diisolasi dari biji kesambi adalah *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* dan *Penicilium sp.*. Dari penelitian tersebut di dapatkan fungi dengan kemampuan lipolitik terbaik, adalah *Aspergillus niger* yang telah diberikan kode M1407.

Substrat merupakan sumber nutrien utama bagi fungi. Nutrient-nutrien tersebut dapat dimanfaatkan sesudah fungsi mengekskresi enzim-enzim ekstraseluler yang dapat mengurai senyawa-senyawa kompleks dari substrat tersebut menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Gandjar dkk., 1999).

Pada suhu optimal, reaksi antara enzim dan substrat sangat efektif, sehingga pembentukan kompleks enzim substrat makin mudah dan produk yang terbentuk meningkat (Masfufatun,2011). Konsentrasi substrat berpengaruh terhadap kontak enzim-substrat, enzim-substrat memiliki spesifitas yang tinggi, apabila substrat cocok dengan enzim, maka kinerja enzim juga akan optimal (Aziz, 2012)

Setiap lipase berfungsi secara optimum pada suhu tertentu. Semakin tinggi suhu, maka semakin tinggi aktivitas lipase sampai pada suatu batas tertentu yang dapat menurunkan aktivitas. Lipase adalah protein, semakin tinggi suhu protein, inaktivasi lipase juga meningkat karena lipase akan terdenaturasi pada suhu tinggi (Winarno, 1998). Dalam penelitian Hidayat,dkk (2015) menemukan bahwa suhu optimum pada lipase *A.niger* 65I6 adalah suhu 40°C

Bahan organik dari substrat digunakan oleh *Aspergillus niger* untuk aktivitas transport molekul, pemeliharaan struktur sel dan mobilitas sel. *Aspergillus Niger* bersifat toleran terhadap aktivitas air rendah, mampu tumbuh pada substrat dengan potensial osmotik cukup tinggi dan sporulasi pada kelembaban relatif rendah (Rahman, 1989)

Enzim mempunyai kekhasan yaitu hanya bekerja pada satu reaksi saja. Suatu enzim mempunyai ukuran yang lebih besar dari pada substratnya. Oleh karena itu tidak seluruh bagian enzim dapat berhubungan dengan substrat, bagian enzim yang mengadakan hubungan dengan substrat disebut bagian aktif. (Poedjiadi, 1994).

2. Metode

A. Alat dan bahan

Cawan petri, Erlenmeyer, gelas ukur 100 mL, beaker glass, tabung reaksi berfungsi, pipet ukur, neraca analitik, mikropipet, propipet, pipet volum 10 mL, sendok, jarum ose, *autoklaf*, kamera digital, *vortex*, *hot plate*, oven, Bunsen,water bath, bungkil kesambi, *Aspergillus niger* M1407 yang diambil dari isolat biji kesambi, PDA, aquades, olive oil, NaNO₃, NaOH, Methanol, Etanol, Asam Oleat, fenolftalein, Isooktan.

B. Metode Penelitian

1. Peremajaan Isolat *Aspergillus niger* M1407

Isolat lipase *A.niger* diinokulasi pada medium PDA. Medium PDA dibuat dengan cara melarutkan 4,7 gram PDA dalam aquades 120 ml. PDA yang telah larut tersebut dipanaskan dengan *hot plate*, kemudian disterilkan dalam *autoklaf* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Medium PDA tersebut

sudah dingin, selanjutnya dilakukan inokulasi lipase *Aspergillus niger* M1407 (Ledo dkk., 2016).

2. Fermentasi Solid State Tepung Kesambi

Medium (25 gram Tepung kesambi, aquades steril sebanyak 10 mL, NaNO₃, sebanyak 0,2 gram, olive oil 1 mL) kemudian ditambahkan 5 mL *A.niger* M1407 dari seripengenceran 10⁷, kemudian homogenkan agar medium dan inokulum *A. niger* M1407, kemudian tempat medium ditutup rapat dan dibiarkan selama 7 hari (Ledo dkk., 2016).

3. Ekstraksi Lipase *Aspergillus niger* M1407 dari Medium Solid State Fermentasi

1 gram hasil fermentasi solid state, ditambahkan 5 mL buffer fosfat pH 8 : 0,1 M kemudian dishaker selama 30 menit, disaring dan disentrifuge kemudian mendapatkan super natan ekstrak kasar lipase *A.niger* M1407 (Hidayat dkk., 2015).

4. Karakterisasi Ekstrak Kasar Lipase *Aspergillus niger* M1407

a. Karakterisasi Substrat Ekstrak Kasar Lipase *A.niger* M1407

1) Substrat asam oleat etanol

0,2 mL ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407 dimasukan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 4 mL substrat (0,5 M asam oleat dan 0,5 M etanol dalam isooktan dengan perbandingan 1: 1) kemudian dishaker selama 30 menit dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (Hidayat dkk., 2015).

2) Substrat asam oleat metanol

0,2 mL ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407 dimasukan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 4 mL substrat (0,5 M asam oleat dan 0,5 M metanol dalam isooktan dengan perbandingan 1: 1) kemudian dishaker selama 30 menit, dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan (Hidayat dkk., 2015).

b. Pengaruh Suhu Ekstrak Kasar Lipase *Aspergillus niger* M1407

Ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407 sebanyak 0,2 ml dimasukan kedalam tabung reaksi kemudian diletakan pada water bath dengan variasi suhu 20, 30, 40, 50, dan 60 °C selama 30 menit dan di tambahkan substrat 0,5 M asam oleat dan 0,5 M metanol dalam isooktan dengan perbandingan 1: 1 dan kemudian didishaker selama 30 menit(masing – masing perlakuan suhu diulang sebanyak 3 kali) kemudian masing- masing diuji aktivitas lipolitik menggunakan metode titrasi (Hidayat dkk., 2015).

5. Analisis Aktivitas Lipase dengan Metode Titrasi

Larutan hasil perlakuan substrat dan variasi suhu ditambahkan 5 tetes fenolftalein 1% sebagai indikator dan dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,05 M. Titrasi dihentikan setelah campuran berubah menjadi merah muda.aktivitas lipase ditentukan dari volume NaOH 50 mM setara dengan 100 unit aktivitas lipase (Lestari dkk.,2009).

Unit aktivitas enzim dihitung dengan =

$$\frac{V \text{ NaOH sampel} - V \text{ NaOH kontrol}}{\text{bolumen enzim}} \times 100 (\text{U/mL})$$



Gambar 1 Solid State Fermentation Tepung Kesambi Dan Ekstrak Kasar Lipase *A.Niger* M1407 (a) Sebelum Inkubasi., (b) Sesudah Diinkubasi., (c) Ekstrak Kasar Lipase(Salmon, 2019).

A. Karakterisasi Substrat Ekstrak Kasar Lipase *A.niger* M1407 Menggunakan Etanol dan Metanol

Dalam penelitian ini dilakukan karakterisasi substrat dengan menggunakan substrat etanol dan metanol, karakterisasi substrat ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407, di sajikan pada tabel 3.1 dibawah ini.

Tabel 1 Karakterisasi Substrat Ekstrak Kasar Lipase *A. niger* M1407

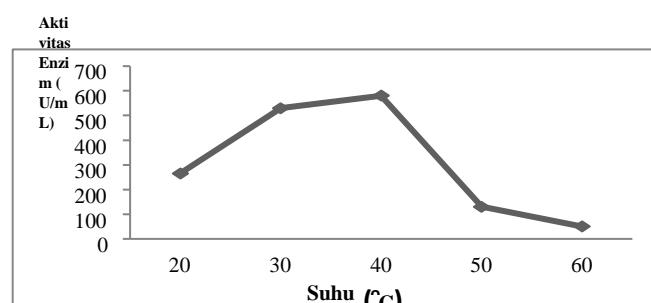
No	Substrat Satuan U/mL
1	Asam oleat + etanol dalam isooktan 50
2	Asam oleat + methanol dalam isooktan

Sumber:Salmon, 2019

Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil karakterisasi substrat ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407, asam lemak bebas yang bereaksi dengan asam oleat dalam metanol lebih tinggi yaitu dibandingkan dengan asam oleat dalam etanol. Semakin pendek rantai C pada alkohol akan lebih bereaksi dengan asam lemak tak jenuh (asam oleat) yang memiliki satu ikatan rangkap, sehingga metanol lebih mudah bereaksi dengan substrat dibandingkan dengan etanol(Gubitz dkk., 1999).

B. Karakterisasi Suhu Lipase *A. Niger* M1407

Dalam penelitian ini dilakukan variasi suhu untuk mengetahui pengaruh terhadap aktivitas lipase *A. niger* M1407 yaitu 20°C, 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Karakterisasi suhu ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Karakterisasi Suhu Terhadap Aktivitas Lipase *A. niger* M1407

Kenaikan aktivitas ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407 terjadi pada suhu 30°C dan 40°C presentase penghitungan aktivitas ekstrak kasar lipase meningkat dari suhu 20°C ke suhu 30°C sebesar 50% kemudian dari suhu 30°C ke suhu 40°C penambahan aktivitas lipase *A. niger* M1407 meningkat mencapai 8,63%,kemudian pada suhu yang ke 50°C aktifitas ekstrak kasar lipase *A. niger* M1407 menurun drastis sebesar 77,59% dan pada suhu 60°C terjadi penurunan aktivitas lipase sebesar 38,46%, aktivitas lipase menurun seiring dengan kenaikan suhu, pencapaian aktivitas lipase yang terendah berada pada suhu 60°C yang merupakan suhu tertinggi pada penelitian ini (Gambar 3.1).Hal ini dikarenakan enzim lipase mengalami kerusakan pada suhu yang lebih tinggi. Enzim merupakan protein, maka suhu tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein. Pengaruh suhu juga akan diakibatkan oleh adanya struktur tiga dimensi

C. Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif kuantitatif.

3. Hasil dan Pembahasan

A.niger merupakan mikroorganisme yang dapat tumbuh dengan cepat. Penelitian ini dimulai dari solid state fermentation tepung kesambi. Aktivitas *A.niger* M1407 maksimum pada waktu inkubasi 7 hari, kemudian di ekstraksi hasil solid state fermentation tepung kesambi tersebut menggunakan buffer fosfat pH 8. Tujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim lipase *A.niger* M1407. Proses dapat dilihat pada Gambar 1.

enzim yang sensitif terhadap suhu dan tidak menjadi stabil pada suhu yang tinggi yang tidak sesuai dengan suhu optimumnya (Murni dkk., 2011)

Tabel 2 Perbandingan Suhu Optimum Aktivitas Lipase Dari Beberapa Sumber Lipase

No	Suhu Optimum	Sumber Lipase	Media Tumbuh
1	40°C	<i>Aspergillus niger</i> M14017	Biji kesambi Salmon, 2019
2	40°C	<i>Aspergillus niger</i> 6516	Biji jarak Hidayat dkk., 2015
3	40°C	<i>Aspergillus niger</i> PAM 18A	Tanah Ramadhan dkk., 2015
4	30°C	<i>Aspergillus niger</i> G783	Bungkil kedela Jia dkk., 2015
5	30°C	<i>Aspergillus niger</i> NCIM 1207	Dedak gandum Silva dkk., 2008
6	35°C	<i>Aspergillus niger</i> MYA 135	Minyak zaitun Romero dkk., 2007
7	40°C	<i>Aspergillus niger</i> J-1	Biji gandum Gwen dkk., 2006
8	45°C	<i>Aspergillus flavus</i>	Ubi jalar Omar dan Schloder, 1996

Perbandingan suhu optimum aktivitas lipase dari beberapa sumber lipase dengan aktivitas enzim tertinggi pada *A. flavus* dengan suhu optimum 45°C dan aktivitas enzim 600 U/mL dan *A. niger* M14017 dengan suhu optimum 40°C dan aktivitas enzim 580 U/mL. Enzim sangat sensitif terhadap suhu apabila suhunya dibawah suhu optimum memran selnya kaku, dan diatas suhu optimum memran sel mengalami denaturasi.

Faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim salah satunya adalah suhu. Suhu sangat menentukan akvititas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan suhu tertentu untuk dapat aktif. Sejalan dengan meningkatnya suhu, makin meningkat pula aktivitas enzim, aktivitas enzim meningkat hingga mencapai kondisi suhu optimum.

4. Simpulan

Substrat yang lebih baik ada pada substrat asam oleat metanol memiliki aktivitas lipase 200 U/mL. Dan Aktivitas lipase *A. niger* M1407 pada karakterisasi suhu lipase *A. niger* M1407 memiliki aktivitas optimum pada suhu 40°C.

Pustaka

- Aziz, P. 2012. Enzim dan Faktor-faktor yang mempengaruhi Laju Reaksi Enzim. *Addtion material for FIK Biochemical Experiment Class*. Diakses tanggal 15 April 2012.
- Gandjar, I., Robert, A.S., Karin van den, T. V., Ariyati, O., dan Iman, S. 1999. *Mengenali Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gubitz, G.M., M. Mittelbach dan M. Trabi. 1999. Exploitation of the tropical seed plant *Jatropha curcas L.*, *Bioresource Technology*.
- Hidayat, C. Darmasiwi, S. Nurikasari, M. 2015. Characterization of *AspergillusNiger* 6516 lipase from solid-state fermentation using Jatrophaseed cake medium. *Indonesian journal of Biotechnology*. Vol. (2) pp. 108-116. Yogyakarta.
- Ledo, S.E. Melissa, Dima, R. Yemima, Nope, V.V. Jumita. 2016. Aktivitas Lipolitik *Aspergillus niger* dan *penicillium sp Indigenius* yang diisolasi dari Biji Kesambi (*schleichera oleosa*). *Prosiding seminar nasional sainstek ke-3.28-29 Oktober 2016*. UNDANA. Kupang.
- Lestari, P., Handayani, S.N. dan Oedijiono. 2009. *Sifat-sifat Biokimiawi Ekstrak Kasar Lipase Ekstraseluler Dari Bakteri Azospirillum sp. JG3*. Program Studi Kimia, Jurusan MIPA Fakultas Sains dan Teknik UNSOED, Purwokerto Fakultas Biologi UNSOED. Purwokerto.

- Masfufatun. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase. (Skripsi) Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya.
- Murni, W. Sri, Kholisoh, D. Siti, L.D. Tanti, M. E. Petrisia. 2011. Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. *Prosiding*

seminar nasional teknik kimia, pengembangan teknologi kimia untuk pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. Program Studi Kimia Fakultas Teknologi Industri. ISSN 1693-4393.

- Nurosid., Oedijiono. dan Lestari, P. 2008. *Kemampuan Azospirillum sp. JG3 Dalam Menghasilkan Lipase Pada Medium Campuran Dedak Dan Onggok Dengan Waktu Inkubasi Berbeda*. Departement of Microbiologi, Biology Faculty Jenderal Soedirman University. Purwokerto.
- Rahman, A. 1989. *Teknologi fermentasi industrial*. Bogor. Institut Pertanian Bogor. Winarno, F.G. 1989. *Enzim Pangan*. Garamedia Press. Jakarta.