

1718
995
2194

STUDI KOMPOSISI MEDIA DAN KONDISI KULTIVASI MEDIA PADAT UNTUK PRODUKSI LIPASE OLEH *Aspergillus niger*

Oleh
NUZWARDY SJAHWIL
F 27. 1198



1993

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR



Nuzwardy Sjahwil. F 27.1198. Studi komposisi media dan kondisi kultivasi media padat untuk produksi lipase oleh *Aspergillus niger*. Di bawah bimbingan Ani Suryani dan E. Gumbira-Sa'id.

RINGKASAN

Lipase (E.C 3.1.1.3) merupakan enzim yang mengkatalisa baik reaksi hidrolisis maupun esterifikasi minyak/lemak. Dewasa ini lipase telah digunakan secara luas baik pada industri pangan, obat-obatan, kedokteran, deterjen, dan bahkan pada pengolahan limbah. Lipase juga dapat diterapkan pada industri oleokimia. Industri oleokimia ini mempunyai masa depan yang cerah untuk dikembangkan di Indonesia, karena Indonesia adalah produsen minyak sawit terbesar kedua di dunia. Sampai tahun 1995, Indonesia memproduksi minyak sawit sebesar 4,731 juta ton, jumlah tertinggi setelah Malaysia yang menghasilkan 7,5 juta ton. Dengan luas areal perkebunan sawit yang terus bertambah, diperkirakan pada tahun 2010 Indonesia mampu menghasilkan 12,203 juta ton minyak sawit.

Lipase dapat dihasilkan dari hewan, tanaman dan dari mikroorganisme, dan penelitian ini mengkaji produksi lipase yang dihasilkan oleh *A. niger* yang dikultivisasikan pada media padat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh gambaran mengenai komposisi media dan kondisi kultivasi media padat bagi *Aspergillus niger* dalam memproduksi lipase. Galur yang digunakan adalah *A. niger* TC₂ 7II/6, yang diperoleh dari Balitbang Mikrobiologi LIPI, Bogor.

Kultivasi dilakukan pada dedak gandum (*wheat pollard*) dan bungkil inti sawit. Ekstraksi lipase dilakukan dengan prosedur Rivera-Munoz *et al.* (1991) dan analisis aktivitasnya dilakukan dengan prosedur Linfield *et al.* (1984) dengan modifikasi substrat hidrolisis menurut Iwai dan Tsujisaka (1984). Kadar protein lipase dianalisa dengan metoda Bradford (1976).





Lipase yang diproduksi oleh *A. niger* mempunyai aktivitas yang hampir sama, baik jika dikultivasi pada dedak gandum dengan media pemerkaya formula Rivera Munoz *et al.* (1991) ataupun dengan media basal formula Rapp dan Backhauss (1992) dengan aktivitas tertinggi masing-masing 4,98 dan 5,12 U/ml.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa kultivasi *A. niger* pada dedak gandum (*wheat pollard*) menghasilkan lipase dengan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan pada bungkil inti sawit. Pada dedak gandum *A. niger* mampu menghasilkan lipase dengan aktivitas tertinggi pada waktu kultivasi 72 jam dengan nilai sebesar 6,18 U/ml, sedangkan pada bungkil inti sawit baru dihasilkan pada jam ke-120 dengan nilai sebesar 4,64 U/ml. Kadar protein lipase yang dihasilkan oleh *A. niger* pada dedak gandum selalu lebih tinggi dari yang dihasilkan pada bungkil inti sawit, namun keduanya menunjukkan kadar protein yang cenderung terus meningkat selama waktu kultivasi. Walaupun kadar protein lipase hasil kultivasi pada media dedak gandum lebih tinggi dari bungkil inti sawit, aktivitas spesifik lipase yang dihasilkan *A. niger* tetap lebih tinggi dari bungkil inti sawit. Nilai aktivitas spesifik lipase yang dihasilkan dari kultivasi *A. niger* pada media dedak gandum dan bungkil inti sawit tersebut, masing-masing adalah 6.14 U/mg dari kultivasi 48 jam dan 5.17 U/mg dari kultivasi 96 jam.

Penambahan pepton pada media kultivasi dedak gandum meningkatkan aktivitas lipase yang dihasilkan pada awal kultivasi (sebelum jam ke-72) dan umumnya penggunaan sumber nitrogen tambahan pada media pertumbuhan, juga menyebabkan aktivitas lipase yang dihasilkan setelah jam ke-72 tidak turun secara drastis. Walaupun demikian, penambahan bahan sumber nitrogen tersebut, tidak meningkatkan aktivitas lipase tertinggi yang dapat dihasilkan oleh *A. niger*. Aktivitas tertinggi lipase *A. niger* yang dikultivasi pada media tanpa penggunaan sumber nitrogen tambahan, dengan penggunaan sumber protein tambahan dari urea 4 persen; pepton 3 persen dan susu skim 3 persen (b/v media pemerkaya) yakni : 6,18; 5,47; 6,03; dan 6,16 U/ml.



Penambahan unsur kelumit formula Rivera-Munoz *et al.* (1991), pada media kultivasi dapat meningkatkan aktivitas lipase yang dihasilkan *A. niger*, sedangkan penambahan Na-sitrat tidak meningkatkan aktivitas lipase.

Aktivitas lipase tertinggi dari *A. niger* yang dikultivasi pada media tipis (1 cm dan 2 cm) lebih lama dicapai. Pada ketebalan 1, 2, 3 dan 4 cm, aktivitas lipase tertinggi dicapai berturut-turut pada kultivasi 144, 120, 72 dan 72 jam dengan aktivitas sebesar 6,13; 6,81; 6,83; dan 6,93 U/ml. Aktivitas tertinggi lipase yang dihasilkan dari kultivasi *A. niger* pada dedak gandum tanpa aerasi tidak berbeda dengan kultivasi yang diaerasi dengan laju 0,017; 0,033; dan 0,069 l/menit/g media padat dengan aktivitas tertinggi sebesar 10; 8,4; 10,01 dan 8,86 U/ml.



**STUDI KOMPOSISI MEDIA DAN KONDISI KULTIVASI
MEDIA PADAT UNTUK PRODUKSI LIPASE**

OLEH *Aspergillus niger*

Oleh

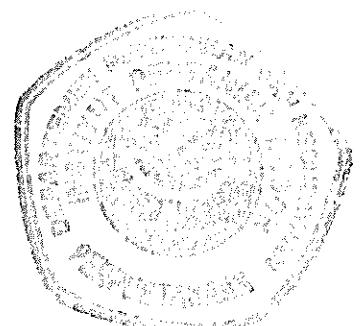
**NUZWARDY SJAHWIL
F 27.1198**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada Jurusan Teknologi Industri Pertanian,
Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor

1995

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR**





INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

STUDI KOMPOSISI MEDIA DAN KONDISI KULTIVASI
MEDIA PADAT UNTUK PRODUKSI LIPASE
OLEH *Aspergillus niger*

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada Jurusan Teknologi Industri Pertanian,
Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor

Oleh

NUZWARDY SJAHWIL

F 27.1198

Dilahirkan tanggal 8 Maret 1970

di Bandung

Tanggal Lulus : 13 Juli 1995

Disetujui



Dr. Ir. E. Gumbira-Said, MaDev

Pembimbing II

Dr. Ir. Ani Suryani, DEA

Pembimbing I



KATA PENGANTAR

Bismillahir Rahmanir Rahiim

Alhamdulillah perjalanan penelitian dan penulisan skripsi ini akhirnya dapat diselesaikan pula dengan keterlambatan yang cukup jauh dari jadwal yang direncanakan dalam usulan penelitian ini. Penelitian ini merupakan salah satu bagian dari beberapa penelitian mengenai Lipase yang dibiayai oleh Hibah Bersaing Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Aspek yang dikaji pada penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian saudara Yayat Hidayat Fatahillah pada tahun 1993, dan beberapa aspek diantaranya merupakan kajian ulang terhadap hasil penelitian saudara Yayat tersebut.

Terlaksananya penelitian ini tidak lepas dari bantuan pihak Institusi, baik yang membiayai penelitian ini maupun tempat dilaksanakannya penelitian. Secara khusus, sewajarnyalah terima kasih penulis sampaikan pada :

1. Dr.Ir. Ani Suryani, DEA., dan Dr. Ir. H. Endang Gumbira-Said, MADev., atas kesediaannya untuk membagi pengetahuan, pemikiran, atas dorongan semangatnya, atas kesabarannya untuk membimbing lebih lama dan kesabarannya terhadap penulis yang seakan tidak pernah bosan melakukan kesalahan.
2. Ibu Rini, yang selalu setia membantu dalam penyediaan logistik penelitian dan terutama atas sumbangannya pemikiran, pengalaman dan saran-saran praktisnya yang tidak mungkin di dapatkan hanya dari membaca literatur.
3. Karyawan laboratorium lainnya, tempat dilakukan penelitian ini, atas bantuan dan kemudahan yang diberikannya, sehingga penelitian ini menjadi salah satu pengalaman manis yang tak akan pernah dapat dilupakan.
4. Rekan sekerja, terutama pada Ir. Hartati Kartikaningsih, MS., Atang dan Fenny Subarkah, STP., atas sumbangsaran dan bahkan perdebatannya yang mencegah penulis dari melakukan kesalahan lebih jauh lagi.



5. Rekan-rekan senasib di laboratorium ataupun rekan-rekan TIN 27 "senasib" lainnya tempat penulis bertukar cerita dan memperoleh saran.
6. Terakhir tetapi bukan yang tidak berarti, kepada kedua orang tua, yang bersedia menunggu lebih lama demi tercapainya impian penulis pada penelitian ini, yang sayang sekali sebagian besar diantaranya, sampai akhir penelitian ini, tetap berupa mimpi-mimpi belaka.

Semoga karya ini dengan segala cacatnya, masih dapat memberikan sumbangan bagi pengetahuan, yang tidak akan pernah selesai ditulis walaupun lautan mengering karena dijadikan tintanya.

Bogor, September 1995

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman	
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
A. LATAR BELAKANG	1
B. TUJUAN	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. LIPASE	3
B. LIPASE MIKROBIAL	3
C. PENGERTIAN KULTIVASI MEDIA PADAT	7
D. DEDAK GANDUM	8
E. BUNGKIL INTI SAWIT	10
F. KEBUTUHAN NUTRISI	11
III. BAHAN DAN METODA	13
A. BAHAN DAN ALAT	13
B. METODA	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
A. PEMILIHAN MEDIA PEMERKAYA	19
B. PEMILIHAN BAHAN UNTUK MEDIA KULTIVASI	20
C. PEMILIHAN SUMBER NITROGEN TAMBAHAN	28
D. PENAMBAHAN NA-SITRAT DAN UNSUR KELUMIT	32
E. PENGARUH TINGKAT KETEBALAN MEDIA	37



F. PENGARUH LAJU AERASI	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
A. KESIMPULAN	41
B. SARAN	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	45

Hasil Cipta Diketahui Untuk Penggunaan
1. Dilarang menyebarkan pada bagian luar institusi
2. Penggunaan hanya untuk keperluan penelitian, penulisannya, penulisan tesis atau skripsi atau makalah
3. Penggunaan secara komersial (dapat berakibat sanksi hukum menurut peraturan yang berlaku)



DAFTAR TABEL

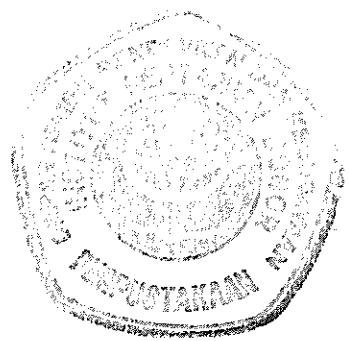
	Halaman
Tabel 1. Pemanfaatan lipase dalam industri	4
Tabel 2. Suhu dan pH optimum bagi inkubasi lipase dari beberapa mikroorganisme	5
Tabel 3. Komposisi asam amino pada sel aleuron, tepung dan lembaga gandum	10
Tabel 4. Komposisi kimia bungkil inti sawit	11
Tabel 5. Analisis komposisi kimia dedak gandum dan bungkil inti sawit	21



DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar	1. Morfologi <i>Aspergillus niger</i>	6
Gambar	2. Penampang bulir gandum	9
Gambar	3. Persiapan kultivasi	17
Gambar	4. Persiapan analisis lipase	18
Gambar	5. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan media pemerka yang berbeda	20
Gambar	6. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda	22
Gambar	7. Kurva hubungan antara nilai logaritmik penurunan bobot media padat dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda	24
Gambar	8. Kurva hubungan antara kadar protein lipase dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda	25
Gambar	9. Kurva hubungan antara aktivitas spesifik lipase dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda	26
Gambar	10. Kurva hubungan antara nilai pH lipase dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda	28
Gambar	11. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber	30
Gambar	12. Kurva hubungan antara kadar protein lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber	32
Gambar	13. Kurva hubungan antara aktivitas spesifik lipase dan waktu kultivasi pada media dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber	33
Gambar	14. Kurva hubungan antara pH lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber	34
Gambar	15. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat	35

Gambar	16.	Kurva hubungan antara pH lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat	36
Gambar	17.	Kurva hubungan antara logaritmik penurunan bobot media dan waktu kultivasi dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat	37
Gambar	18.	Kurva hubungan antara Aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan berbagai ketebalan	38
Gambar	19.	Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada berbagai laju aerasi	40





DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran	1. Komposisi media pemerka dan unsur kelumit	45
Lampiran	2. Prosedur ekstraksi enzim	46
Lampiran	3. Metoda analisis aktivitas lipase	47
Lampiran	4. Prosedur analisis proksimat	49
Lampiran	5. Rancang bangun bioreaktor kultivasi media padat	52
Lampiran	6. Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi <i>A. niger</i> pada media dedak gandum dengan media pemerka formula Rivera-Munoz <i>et al.</i> (1991) dan basal (formula Rapp dan Backhaus, 1992)	55
Lampiran	7. Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi <i>A. niger</i> pada media dedak gandum dan bungkil inti sawit	56
Lampiran	8. Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi <i>A. niger</i> pada media dedak gandum yang menggunakan media pemerka basal tanpa penambahan protein, dengan penambahan urea 4 %, pepton 3 % dan susu skim 3 % (b/v media pemerka)	57
Lampiran	9. Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi <i>A. niger</i> pada media dedak gandum yang menggunakan media pemerka basal dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat dan tanpa penambahan keduanya	59
Lampiran	10. Nilai pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi <i>A. niger</i> pada media dedak gandum dengan ketebalan 1, 2, 3 dan 4 cm	61
Lampiran	11. Nilai pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi <i>A. niger</i> pada dedak gandum dengan tanpa aerasi tambahan; 0,017; 0,033 dan 0,069 l/menit/g media padat	63



A. LATAR BELAKANG

Enzim merupakan katalisator biologis yang memiliki kemampuan katalitik luar biasa dibanding katalisator sintetik. Enzim mempunyai spesifitas yang amat tinggi pada substratnya dan mampu mempercepat reaksi kimia spesifik tanpa pembentukan produk samping. Selain itu enzim juga mampu bekerja pada kondisi yang tidak ekstrim.

Lipase (E.C 3.1.1.3) merupakan jenis enzim yang mampu melakukan katalisis baik reaksi hidrolisis maupun esterifikasi minyak/lemak. Dewasa ini lipase telah digunakan secara luas baik pada industri pangan, obat-obatan, kedokteran, deterjen, dan bahkan pada pengolahan limbah. Lipase juga dapat diterapkan pada industri oleokimia. Industri olekimia ini mempunyai masa depan yang cerah untuk dikembangkan di Indonesia, karena Indonesia adalah produsen minyak sawit terbesar kedua di dunia.

Peningkatan ekspor minyak sawit Indonesia selama lima tahun terakhir (sampai 1995) rata-rata mencapai 23 persen tiap tahunnya. Indonesia pada tahun 1994 memproduksi 4,608 juta ton minyak sawit sedangkan sampai Mei 1995 produksi minyak sawit Indonesia telah mencapai 4,731 juta ton, jumlah kedua tertinggi setelah Malaysia pada tahun yang sama mampu memproduksi 7,5 juta ton. Dengan areal perkebunan sawit di Indonesia yang terus meningkat, luas areal perkebunan kelapa sawit 1983 - 1994 meningkat sebesar lebih dari tiga kali lipat, yaitu dari 0,572 juta menjadi 1.804 juta hektar, diperkirakan pada tahun 2010 Indonesia mampu menjadi produsen utama dengan produksi sebesar 12,203 juta ton (Nogoseno, 1995).

Lipase dihasilkan dari hewan (misalnya kelenjar pankreas), tanaman dan mikroorganisme. Di antara ketiga sumber tersebut, lipase mikrobialah yang paling potensial, karena dapat dihasilkan lebih cepat, tidak membutuhkan tempat yang luas, tidak tergantung musim, dan dapat diproduksi sewaktu-waktu.

I. PENDAHULUAN

Aspergillus niger adalah mikroorganisme dari jenis kapang yang mampu menghasilkan lipase. Pada penelitian ini *A. niger* yang digunakan untuk memproduksi lipase, dikultivasikan pada media padat karena sesuai dengan tempat hidup asli kapang di alam dan mengingat beberapa kelebihan kultivasi media padat dibandingkan media cair, seperti, kultivasi pada media padat ini dapat dilakukan pada kondisi non aseptis, mediumnya relatif sederhana dan dapat dilakukan pada reaktor yang sederhana pula.

B. TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi media dan kondisi kultivasi pada media padat untuk produksi lipase oleh *Aspergillus niger*.





A. LIPASE

Enzim adalah katalis hidrokarbon, walaupun dalam jumlah yang sedikit mempunyai kemampuan unik untuk mempercepat berlangsungnya reaksi kimia, tanpa enzim tersebut terkonsumsi atau berubah setelah reaksi selesai (Pelczar dan Chan, 1986). Salah satu jenis enzim tersebut adalah lipase. Lipase bekerja menghidrolisa lemak dan minyak membebaskan asam lemak dan gliserol (Shahani, 1975). Menurut sistem IUB (*International Union of Biochemistry*), dalam *enzyme nomenclature* yang dikeluarkan tahun 1984, lipase diklasifikasikan sebagai enzim hidrolase dengan nama sistematis *triacylglycerol acylhydrolase* bermotor E.C. (*Enzyme commission*) 3.1.1.3. Dikenal juga dengan nama *triglyceride lipase* atau *tributyrase*.

Lipase pertama kali ditemukan pada tahun 1849 oleh Bernard bersama Barreswell dan Margueritte sebagai senyawa dari pankreas yang dikenali dapat memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Bernard menamainya *une matière organique* (sebuah materi organik) (Börgström dan Brockman, 1984). Saat ini penggunaan lipase telah begitu meluas. Lipase telah digunakan oleh beberapa industri seperti dijelaskan oleh Iwai dan Tsujisaka (1984) di dalam Borgstrom dan Brockman (1984) pada Tabel 1.

B. LIPASE MIKROBIAL

Lipase tersedia di alam, dalam jaringan dan cairan hewan, tanaman serta mikroorganisme (Shahani, 1975) dan menurut Weissler (1962) lipase ini dapat ditemukan sebagai sebagai enzim intra dan ekstraseluler. *Rhizopus delemar* oleh Iwai dan Tsujisaka (1984), dilaporkan dapat menghasilkan kedua jenis lipase tersebut.

Kapang yang memproduksi lipase antara lain adalah *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* dan *Geotrichum*, sedangkan jenis khamir penghasil lipase adalah



Candida dan *Torulopsis*. Bakteri yang memproduksi lipase termasuk *Pseudomonas*, *Achromobacter* dan *Staphylococcus* (Crueger dan Crueger, 1984).

Tabel 1. Pemanfaatan lipase dalam industri

Bidang industri	Kegunaan	Produk
A. Pangan		
1. Industri susu	hidrolisis lemak susu	"flavoring agent" untuk produk susu
2. Industri roti dan kue	meningkatkan aroma/kualitas, memperpanjang umur simpan	produk roti dan kue
3. Industri bir	meningkatkan aroma dan mempercepat fermentasi	produk alkohol
4. Industri bumbu	meningkatkan kualitas/tekstur	mayones, bumbu-bumbu
5. Industri pengolahan daging dan ikan	meningkatkan aroma dan mengubah lemak	produk daging dan ikan
B. Non pangan		
1. Industri kimia dan obat-obatan	transesterifikasi dari minyak alami	minyak dan lemak
2. Industri oleokimia	hidrolisis minyak dan lemak analisis asam lemak yang dikandung minyak/lemak	asam lemak bebas, diglicerida, monoglycerida dan gliserol. pereaksi analisis minyak lemak
3. Industri deterjen	menghilangkan noda minyak/-lemak	deterjen untuk cucian dan penggunaan rumah tangga
4. Industri obat-obatan	mempermudah daya cerna minyak lemak dalam pangan	digestan
5. Kedokteran	analisis trigliserida dalam darah	diagnostik
6. Industri kosmetik	mengubah lemak	kosmetik secara umum
7. Industri kulit	mengubah lemak dalam jaringan kulit hewan	produk-produk kulit
8. Penggunaan terpadu	dekomposisi dan pengubahan substansi minyak	pembersih untuk pipa, penanganan limbah cair dan limbah lainnya, penggunaannya dikombinasikan dengan enzim-enzim lain

^{a)}Iwai dan Tsujisaka (1984)

Crueger dan Crueger (1984) menyebutkan, biasanya, produksi lipase harus diinduksi oleh minyak dan lemak. Walaupun demikian keberadaan lemak kadang kala dapat tidak berpengaruh pada produksi lipase, bahkan pada *Penicillium roqueforti*, atau *Aspergillus wentii* (Chander *et al.*, 1980), dapat menjadi penghambat. Lebih jauh, Crueger dan Crueger (1984) mengemukakan beberapa contoh mikroorganisme yang memproduksi lipase seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Suhu dan pH optimum bagi inkubasi lipase dari beberapa mikroorganisme.

Mikroorganisme	pH optimum	suhu optimum (°C)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	6.2 - 6.8	37
<i>Pseudomonas fragilis</i>	7.0 - 7.2	32
<i>Rhizopus delemar</i>	5.6	35
<i>Aspergillus niger</i>	5.6	35
<i>Penicillium roqueforti</i>	8.0	37
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.5	45
<i>Geotrichum candidum</i>	8.2	37
<i>Achromobacter lipolyticum</i>	7.0	37

^{a)}Shahani, 1975 di dalam Crueger dan Crueger (1984).

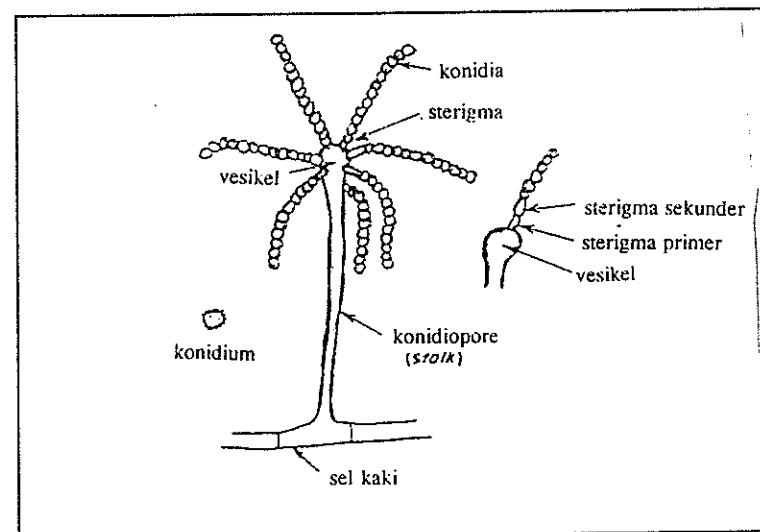
Aspergillus niger yang merupakan salah satu mikroorganisme penghasil lipase, termasuk dalam genus *Aspergillus*, famili *Moniliaceae*, ordo *Moniliales* dan kelas *Fungi imperfecti*. *Aspergillus* adalah kapang yang hifanya bersepta dan sporanya bersifat aseksual (Frazier dan Westhoff, 1983). Menurut Rappel dan Fennel (1977), *Aspergillus niger* merupakan salah satu kelompok dari genus *Aspergillus*. Kelompok *Aspergillus niger* terdiri dari beberapa spesies seperti *A. carbonarium*, *A. ficum*, dan *A. niger* itu sendiri.

Genus *Aspergillus* tersebar sangat luas. Banyak yang berperan dalam pembusukan makanan dan berguna pula dalam pembuatan beberapa bahan makanan. Kapang tersebut dapat tumbuh dengan baik pada bahan-bahan dengan konsentrasi



gula atau garam yang tinggi bahkan dalam bahan pangan dengan kadar air rendah (Frazier, 1967).

Frazier (1967) menyatakan bahwa *Aspergillus niger* mempunyai kepala pembawa spora yang besar, kompak dan bulat, dapat berwarna hitam atau ungu kecoklatan berbentuk globula dan konidianya kasar dengan beberapa segmen-segmen hifa yang berpigmen. Menurut Frazier dan Westhoff (1983) terdapat dua jenis hifa pada *Aspergillus niger*, yaitu hifa yang terletak pada bagian terendam dari substrat, berfungsi untuk menyerap zat-zat hara, sedangkan bagian yang menghadap ke permukaan berfungsi sebagai alat reproduksi. *Aspergillus niger* bersifat aerobik, sehingga dalam pertumbuhannya memerlukan oksigen dalam jumlah yang cukup. Tetapi Cooke (1979) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* termasuk kapang yang dapat hidup dan tumbuh dengan baik pada kondisi sedikit sekali oksigen, bahkan pada tempat dengan 100 persen nitrogen masih dapat tumbuh. Lebih lanjut Frazier (1967) menggambarkan bentuk *Aspergillus niger* seperti dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi *Aspergillus niger* (Frazier, 1967)



C. PENGERTIAN KULTIVASI MEDIA PADAT

Mitchel dan Lonsane (1992) menyebutkan bahwa fermentasi (kultivasi) media padat dicirikan oleh pertumbuhan mikroorganisme pada substrat tidak larut air. Moo-Young *et al.* (1980) di dalam Mitchel dan Lonsane (1992) mendefinisikan fermentasi media padat sebagai segala proses yang menggunakan substrat tak larut untuk pertumbuhan mikroorganisme tanpa keberadaan air bebas. Istilah kultivasi media padat adalah padanan dari kata fermentasi media padat. Berdasarkan pendapat Stanier *et al.* (1982) yang menyebutkan bahwa kata fermentasi berarti kehidupan tanpa udara, dan menurut Gumbira-Said (1992) kultivasi media padat umumnya dilakukan pada keadaan aerobik, maka istilah kultivasi media padat adalah lebih tepat untuk menggantikan fermentasi media padat.

Menurut Hesseltine (1977), Cannel dan Moo-Young (1980) dan Mudgett (1986) di dalam Mitchell dan Lonsane (1992), kultivasi media padat (KMP) mempunyai keuntungan sebagai berikut :

1. Kebutuhan air yang relatif lebih sedikit, sehingga dapat membatasi kontaminasi terutama oleh bakteri dan khamir walaupun kontaminasi oleh kapang jenis lain masih menjadi masalah;
2. Tingkat konsentrasi substrat tinggi sehingga ukuran bioreaktor relatif lebih kecil dibandingkan media cair untuk jumlah substrat yang sama;
3. Media relatif sederhana, yang terdiri dari produk pertanian yang belum diolah dan mungkin mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme;
4. Aerasi lebih mudah dilakukan karena ruang interpartikel mengijinkan perpindahan udara segar ke lapisan tipis air pada permukaan substrat;
5. Inokulum spora dapat digunakan lebih sering jika menggunakan kapang sehingga menghindari penggunaan tangki pembibitan yang besar;
6. Proses hilir lebih mudah dan limbahnya dapat diminimisasi.



Namun demikian, seperti yang disarikan oleh Gumbira-Said (1992) terdapat beberapa kelemahan KMP antara lain :

1. Mikroorganisme yang dapat digunakan sedikit, khususnya hanya yang dapat tumbuh pada kelembaban yang rendah. Mikroorganisme tersebut antara lain kapang, beberapa khamir dan *Streptomyces*;
2. Memerlukan banyak spora untuk inokulasi, sehingga membutuhkan banyak air dan dapat menyebabkan kontaminasi dan produksi mikotoksin;
3. Permasalahan penggandaan skala terjadi akibat pembatasan panas dan transfer massa serta proses kontrol;
4. Kontrol proses berkenaan dengan pH, kelembaban, aktivitas air, pasokan oksigen, kadar CO₂ dan sebagainya lebih sulit, selain itu variabel-variabel proses sulit diukur.

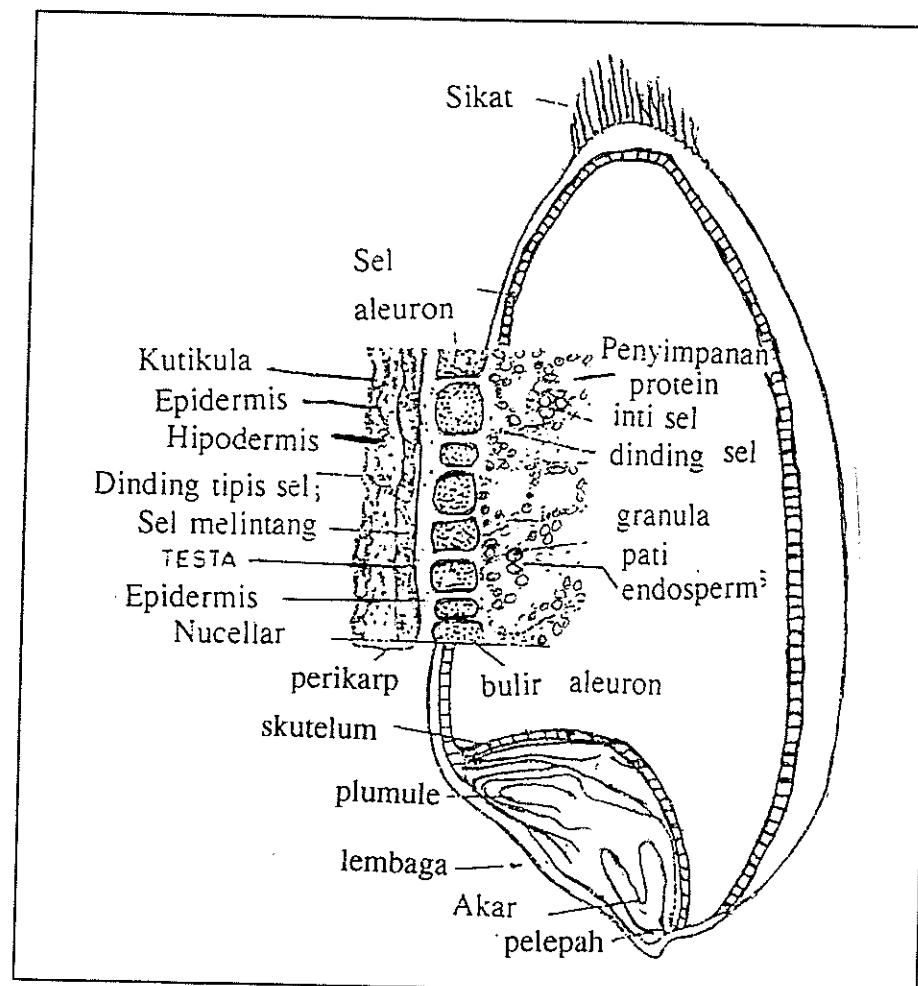
D. DEDAK GANDUM

Dedak menurut Wojowasito dan Poerwadarminta (1982) dapat diterjemahkan ke dalam bahasa Inggris menjadi *bran* dan *pollard*. *Pollard* menurut Leonard dan Martin (1963) adalah produk samping dari hasil pengolahan gandum yang merupakan campuran dari beberapa produk samping seperti dedak (*bran*), lembaga (*germ*) dan sedikit tepung kasar (*middlings*). Produk samping yang digunakan dalam penelitian ini adalah *pollard*, sehingga yang dimaksud dengan dedak di sini (jika tanpa keterangan) adalah *pollard*.

Penggilingan gandum modern dapat memisahkan antara lembaga atau *germ*, dedak (*bran*) atau *pericarp-aleurone* dan tepung atau *endosperm*. Dedak gandum (*bran*) adalah lapisan *pericarp-aleurone*. Letak lapisan ini pada bulir gandum dapat dilihat pada Gambar 2 (Simon dan Orth, 1973). Kebanyakan protein yang terdapat dalam dedak gandum (*bran*) berasal dari lapisan *aleurone*, karena protein yang berasal dari bagian lain dedak (*bran*), yaitu *pericarp*, telah terpakai sejak pertumbuhan bulir (Simon dan Orth, 1973).



Shetler *et al.* (1947) di dalam Simon dan Orth (1973), menyatakan bahwa protein yang terdapat pada lapisan *hyalin-aleurone* merupakan 90 persen dari seluruh protein pada dedak (*bran*) dan 20 persen dari protein yang terdapat pada seluruh bulir gandum. Sedangkan kadar protein yang dikandung bagian lain dedak seperti epidermis, lapisan melintang (*cross layer*) dan *testa* berturut-turut hanya berkisar 1,2; 0,6; dan 0,7 persen. Walaupun kadar protein pada *aleurone* dapat mencapai 20 persen dari bobot kering gandum, namun protein tersebut sulit digunakan karena dinding sel yang melindunginya cukup tebal dan sulit dicerna. Komposisi asam amino yang terdapat pada sel *aleurone*, tepung dan lembaga (*germ*) dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Penampang bulir gandum (Simmond dan Orth, 1973)



Tabel 3. Komposisi asam amino pada sel aleuron, tepung dan germ gandum (g N/100 g N total)^{a)}

Asam amino	Dalam Tepung	Dalam keseluruhan germ	Dalam sel aleuron
Asam aspartat	3.81	10.21	4.80
Treonin	2.31	4.82	2.10
Serin	4.43	4.62	3.40
Asam glutamat	37.19	15.45	8.90
Prolin	11.55	4.37	2.70
Alanin	2.87	7.00	4.60
Valin	3.99	5.65	3.70
Metionin	1.45	1.88	0.80
Isoleusin	3.80	3.91	1.90
Leusin	6.64	6.79	3.65
Tirosin	2.15	3.12	1.30
Fenilalanin	5.16	4.07	1.95
Lisin	1.78	7.76	5.00
Histidin	1.82	2.65	6.10
Arginin	3.23	8.86	21.10
Sistin	1.44	.66	1.20

^{a)} Stevens *et al.* (1963) dan Simmonds (1962)

E. BUNGKIL INTI SAWIT

Bungkil inti sawit mempunyai warna putih keabuan. Partikel yang lebih gelap merupakan fragmen testa dari *kernel* (inti). Berdasarkan proses ekstraksinya, ada dua tipe bungkil, yaitu bungkil hasil ekstraksi dengan pengempaan dan dengan menggunakan cairan pengekstrak (solvent) (Arnoit, 1966).

Bungkil inti sawit hampir tidak mempunyai aroma. Kandungan minyak pada bungkil inti sawit berkisar antara 6 - 9 persen. Sebagaimana minyak, bungkil, terutama yang dihasilkan dari proses pengempaan, mutunya juga tidak dapat

bertahan lama, sehingga menjadi tengik. Komposisi kimia bungkil inti sawit disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Komposisi kimia bungkil inti sawit

Komponen	Kandungan (%)	
	A	B
Karbohidrat	48	53
Lemak	5	8
Protein	19	15
Serat kasar	13	10
Abu	4	3
Air	11	11

A : Hartley (1967)
B : Arnoit (1966)

F. KEBUTUHAN NUTRISI

Untuk pertumbuhannya, organisme harus mengambil semua zat dari lingkungannya yang diperlukan untuk sintesis bahan sel dan sebagai energi. Zat-zat ini disebut zat gizi. Suatu medium biakan harus mengandung semua zat gizi yang perlu dalam jumlah yang sesuai dengan persyaratan khusus yang telah ditetapkan bagi mikroorganisme (Stanier *et al.* 1982).

Susunan kimiawi sel-sel mahluk hidup secara umum sama. Air berjumlah 80 sampai 90 persen dari bobot total sel dan sebab itu selalu merupakan zat gizi utama dalam jumlahnya. Unsur seperti karbon, nitrogen, fosfat dan belerang lebih kurang merupakan 95 persen dari bobot kering selular. Banyak unsur lain terdapat pada bagian sisa. Penyelidikan mengenai gizi menunjukkan bahwa K, Mg, Ca, Fe, Mn, Co, Cu, Mo dan Zn diperlukan oleh hampir semua mikroorganisme (Stanier *et al.*, 1982). Setiap senyawa organik yang diperlukan suatu mikroorganisme sebagai pelopor unsur pokok bahan sel organiknya, tetapi tidak dapat mensintesanya dari sumber karbon yang lebih sederhana, harus diberikan sebagai zat gizi. Zat gizi ini

dikenal sebagai faktor tumbuh yang terdiri dari asam amino, purin dan pirimidin serta vitamin. Faktor tumbuh tersebut diperlukan dalam jumlah yang kecil (Stainer *et al.*, 1982).





III. BAHAN DAN METODA

A. BAHAN DAN ALAT

1. Bahan Untuk Media Kultivasi

Bahan yang digunakan sebagai media kultivasi adalah dedak gandum (*wheat pollard*) dan bungkil inti sawit. Dedak gandum diperoleh dari PT. Bogasari Flour Mills dan bungkil inti sawit diperoleh dari Perkebunan Kelapa Sawit (PKS) Bekri - PTP X Lampung.

Bahan-bahan untuk media pemerkaya disiapkan berdasarkan komposisi media pemerkaya formula Rivera-Munoz *et al.* (1991) dan media basal formula Rapp dan Backhauss (1992) seperti terlihat pada Lampiran 1. Sebagai sumber nitrogen tambahan digunakan pepton, susu skim dan urea serta stimulan berupa Na- sitrat. Untuk media penyegaran kapang pada agar miring digunakan Potato Dextrose Agar (PDA). Sedangkan minyak kelapa sawit "Filma" sebagai digunakan sebagai substrat hidrolisis pada analisis aktivitas lipase.

2. Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *Aspergillus niger* galur TC₇ 7 II/6. Mikroorganisme tersebut merupakan hasil isolasi dari daerah Kawengan Jawa Tengah oleh Balai Penelitian dan Pengembangan Mikrobiologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor.

3. Bahan-bahan Kimia lain

Bahan-bahan untuk ekstraksi enzim, bahan-bahan untuk analisis aktivitas lipase dan bahan-bahan untuk analisis proksimat, berturut-turut dapat dilihat pada Lampiran 2, 3 dan 4.



4. Peralatan

Alat yang digunakan antara lain peralatan untuk bioreaktor (Lampiran 5), penggoyang orbital (*orbital shaker*), sentrifus berpendingin, erlenmeyer, timbangan analitik, tabung plastik, dan pengaduk magnetik.

B. METODA

1. Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan meliputi analisis proksimat bahan baku dedak gandum dan bungkil inti sawit. Analisis meliputi kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, dan kadar protein terlarut (Lampiran 4).

2. Penyiapan bioreaktor

Bioreaktor yang digunakan ada dua jenis yaitu bioreaktor baki hasil modifikasi dari model bioreaktor baki Gumbira-Said (1992) yang dapat memuat 24 bioreaktor mini berganda. Suhu dalam bioreaktor ini diatur melalui suhu udara yang dialirkan ke dalamnya. Jenis lainnya adalah bioreaktor untuk pengujian tingkat aerasi yang merupakan tiruan dari bioreaktor Sartorius yang digunakan oleh Gumbira-Said (1992). Skema kedua bioreaktor tersebut dapat dilihat pada Lampiran 5.

3. Penyiapan bahan

Dedak gandum dan bungkil inti sawit dikeringkan pada oven bersuhu 40°C selama 24 jam. Proses penyiapan dapat dilihat pada diagram alir di Gambar 3.

4. Penyiapan inokulum

Biakan mikroorganisme disegarkan pada agar miring PDA Difco steril lalu ditumbuhkan selama 5 hari. Pada saat akan digunakan tabung reaksi tempat



biakan tumbuh ditambahkan 10 ml akuades steril lalu diaduk agar sporanya terlepas kemudian suspensi spora tersebut dituangkan ke dalam wadah steril dan ditambahkan 24 ml akuades steril. Sebanyak 5 ml suspensi spora kemudian diinokulasikan ke dalam 10 g media padat yang telah disterilkan tersebut lalu dipindahkan ke dalam bioreaktor mini berganda untuk kemudian dikultivasikan selama waktu tertentu. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada diagram alir yang terdapat pada Gambar 3.

5. Penelitian utama

Percobaan pertama adalah untuk menguji aktivitas lipase dari *Aspergillus niger* yang dikultivasikan pada media dedak gandum dengan media pemerkaya yang berbeda. Fatahillah (1993) menggunakan media padat dedak gandum dan media pemerkaya formula Rivera-Munoz *et al.*, (1991) untuk produksi lipase dari *A. niger*, sedangkan Kartikaningsih (1994) menggunakan media basal (formula Rapp dan Backhauss, 1992) untuk produksi lipase *A. niger* pada media cair. Pada penelitian ini media basal yang telah dimodifikasi (tidak menggunakan pepton dan glukosa, karena pada dedak gandum telah terdapat protein dan karbohidrat) tersebut digunakan sebagai media pemerkaya untuk dibandingkan dengan media pemerkaya formula Rivera-Munoz *et al.*, (1991).

Pada percobaan kedua dilakukan penelitian memilih media bungkil inti sawit dan dedak gandum. Bungkil inti sawit berdasarkan analisis dari Arnoit (1966) dan Hartley (1967) mempunyai komposisi kimia yang hampir sama dengan dedak gandum, sehingga pada percobaan selanjutnya dicoba bungkil inti sawit sebagai pengganti dedak gandum. Media pemerkaya yang digunakan adalah media terpilih hasil dari percobaan sebelumnya.

Percobaan ketiga adalah melihat pengaruh penggunaan sumber nitogen tambahan terhadap aktivitas lipase yang dihasilkan oleh *A. niger*. Media padat dan pemerkaya yang digunakan adalah hasil percobaan sebelumnya. Sumber

nitrogen tambahan yang digunakan yakni larutan urea 4 persen, pepton 3 persen dan susu skim 3 persen (b/v media pemerkaya). Selanjutnya dengan menggunakan hasil terpilih dari percobaan di atas, dilakukan percobaan untuk melihat pengaruh penggunaan unsur kelumit dan Na-sitrat terhadap lipase yang dihasilkan oleh *A. niger*. Konsentrasi Na-sitrat yang digunakan 0,2 persen (b/v media pemerkaya) dan unsur kelumit formula Rivera-Munoz *et al.* (1991) sebanyak 0,002 persen (v/v media pemerkaya).

Selanjutnya dilakukan percobaan parameter fisik yakni pengaruh ketebalan media padat dan laju aerasi. Ketebalan yang dicobakan adalah 1, 2, 3, dan 4 cm, dengan bobot yang proporsional untuk masing-masing ketebalan. Bobot media tersebut berturut-turut adalah 3, 6, 9 dan 12 gram. Percobaan mengenai laju aerasi adalah untuk mengetahui banyaknya udara yang dibutuhkan tiap menit untuk tiap gram bobot kering media padat. Laju aerasi yang dicoba meliputi tanpa aerasi, dengan laju aerasi sebesar 0,017; 0,033; dan 0,069 l/menit/g media padat.

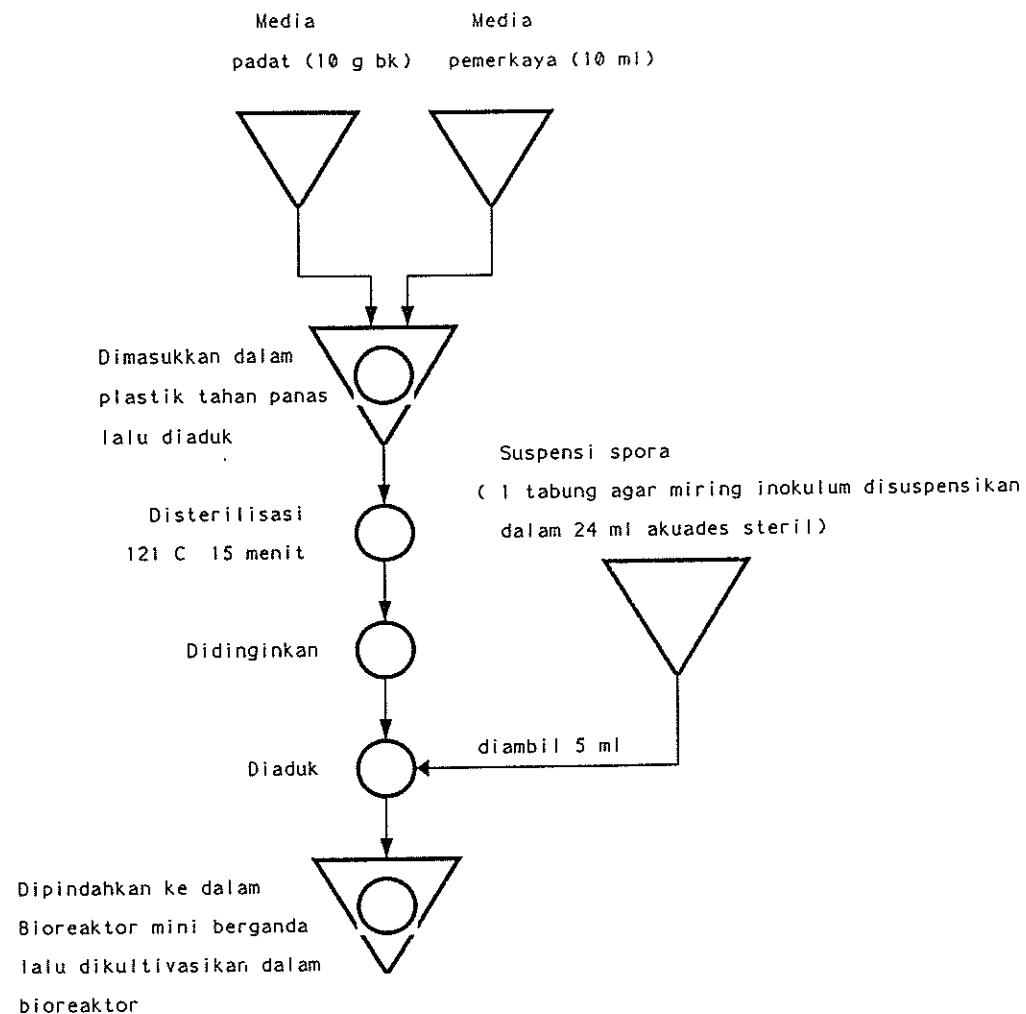
6. Analisa aktivitas dan kadar protein lipase

Pengujian aktivitas lipase dilakukan pada ekstrak lipase kasar dengan metoda Linfield *et al.* (1984) dengan modifikasi komposisi substrat hidrolisis menurut Iwai dan Tsujisaka (1984). Substrat hidrolisis adalah minyak sawit olahan merek "Filma". Prosedur analisis aktivitas lipase selengkapnya disajikan pada Lampiran 3 dan Gambar 4.

Analisis kandungan protein terlarut dilakukan pada filtrat enzim kasar menurut metoda Bradford (1976). Penyiapan pereaksi dan cara penetapan kadar protein diuraikan pada Lampiran 4.



- Hasil Cipta Diketahui Untuk Pengujian
 1. Diketahui bahwa media substrat yang dibutuhkan untuk menciptakan kultur:
 a. Pengalihan massa untuk konsentrasi pada titik awal dan akhir
 b. Pengalihan massa untuk menghitung konsentrasi pada titik awal dan akhir
 2. Diketahui menggunakan alat mesin seperti sejuk dingin agar media tetap dingin selama proses pengalihan massa



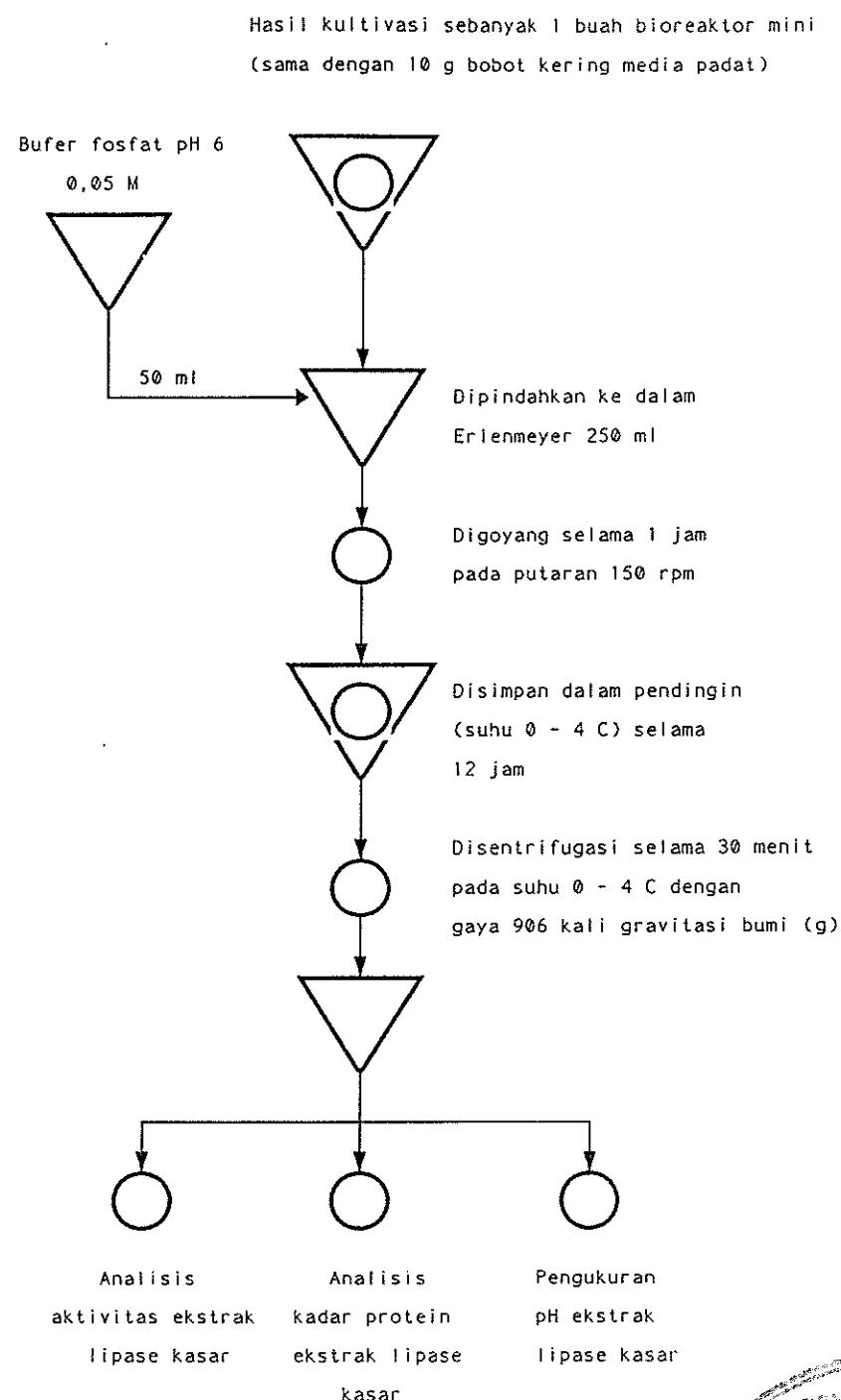
Gambar 3. Persiapan kultivasi



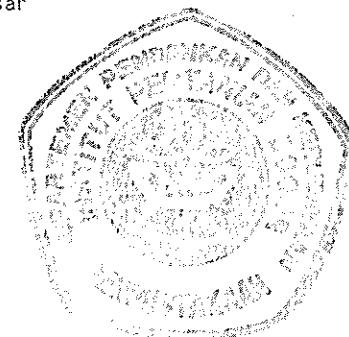
Hasil kultivasi ditumbuhkan untuk analisis
1. Dilakukan sterilisasi pada suhu 120°C selama 15 menit
2. Pengadukan menggunakan teknologi ultrasonik selama 10 menit
3. Pengadukan menggunakan teknologi ultrasonik selama 10 menit

@Hack cipta milik IPB University

IPB University



Gambar 4. Persiapan analisa lipase





IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

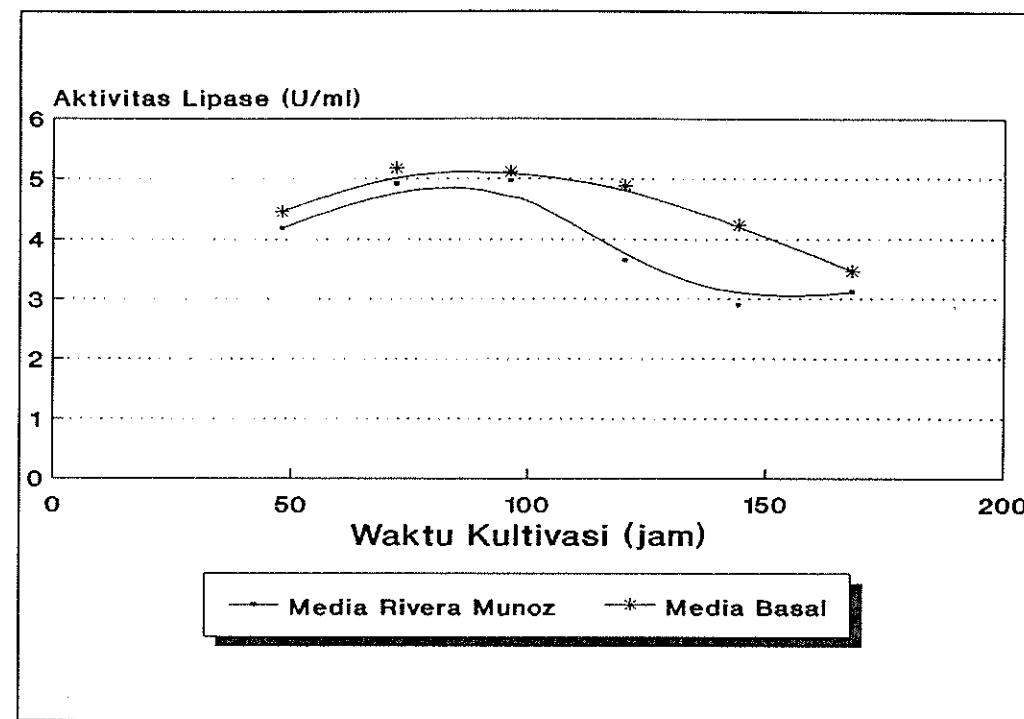
A. PEMILIHAN MEDIA PEMERKAYA

Media pemerkaya berguna untuk melengkapi nutrien yang kurang atau tidak terdapat pada media padat. Pemilihan media pemerkaya tersebut harus memperhatikan kebutuhan nutrien dari mikroorganisme yang bersangkutan dan kandungan nutrien yang terdapat pada media padat.

Hasil penelitian Fatahillah (1993), menunjukkan bahwa kultivasi kapang *A. niger* pada media dedak gandum yang ditambah dengan media pemerkaya formula Rivera-Munoz *et al.* (1991), mampu menghasilkan lipase dengan aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan media pemerkaya formula Fukumoto. Kartikaningsih (1994) menggunakan media basal formula Rapp dan Backhauss (1992) untuk produksi lipase *A. niger* pada media cair. Media basal mempunyai komposisi yang berbeda dengan mineral pada media formula Rivera-Munoz *et al.* (1991). Perbedaannya terutama terletak pada senyawa NaNO_3 dan ekstrak khamir yang hanya digunakan pada media basal dan K_2HPO_4 yang hanya digunakan pada media Rivera-Munoz *et al.* (1991). KH_2PO_4 sama-sama terdapat pada kedua media tersebut hanya dalam kuantitas yang berbeda (Lampiran 1). Media basal yang digunakan pada percobaan ini merupakan modifikasi dari media basal formula Rapp dan Backhauss (1992), karena tidak menggunakan glukosa dan pepton. Hal ini karena pada dedak gandum telah terdapat karbohidrat dan protein.

Pada Gambar 5 (dan Lampiran 6) dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang besar antara aktivitas lipase dari *A. niger* yang dikultivaskan pada media dedak gandum dengan media pemerkaya formula Rivera Munoz *et al.* (1991) ataupun dengan media basal formula Rapp dan Backhauss (1992). Dengan demikian media pemerkaya basal formula Rapp dan Backhauss (1992) dapat digunakan sebagai pengganti media Rivera-Munoz *et al* (1991). Tapi dari percobaan ini belum dapat diketahui unsur mana pada media pemerkaya basal yang menyebabkan *A. niger*

mampu menghasilkan lipase dengan aktivitas yang sama dengan yang dihasilkan dari kultivasi menggunakan media pemerkaya Rivera-Munoz *et al.* (1992).



Gambar 5. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi, pada dedak gandum dengan media permekaya yang berbeda

B. PEMILIHAN BAHAN UNTUK MEDIA KULTIVASI

Hasil analisis komposisi kimia dedak gandum dan bungkil inti sawit diperlihatkan pada Tabel 5. Perbedaan yang mencolok antara bungkil inti sawit dan dedak gandum adalah pada kadar karbohidrat, kadar serat kasar, kadar lemak dan kadar protein terlarut. Protein terlarut yang terdapat pada dedak gandum diduga berasal dari lembaga (*germ*) (lembaga menurut Leonard dan Martin, 1963 merupakan salah satu komponen dari dedak gandum). Menurut Simmond dan Orth (1973) kandungan protein terlarut pada lembaga gandum ini dapat mencapai 29 persen.

Pada jam ke 48 waktu kultivasi, terjadi peningkatan tajam aktivitas lipase dari kultivasi *A. niger* pada dedak gandum. Peningkatan aktivitas ini berlanjut sampai kultivasi 72 jam. Pada bungkil inti sawit aktivitas lipase hasil kultivasi *A. niger*

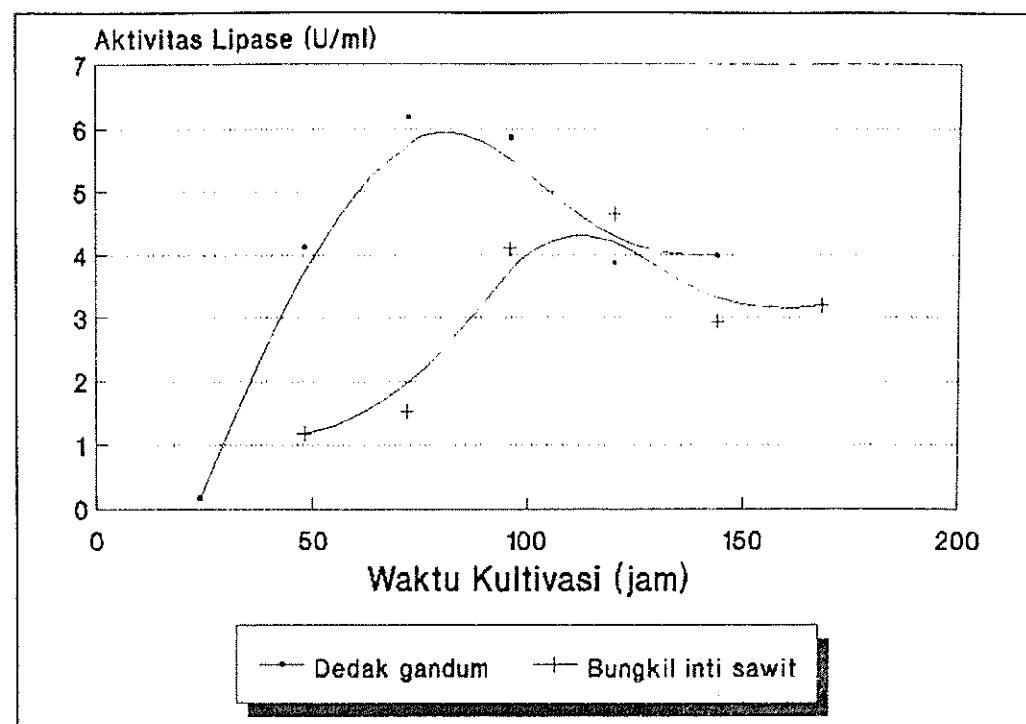
baru mulai meningkat tajam pada jam ke 96, lalu mencapai puncaknya pada jam ke-120 (Gambar 6 dan Lampiran 7).

Tabel 5. Analisis komposisi kimia dedak gandum dan bungkil inti sawit

Komponen	Dedak gandum	Bungkil inti sawit
Kadar air bebas (% bb)	11	3,00
Kadar abu (% bk)	4,58	3,96
Kadar lemak (ekstraksi oleh heksan) (% bk)	7,24	11,64
Kadar protein total (% bk)	15,04	15,91
Kadar protein terlarut (% bk)	3,41	0,36
Kadar serat kasar (% bk)	1,32	10
Kadar karbohidrat ¹⁾ (% bk)	71,82	58

1) dari selisih

Perbedaan aktivitas lipase tersebut diduga akibat perbedaan kandungan nutrien pada kedua media tersebut, terutama pada kadar protein terlarut. Enzim merupakan protein juga yang tersusun dari beberapa asam amino. Asam amino tersebut diambil dari lingkungan tempat tumbuhnya. Nutrien (termasuk protein) harus berada dalam bentuk terlarut terlebih dahulu sebelum memasuki sel mikroorganisme. Kadar protein terlarut pada dedak gandum lebih banyak, sehingga lebih banyak protein yang dapat digunakan lebih awal oleh mikroorganisme untuk mensintesa lipase. Protein yang tidak terlarut, terlebih dahulu diuraikan menjadi bentuk yang lebih sederhana agar terlarut. Protein total pada kedua media tersebut hampir sama tetapi kadar protein terlarut dari bungkil inti sawit jauh lebih sedikit. Ini berarti bahwa pada bungkil inti sawit lebih banyak protein yang tidak terlarut. Hal tersebut menyebabkan protein pada bungkil inti sawit lebih lambat digunakan.



Gambar 6. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi *A. niger* pada media padat yang berbeda.

Dugaan di atas diperkuat oleh perbedaan nilai logaritmik penurunan bobot media yang diperlihatkan pada Gambar 6 (Lampiran 7). Penurunan bobot media selama percobaan, berdasarkan pendapat Matcham *et al.* (1984) di dalam Mitchell (1992), terjadi akibat konversi substrat pada media padat menjadi biomassa dan karbondioksida, karenanya penurunan bobot media dapat digunakan untuk menduga pertumbuhan biomassa suatu mikroorganisme yang dikultivasi pada media padat, dengan syarat penurunan tersebut hanya disebabkan oleh pelepasan karbondioksida dan bukan oleh penguapan air. Pada percobaan ini, karena rancangan bioreaktor yang digunakan masih memungkinkan terjadinya pelepasan uap air, maka selain akibat konversi media padat, penurunan bobot juga dapat diakibatkan oleh menguapnya air. Dengan demikian penurunan bobot media yang terjadi selama percobaan ini tidak memenuhi syarat untuk dijadikan pendugaan untuk pertumbuhan biomassa, tetapi setidaknya dapat dijadikan alat penduga untuk mengetahui seberapa jauh media tersebut dikonversi menjadi biomassa, dengan melepaskan air dan karbondioksida.



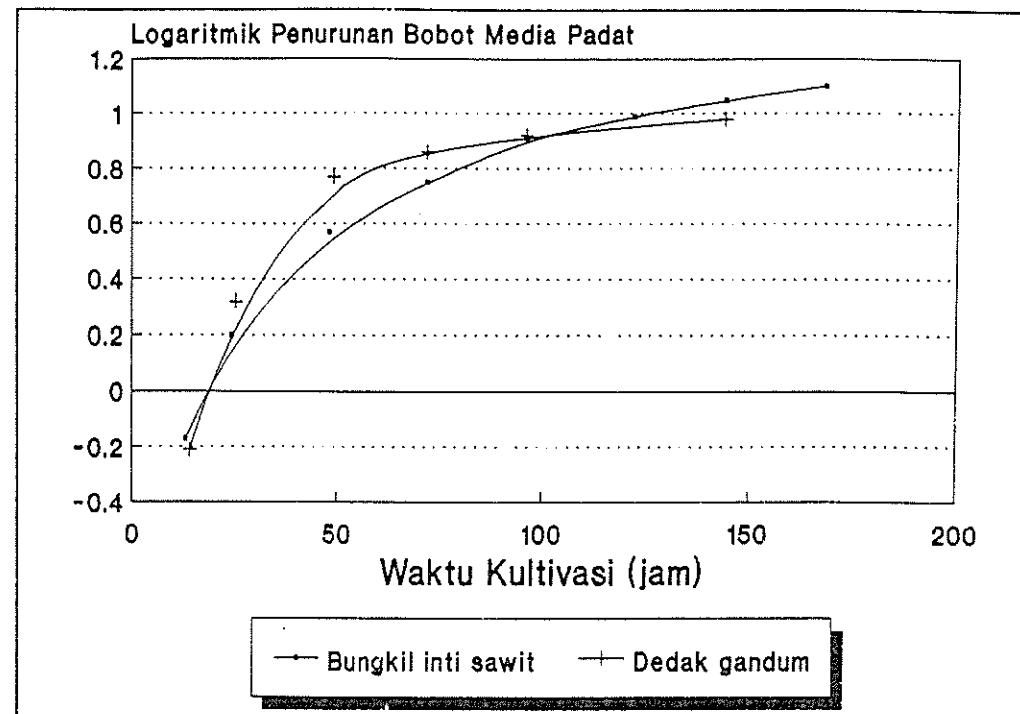
Hasil dari penurunan bobot yang terjadi selama percobaan dinyatakan dalam nilai logaritmik, sehingga nilai negatif menunjukkan bahwa penurunan bobot mempunyai nilai kurang dari satu. Kecuraman nilai logaritmik penurunan bobot yang tinggi (terjadi sampai jam ke-48 pada media dedak gandum dan jam ke-96 pada media bungkil inti sawit) menunjukkan bahwa mikroorganisme (*A. niger*) mengkonsumsi substrat pada media dalam kecepatan yang tinggi. Diduga pada saat itu mikroorganisme tersebut tengah mengalami fase logaritmik sehingga membutuhkan banyak nutrien untuk bertumbuh. Pada saat nilai logaritmik penurunan bobot mulai melandai berarti kecepatan konsumsi substrat mulai berkurang. Diduga pada saat itu mikroorganisme tengah berada pada fase stasioner, sehingga substrat dikonsumsi hanya sekedar untuk mempertahankan hidup.

Pada Gambar 7 dapat dilihat bahwa nilai logaritmik dari penurunan bobot media dedak gandum lebih tinggi daripada bungkil inti sawit sampai waktu kultivasi 96 jam. Pada saat yang sama (jam ke-96) juga terjadi peningkatan aktivitas lipase yang tinggi dari *A. niger* yang dikultivisasikan pada bungkil inti sawit. Diduga pada beberapa saat sebelum jam ke-96, protein pada media bungkil inti sawit telah diuraikan sehingga cukup sederhana untuk diserap dan digunakan oleh mikroorganisme untuk memproduksi lipase. Peristiwa tersebut menyebabkan aktivitas lipasenya baru mulai meningkat tajam pada waktu kultivasi 96 jam. Pada dedak gandum, hal tersebut terjadi 48 jam lebih awal, karena kandungan awal protein terlarutnya lebih tinggi sehingga lipase dapat lebih cepat dihasilkan. Kedua fenomena di atas menunjukkan bahwa baik pada dedak gandum maupun pada bungkil inti sawit *A. niger* mulai menghasilkan lipase dengan aktivitas yang tinggi pada saat nilai logaritmik penurunan bobot media mulai melandai. Dari kenyataan tersebut dapat diduga bahwa lipase selalu lebih banyak dihasilkan oleh *A. niger* pada fasa stasioner di pada apapun jenis media padatnya.

Selain dinilai dari aktivitasnya, suatu enzim juga perlu dilihat dari kadar proteinnya, sebab enzim itu sendiri merupakan protein dan kuantitasnya dihitung



sebagai miligram protein. Informasi mengenai kadar protein enzim juga berguna untuk mengetahui seberapa banyak protein enzim yang dikehendaki ataupun protein non enzim yang diinginkan, terdapat pada ekstrak enzim.



Gambar 7. Kurva hubungan antara nilai logaritmik penurunan bobot media padat dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda

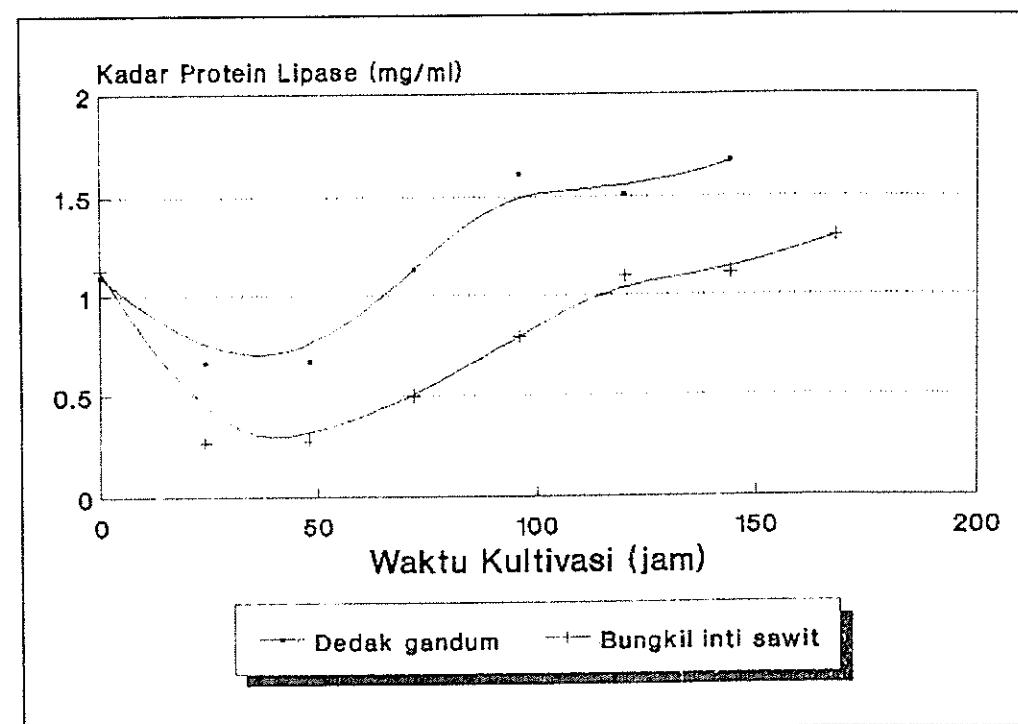
Kadar protein dari hasil ekstraksi pada jam ke-0 baik pada dedak gandum maupun pada bungkil inti sawit lebih tinggi dari pada waktu kultivasi setelahnya, padahal *A. niger* belum tumbuh dan menghasilkan lipase. Keadaan tersebut diduga karena pada jam ke-0 ekstraksi protein pada bahan media padat terjadi lebih baik. Hal ini karena pada jam ke-0 *A. niger* belum tumbuh dan miselanya belum mengikat media, akibatnya media lebih mudah hancur dan terekstraksi proteinnya.

Kadar protein lipase dari *A. niger* baik yang dikultivasikan pada dedak gandum ataupun bungkil inti sawit (Gambar 8 dan Lampiran 7), terus meningkat sampai akhir kultivasi. Keadaan ini diduga disebabkan oleh semakin banyaknya protein pada media yang didegradasi dengan semakin lamanya waktu kultivasi, sehingga menjadi cukup sederhana untuk terlarut pada saat ekstraksi enzim. Dengan demikian



peningkatan protein lipase yang sesungguhnya (pada kultivasi di dedak gandum dan bungkil inti sawit), berdasarkan nilai dari aktivitas spesifik (Gambar 8 dan Lampiran 7) hanya terjadi sampai waktu kultivasi 48 jam dan 96 jam. Setelah itu peningkatan kadar protein enzim diduga lebih disebabkan karena protein media yang ikut terekstrak.

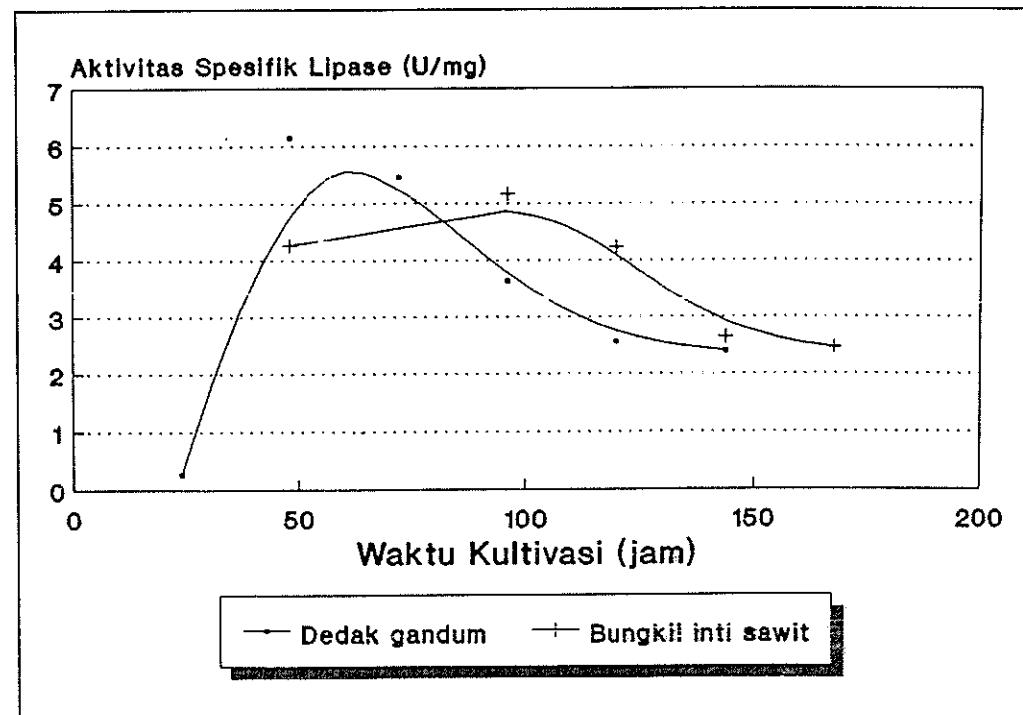
Kadar protein lipase dari kultivasi pada dedak gandum, dari awal sampai akhir kultivasi selalu lebih tinggi. Ada dua hal yang diduga sebagai penyebab. Pertama karena kadar protein terlarut pada dedak gandum lebih tinggi, sehingga pada saat ekstraksi enzim ikut terekstrak. Kedua, karena kuantitas lipase yang dihasilkan pada media dedak gandum memang lebih tinggi, dalam arti *A. niger* yang dikultivaskan pada dedak gandum mampu menghasilkan lebih banyak lipase. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, kuantitas enzim dihitung sebagai mg protein.



Gambar 8. Kurva hubungan antara kadar protein lipase dan waktu kultivasi pada media padat yang berbeda

Aktivitas spesifik suatu enzim merupakan nisbah antara nilai aktivitas enzim tersebut dengan kuantitasnya (kadar protein enzim). Aktivitas spesifik dinyatakan

dalam satuan U/mg protein. Dari nilai aktivitas spesifik ini dapat diketahui seberapa banyak dari kadar protein enzim tersebut yang benar-benar protein enzim yang diinginkan. Seperti diperlihatkan pada Gambar 8, dapat dikatakan bahwa *A. niger* menghasilkan lebih banyak lipase pada dedak gandum karena walaupun kadar protein lipase dari kultivasi pada dedak gandum lebih tinggi dari pada bungkil inti



Gambar 9. Kurva hubungan antara aktivitas spesifik lipase dan waktu kultivasi, pada media padat yang berbeda

sawit (Gambar 7), ternyata nilai aktivitas spesifiknya juga lebih tinggi paling tidak sampai jam ke-72. Berdasarkan hal tersebut, dugaan kedua seperti telah diutarakan sebelumnya, lebih tepat dijadikan alasan. Dugaan ini juga diperkuat oleh data hasil ekstraksi pada jam ke 0. Pada jam ke-0 kadar protein terlarut hasil ekstraksi enzim hampir sama, bahkan pada bungkil inti sawit sedikit lebih tinggi.

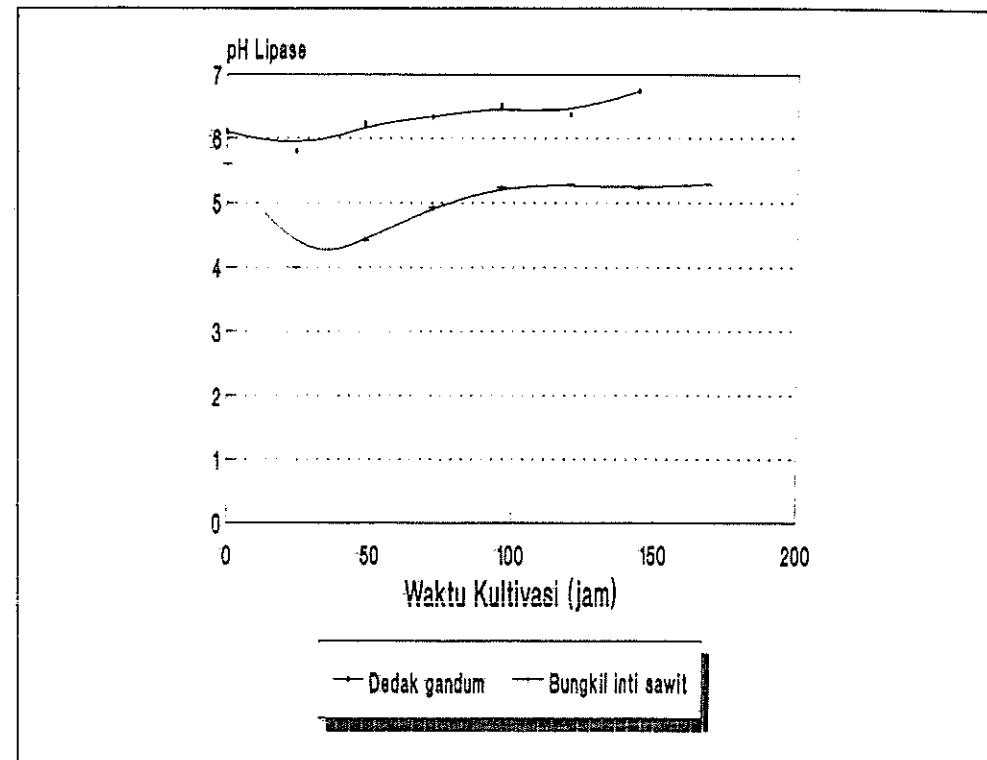
Lipase diekstrak dari media kultivasi dengan menggunakan bufer fosfat pH 6, 0,05 M, tetapi walau ekstraksi dilakukan dengan pengekstrak pada pH sama dan media pemerkaya selalu diatur pada pH yang sama (pH 6), tetapi nilai pH lipase tersebut selalu berubah selama kultivasi. Hal tersebut terjadi karena bufer



pengekstrak mempunyai batas kemampuan untuk menahan perubahan pH, sehingga perubahan nilai pH media kultivasi (sebagai aktivitas mikroorganisme) sampai batas tertentu dapat mengubah nilai pH dari bufer fosfat tersebut. Hal ini juga diterangkan oleh Scopes (1982) bahwa pada ekstraksi protein dengan menggunakan bufer, nilai pH bufer setelah ekstraksi dapat berubah. Berdasarkan hal tersebut maka kecenderungan dari perubahan pH ekstrak enzim tersebut dapat digunakan untuk melihat bagaimana dinamika perubahan pH selama kultivasi berlangsung.

Nilai pH kultivasi dapat naik karena proses deaminasi. Deaminasi terjadi karena tidak semua asam amino dapat dikonsumsi oleh mikroorganisme. Asam amino yang tersisa ini akan mengalami proses deaminasi dengan menghasilkan gugus amin (Gumbira-Said, 1987). Nilai pH kultivasi dapat turun karena terjadi hidrolisis lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Asam lemak yang terbentuk inilah yang kemudian akan menurunkan pH kultivasi. Dari Gambar 9 (atau Lampiran 7), dapat dilihat bahwa penurunan pH lipase pada kultivasi di dedak gandum tidak seuram pada bungkil inti sawit. Sampai akhir kultivasi (jam ke 168), pH lipase pada bungkil inti sawit belum menyamai pH ekstrak enzim pada jam ke-0. Sedangkan pada dedak gandum nilai pH lipase pada jam ke-49 telah melebihi nilai pH pada jam ke-0 (Lampiran 2). Selain itu nilai pH lipase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* selama kultivasi pada dedak gandum (Gambar 9) lebih tinggi dibandingkan dengan lipase hasil dari kultivasi pada bungkil inti sawit. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan kinerja kapang tersebut pada masing-masing media padat.

Bungkil inti sawit lebih banyak mengandung lemak (Tabel 5). Penguraian lemak sebagai akibat kerja lipase yang dihasilkan oleh mikroorganisme ini seperti dijelaskan oleh Shahani (1975) dan dijelaskan pula oleh Iwai dan Tsujisaka (1984) akan membebaskan asam lemak. Asam lemak tersebut dapat menurunkan pH sehingga dapat mengubah kondisi kultivasi menjadi tidak menguntungkan untuk produksi lipase. Fenomena ini dapat dijadikan alasan mengapa aktivitas lipase hasil kultivasi pada media bungkil inti sawit lebih rendah dari pada media dedak gandum.



Gambar 10. Kurva hubungan antara nilai pH lipase dan waktu kultivasi, pada media padat yang berbeda

Pada dedak gandum nilai pH lipase *Aspergillus niger* yang dikultivasikan di atasnya, mulai dari jam ke 48 sampai akhir kultivasi pada jam ke 144 dan masih berkisar pada pH optimum untuk produksi lipase oleh *A. niger* (5.5 - 7, berdasarkan hasil penelitian Kartikaningsih, 1994).

C. PEMILIHAN SUMBER NITROGEN TAMBAHAN

Lipase, merupakan salah satu jenis enzim, sedangkan senyawa organik utama semua enzim adalah protein. Protein yang tersusun dari beberapa asam amino dan unsur utama dari asam amino tersebut adalah nitrogen. Asam-asam amino non esensial bagi mikroorganisme dapat disintesa oleh mikroorganisme dari unsur-unsur (terutama nitrogen) di lingkungan tempat tumbuhnya. Sedangkan untuk asam-asam amino esensial harus diperoleh dari lingkungan dalam bentuk yang telah jadi, karena mikroorganisme tidak mampu mensintesa dari unsur-unsurnya.



Fatahillah (1992) melaporkan bahwa penambahan pepton sebesar 1 persen (b/v media pemerkaya) pada media kultivasi *A. niger* di dedak gandum, dapat menghasilkan lipase dengan aktivitas lebih tinggi dibandingkan lipase dari *A. niger* yang dikultivasi pada media dedak gandum tanpa penambahan pepton. Berdasarkan penelitian tersebut diketahui bahwa penambahan pepton dapat meningkatkan aktivitas lipase yang dihasilkan oleh kapang *A. niger*, tetapi masih belum diketahui apakah peningkatan aktivitas lipase tersebut terjadi akibat peningkatan kadar nitrogen sebagai unsur utama untuk sintesis protein atau karena pada pepton tersedia asam-asam amino esensial bagi kapang, yang tidak terdapat pada tempat tumbuhnya.

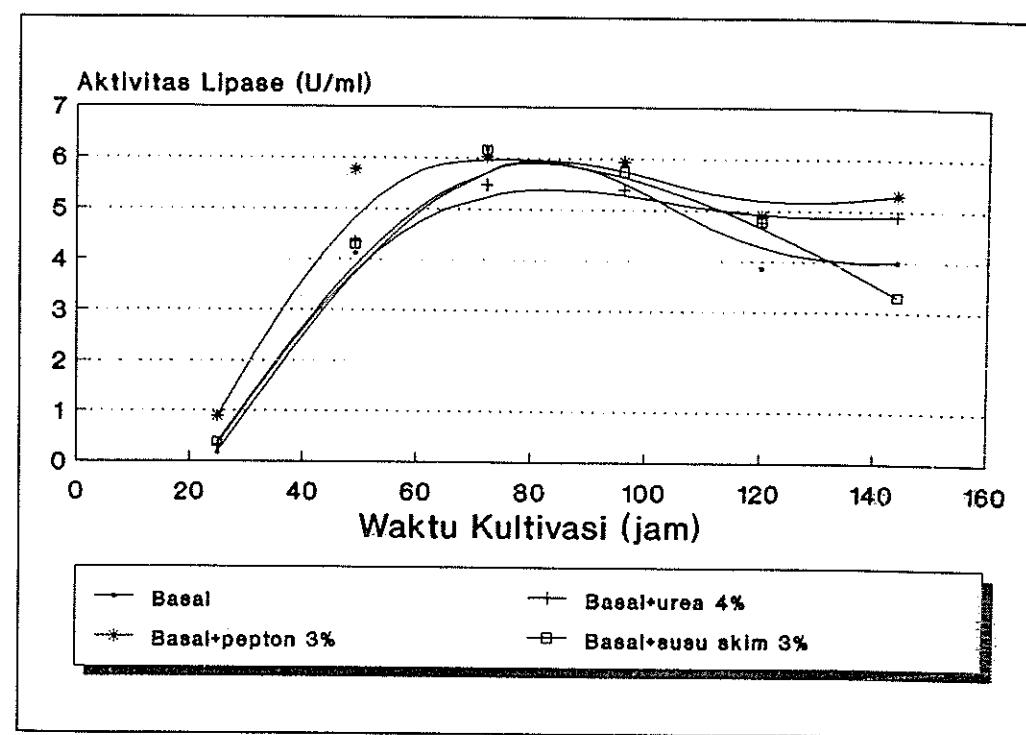
Berbeda dengan pepton yang merupakan oligopeptida, susu skim merupakan protein yang masih berupa polipeptida. Berdasarkan hasil penelitian oleh Iwai dan Tsujisaka (1984), protein yang terdapat pada media kultivasi untuk produksi lipase dapat merangsang pembentukan protease. Protease ini selain mendegradasi protein, juga akan mendegradasi lipase yang dihasilkan oleh *Rhizopus delemar* yang dikultivasi pada dedak gandum. Untuk itu perlu diuji apakah fenomena tersebut juga terjadi pada *A. niger*.

Urea merupakan suatu senyawa kimia organik yang mengandung nitrogen. Nitrogen inilah yang merupakan unsur utama dari asam amino. Seperti telah diketahui bahwa asam amino non esensial dapat disintesa oleh mikroorganisme dari unsur-unsur yang terdapat pada tempat tumbuhnya. Nitrogen yang dapat digunakan oleh mikroorganisme dari lingkungan tempat tumbuhnya, adalah dalam bentuk amin atau nitrat. Pada urea terdapat nitrogen dalam bentuk amin. Dengan digunakannya urea pada produksi lipase oleh *A. niger*, setidaknya dapat diketahui apakah naiknya aktivitas lipase *A. niger* yang dikultivasi pada media dengan penambahan pepton (hasil penelitian Fatahillah, 1993) adalah akibat bertambahnya ketersediaan nitrogen, atau karena pada pepton terdapat asam-asam amino esensial bagi *A. niger*.

Gambar 11 menunjukkan bahwa pada awal kultivasi (sebelum jam ke-72) lipase yang dihasilkan *A. niger* pada media yang ditambah pepton sebesar 3 persen



(b/v media pemerkaya) mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal ini diduga karena protein pada pepton lebih mudah digunakan, sehingga pada saat protein media belum dapat digunakan untuk mensintesa enzim, pepton dapat digunakan lebih dulu.



Gambar 11. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada media dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber.

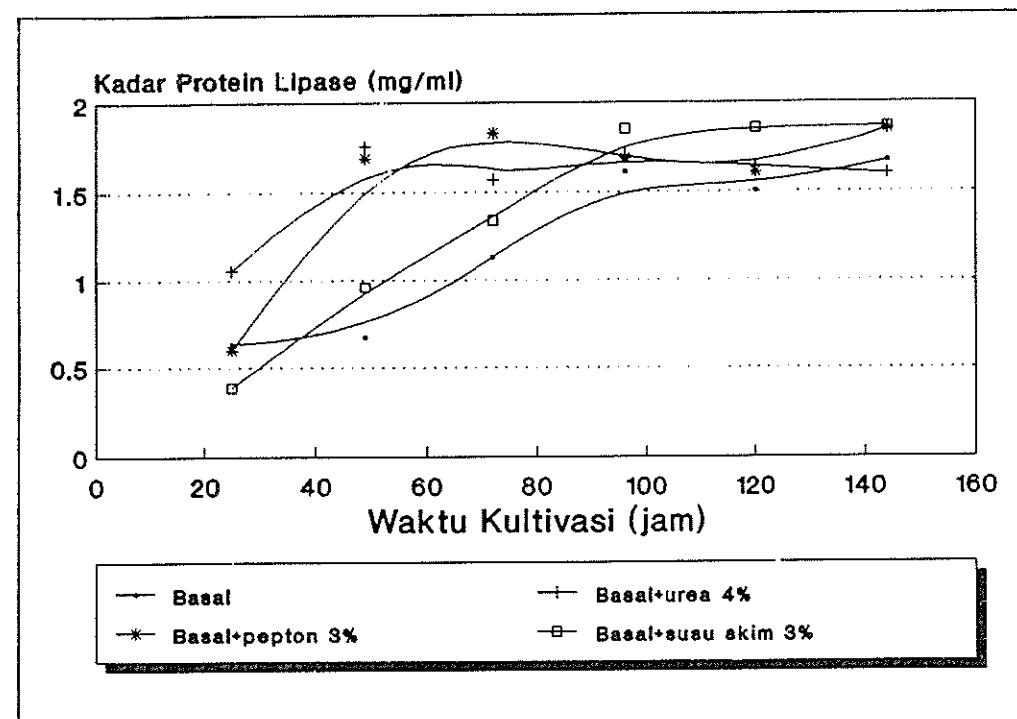
Semua perlakuan (kecuali penambahan urea) menghasilkan lipase dengan aktivitas tertinggi yang hampir sama (Gambar 11 dan Lampiran 8). Tetapi setelah waktu kultivasi 72 jam, penurunan aktivitas lipase yang dihasilkan dari media yang menggunakan sumber nitrogen tambahan, tidak securam penurunan aktivitas lipase yang dihasilkan dari media yang tidak menggunakan sumber nitrogen tambahan. Hal ini diduga karena persediaan nitrogen pada media yang menggunakan sumber nitrogen tambahan, masih cukup banyak untuk memproduksi lipase yang dihasilkan oleh *A. niger* setelah waktu kultivasi 72 jam.



Penggunaan susu skim sebagai sumber nitrogen tambahan pada media kultivasi tidak memberikan pengaruh seperti pada penambahan pepton, diduga karena protein yang terdapat pada susu skim tidak lebih sederhana dibandingkan protein yang terdapat pada media padat (dedak gandum). Selain itu penambahan susu skim ini juga tidak menghasilkan lipase dengan aktivitas yang lebih rendah daripada lipase hasil dari kultivasi pada media tanpa penambahan sumber nitrogen, hal ini mengindikasikan bahwa fenomena yang terjadi pada kultivasi *R. delemar* tidak terjadi pada *A. niger*.

Aktivitas tertinggi lipase dari *A. niger* yang dikultivasi pada media dengan penambahan urea, justru lebih rendah. Ada dua hal yang diduga sebagai penyebab. Pertama karena penambahan urea hanya mendorong *A. niger* untuk menghasilkan lebih banyak protein non lipase. Dugaan ini didasarkan pada hasil yang terlihat pada Gambar 12 dan 13 (dan Lampiran 8). Dilihat dari kadar proteinnya, lipase dari kultivasi pada media yang ditambah urea mempunyai kadar protein yang hampir sama dengan pada media yang ditambah pepton (Gambar 12). Jika dilihat dari aktivitas spesifiknya (Gambar 13) justru lebih rendah dibandingkan perlakuan lain. Kedua, adalah karena kondisi kultivasi yang berubah menjadi tidak menguntungkan. Penggunaan urea telah menaikkan nilai pH kultivasi, yang tercermin dari naiknya nilai pH ekstrak enzim (Gambar 14 dan Lampiran 8) sehingga kondisi kultivasi untuk sintesa lipase ataupun untuk kondisi inkubasi saat analisa aktivitas enzim menjadi tidak optimum.

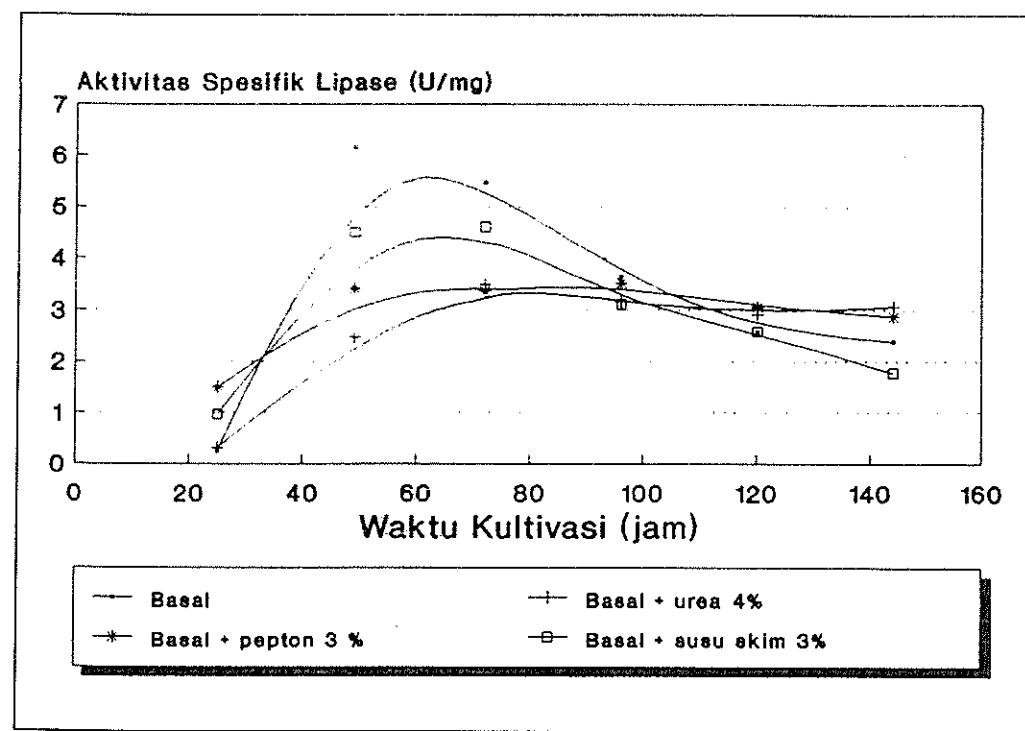
Protein lipase dari *Aspergillus niger* yang dikultivasi pada media tanpa penggunaan senyawaan nitrogen tambahan, lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Keadaan tersebut, seperti dapat dilihat pada Gambar 13, mengakibatkan aktivitas spesifik yang dihasilkannya lebih besar dibandingkan dengan perlakuan yang menggunakan sumber nitrogen tambahan.



Gambar 12. Kurva hubungan antara kadar protein lipase dan waktu kultivasi pada media dedak gandum yang dengan penambahan nitrogen berbagai sumber.

D. PENAMBAHAN NA-SITRAT DAN UNSUR KELUMIT

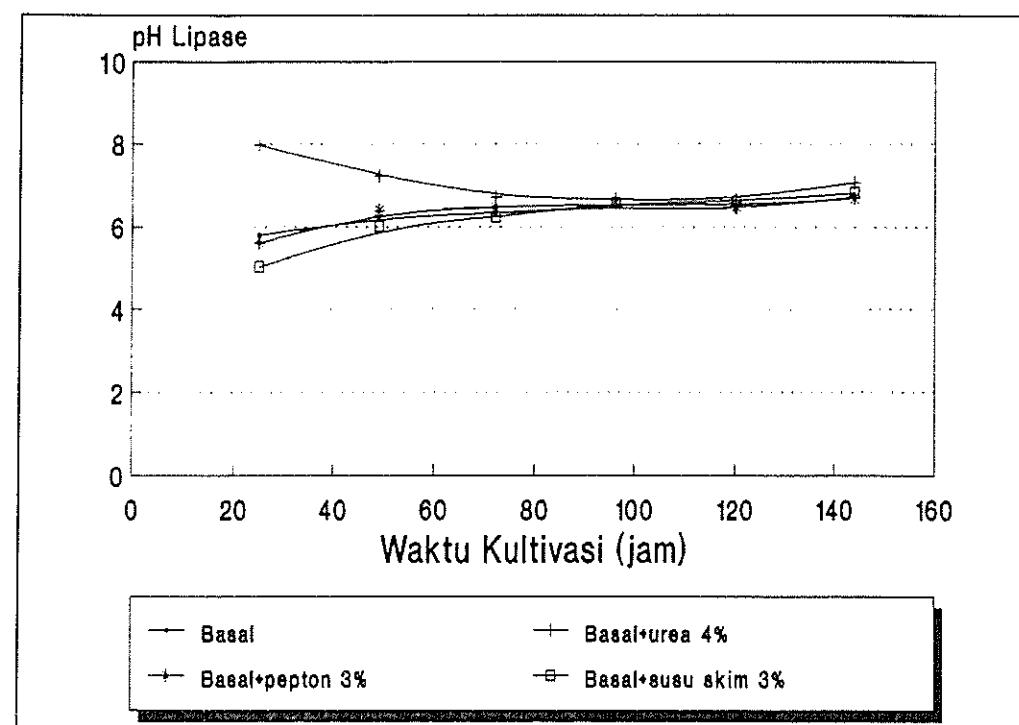
Pada dedak gandum masih terdapat karbohidrat dari *middlings* (Leonard dan Martin, 1963) dan dari analisis proksimat yang dilakukan terhadap dedak gandum diketahui bahwa hampir 2/3 bagian dari dedak gandum merupakan karbohidrat. Karbohidrat (dalam hal ini glukosa dan sukrosa) menurut Valero *et al.* (1992), Baillargeon *et al.* (1989) dan Kartikaningsih (1994) dapat mengurangi produksi lipase, karena mikroorganisme akan mengkonsumsinya lebih dulu dibanding lemak. Diduga fenomena tersebut akan terjadi pula pada percobaan ini dan diduga akan menyebabkan lipase dihasilkan oleh *A. niger* lebih lambat dan aktivitasnya pun lebih rendah. Salah satu cara agar *A. niger* dapat lebih cepat menggunakan lemak pada media dedak gandum adalah dengan memacunya untuk lebih cepat menghabiskan karbohidrat pada media dedak gandum. Menurut Lobben (1974) di dalam Chander *et al.* (1980) Na-sitrat dapat memacu penggunaan karbohidrat. Hal ini



Gambar 13. Kurva hubungan antara aktivitas spesifik lipase dan waktu kultivasi, pada dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber

dibuktikan oleh Chander *et al.* (1980) bahwa penambahan Na-sitrat pada media kultivasi dapat membuat *Aspergillus wentii* menghasilkan lipase dengan kenaikan aktivitas sebesar 64 persen,

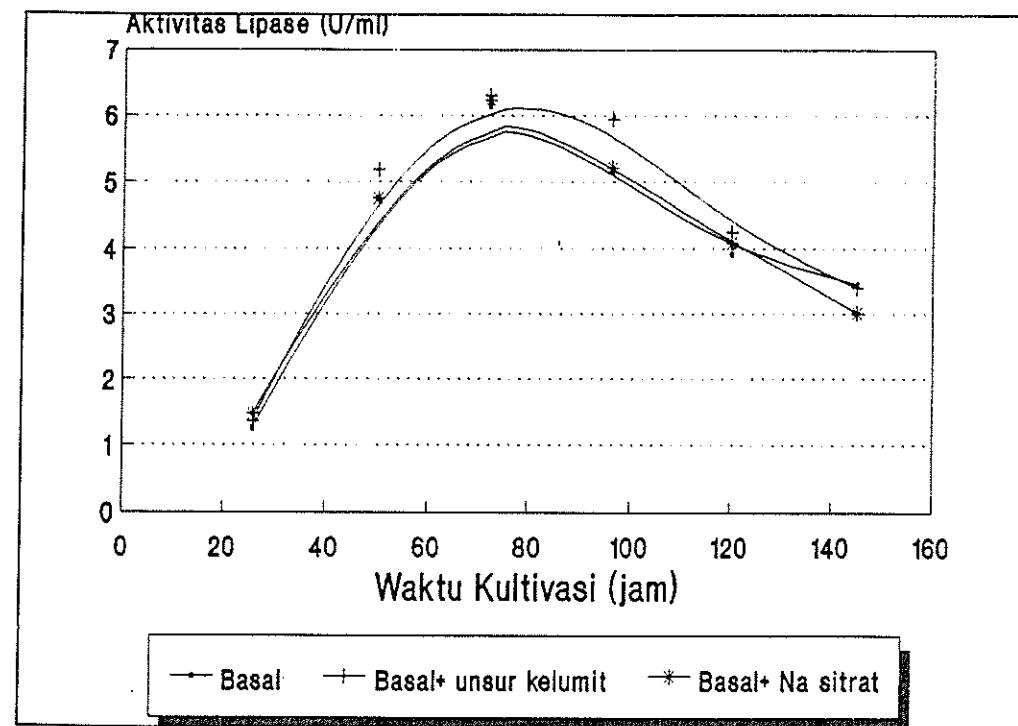
Hasil seperti pada dilihat Gambar 15 (atau Lampiran 9), penambahan Na-sitrat ternyata tidak memberikan pengaruh terhadap aktivitas lipase. Ada tiga dugaan untuk menjelaskannya. Pertama karena *Aspergillus niger* mempunyai kemampuan untuk mengakumulasikan asam sitrat (Ramakhrisnan, 1954; Gumbira-Said, 1987; dan Jernecj dan Cimmerman, 1992) sehingga penambahan Na-sitrat sebesar 0,2 persen (b/v media pemerkaya) tidak memberikan pengaruh. Kedua, sebenarnya terjadi pemacuan penggunaan karbohidrat, tetapi pemacuan ini tidak menyebabkan peningkatan aktivitas lipase, karena sistem induksi lipase dari *A. niger* berbeda dengan *A. wentii*. Produksi lipase oleh *Aspergillus wentii* justru dihambat oleh keberadaan lemak pada media kultivasinya dan bahkan dapat menghasilkan lipase



Gambar 14. Kurva hubungan antara pH lipase dan waktu kultivasi pada dedak gandum dengan penambahan nitrogen dari berbagai sumber.

dengan aktivitas tertinggi hanya dengan penggunaan glukosa sebagai sumber karbon. Diduga pemacuan penggunaan karbohidrat oleh *A. niger* hanya meningkatkan biomassa, sedangkan peningkatan biomassa pada *A. niger* (berbeda dengan *A. wentii*) tidak selalu berkorelasi positif dengan aktivitas lipase yang dihasilkan. Dugaan ketiga adalah karena jenis karbohidrat yang terdapat pada dedak gandum dan karbohidrat yang digunakan oleh Chander *et al.* (1980) berbeda. Karbohidrat yang terdapat pada dedak gandum adalah polisakarida sedangkan karbohidrat yang digunakan oleh Chander *et al.* (1980) adalah glukosa dan sukrosa (mono dan disakarida), sehingga penggunaannya oleh *A. niger* tidak lebih cepat dibandingkan dengan penggunaan lemak. Akibatnya, penambahan Na-sitrat tidak memberikan pengaruh terhadap produksi lipase.

Kelemahan dugaan pertama adalah karena kondisi kultivasi untuk produksi lipase berbeda dengan kondisi kultivasi untuk produksi asam sitrat (Curie, 1917 di



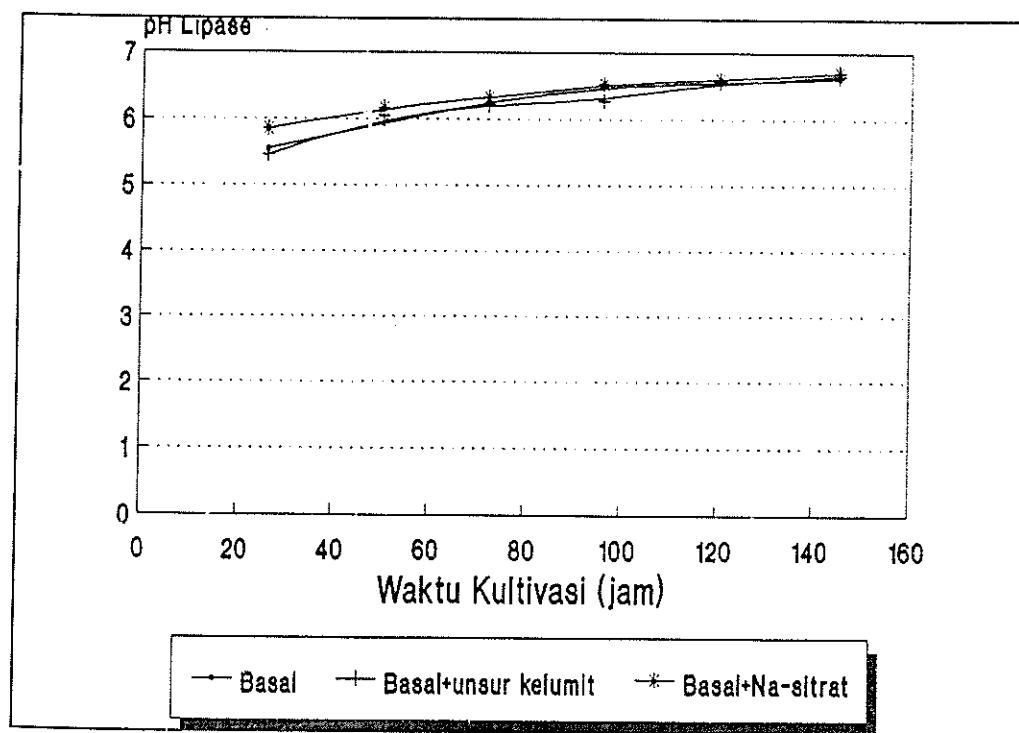
Gambar 15. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi pada media dedak gandum dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat

dalam Gumbira-Said, 1987) terutama pada pH kultivasi. Pendapat Ramakhrisnan (1954) yang menyatakan bahwa siklus TCA pada *A. niger* tidak berlangsung sempurna sehingga menyebabkan asam sitrat terakumulasi, ternyata menurut Jernecj dan Cimerman (1992) tidak berlangsung pada segala kondisi. Ia menemukan bahwa dengan penambahan CuSO_4 pada media kultivasi, baru dapat menyebabkan asam sitrat terakumulasi (pada media basal tidak digunakan CuSO_4). Jika benar asam sitrat terakumulasi maka nilai pH lipase akan turun, tetapi dari hasil percobaan (Gambar 16 dan Lampiran 9) tidaklah demikian bahkan cenderung untuk terus meningkat. Hal tersebut menunjukkan asam sitrat tidak diproduksi oleh *A. niger*.

Dugaan kedua sulit untuk dibuktikan karena pada percobaan ini tidak dilakukan penghitungan biomassa yang terbentuk, sehingga hanya data nilai logaritmik penurunan media saja yang dijadikan pendugaan, karena jika memang terjadi pemancahan penggunaan karbohidrat maka bobot media pun akan turun lebih cepat.

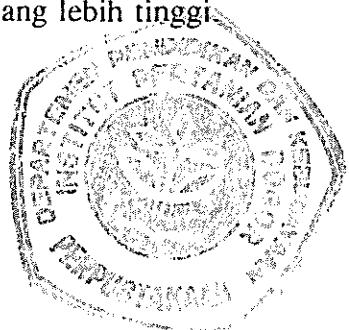
Tetapi dari Gambar 17 tidak menunjukkan bahwa nilai logaritmik penurunan media dengan penambahan Na-sitrat lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan Na-Sitrat.

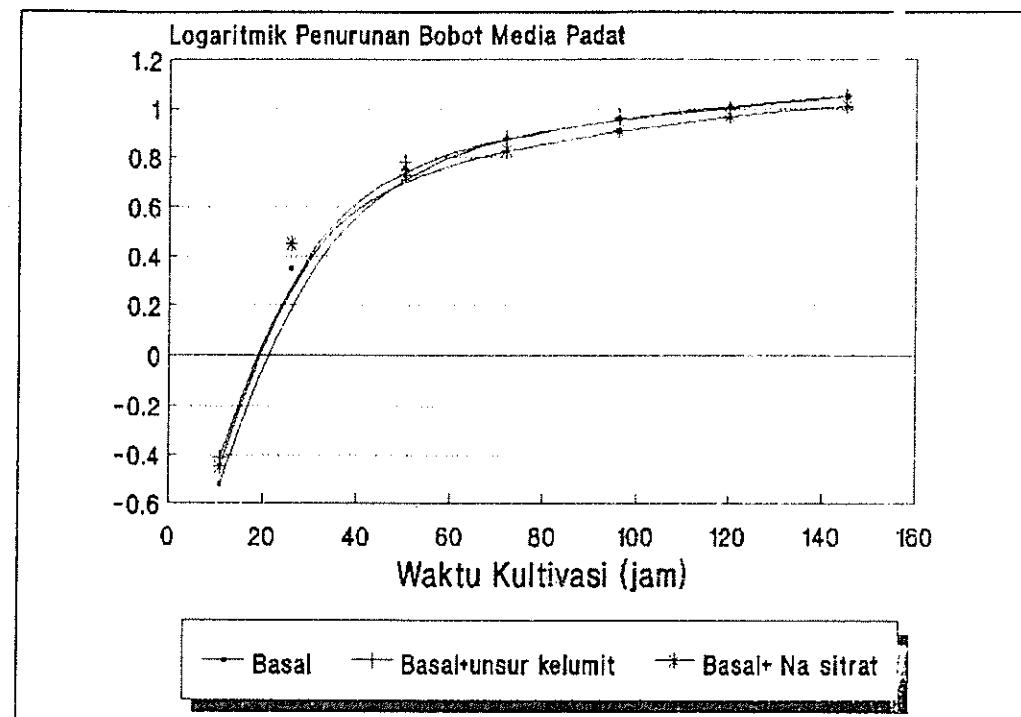
Unsur-unsur yang termasuk pada unsur kelumit menurut Stanier *et al.* (1982), yakni Cu, Zn, Mo, Mn dan Fe. Unsur kelumit ini merupakan unsur pokok anorganik enzim-enzim khusus yang berperan dalam metabolisme suatu



Gambar 16. Kurva hubungan antara pH lipase dan waktu kultivasi pada media dedak gandum dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat

mikroorganisme. Komposisi unsur kelumit yang digunakan pada percobaan ini adalah hasil formulasi dari Rivera-Munoz *et al.* (1991). Pada formula tersebut terdapat Cu, Zn, Mo, dan Mn serta B (Lampiran 1). Pada Gambar 15, dapat dilihat bahwa penambahan unsur kelumit pada media kultivasi *Aspergillus niger* dapat menghasilkan lipase dengan aktivitas yang lebih tinggi. Hal ini diduga karena penambahan unsur kelumit menyebabkan metabolisme kapang tersebut menjadi lebih baik sehingga dapat menghasilkan lipase dengan aktivitas yang lebih tinggi.





Gambar 17. Kurva hubungan antara logaritmik penurunan bobot media dan waktu kultivasi pada media dedak gandum dengan penambahan unsur kelumit dan Na-sitrat.

E. PENGARUH TINGKAT KETERBALAN MEDIA

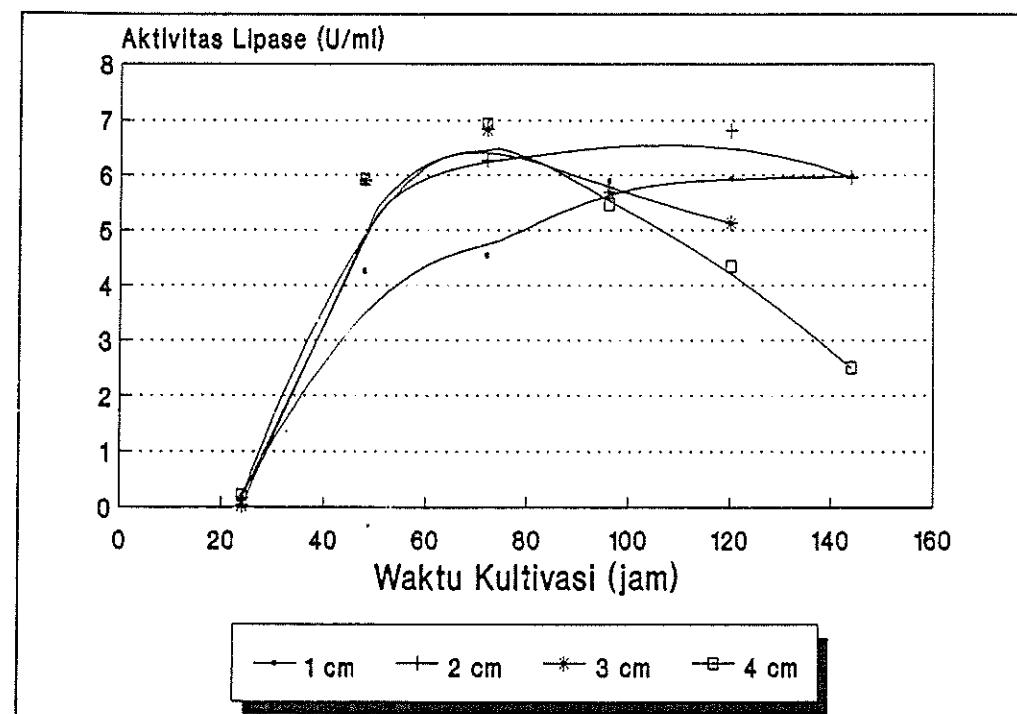
Mudgett (1986) di dalam Bernard *et al.* (1992) menyebutkan bahwa proses kemoheterotropik yang terjadi (dalam hal ini pada media padat) bersifat eksotermik dan panas yang terbentuk tersebut dapat meningkatkan gradien suhu yang disebabkan oleh terbatasnya kapasitas panas media. Hal ini berpengaruh buruk terhadap biomassa dan pembentukan produk. Terlebih lagi menurut Smith dan Aidoo (1988) di dalam Bernard *et al.* (1992) karena konsentrasi substrat yang tinggi tiap unit volume, maka pembentukan panas menjadi sangat besar. Rathbun dan Shuller (1983) di dalam Bernard *et al.* (1992) melaporkan bahwa pada pembuatan tempe gradien suhu pada media kultivasi dapat mencapai 3°C tiap cm.

Secara teoritis, tingkat ketebalan dan laju aerasi akan mempengaruhi proses pindah massa dan pindah panas yang terjadi selama kultivasi dan pada akhirnya akan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan produksi enzim. Pada ketebalan



yang rendah produk-produk gas hasil metabolisme yang tidak diinginkan akan mudah dilepaskan. Hal tersebut diakibatkan oleh lebih banyaknya bagian media yang bersentuhan dengan udara karena nisbah luas permukaan tiap volume atau tiap bobot media lebih tinggi.

Dari Gambar 18 (dan Lampiran 10), dapat dilihat bahwa lipase dari *Aspergillus niger* yang dikultivasi pada media tipis (1 dan 2 cm) cenderung lebih lambat mencapai puncak aktivitas. Aktivitas tertinggi lipase dari *Aspergillus niger* yang dikultivasi pada ketebalan 2 cm dicapai pada jam ke-120, pada ketebalan 1 cm aktivitas lipase bahkan terus meningkat sampai jam ke-144. Pada lipase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* pada media kultivasi dengan ketebalan 3 cm dan 4 cm tidaklah demikian. Pada ketebalan 3 dan 4 cm lipase dengan aktivitas tertinggi telah dihasilkan pada jam ke-72.



Gambar 18. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dan waktu kultivasi, pada dedak gandum dengan berbagai ketebalan media

Ada dua dugaan untuk menjelaskan fenomena ini, pertama karena pada media kultivasi yang tebal suhu lebih tinggi, sehingga *Aspergillus niger* lebih cepat

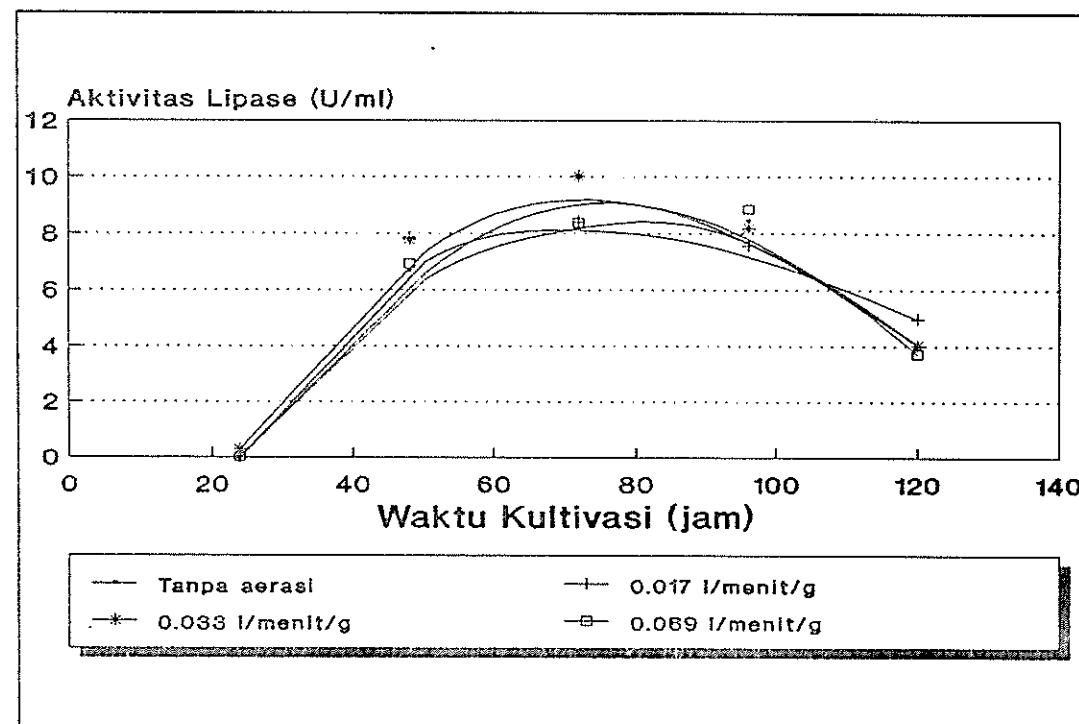
menghasilkan lipase. Pada suhu lebih tinggi metabolisme berlangsung lebih cepat, dan akibatnya, untuk mengimbangi metabolisme yang lebih cepat tersebut, mikroorganisme harus lebih cepat mendapatkan nutrien, sehingga harus lebih cepat pula menghasilkan enzim untuk mendegradasi nutrien pada media. Dugaan kedua adalah karena pada media tipis (1 dan 2 cm) sehingga *A. niger* lebih banyak menghasilkan spora, dan menyebabkan energinya lebih banyak digunakan untuk pembentukan spora dibandingkan untuk produksi lipase. Keadaan tersebut menyebabkan lipase mulai banyak diproduksi saat kegiatan pembentukan spora berkurang. Pada media tipis permukaan media lebih luas sehingga kapang tersebut lebih banyak membentuk hifa aerasi, menurut Griffin (1981) serta Frazier dan Westhoff (1983) pada hifa aerasi inilah dibentuk spora. Hal ini dibuktikan oleh Griffin (1981) bahwa penutupan koloni kapang *Aspergillus* dan *Penicillium* dengan selofan dapat mencegah pembentukan hifa aerasi dan terbentuknya spora.

F. PENGARUH LAJU AERASE

Aerasi menurut Durand *et al.* (1988) di dalam Bernard *et al.* (1992) berfungsi untuk menjaga kondisi aerobik, desorpsi karbondioksida, mengatur suhu substrat dan mengontrol kadar air. Menurut Mudgett *et al.* (1982) di dalam Bernard *et al.* (1992), gas dari lingkungan secara nyata dapat mempengaruhi produksi biomassa dan enzim. Berdasarkan pendapat tersebut disimpulkan bahwa laju aerasi yang dibutuhkan adalah khas untuk tiap jenis mikroorganisme dan media tumbuhnya. Lebih jelasnya dapat dikatakan bahwa laju aerasi yang dibutuhkan tergantung dari kebutuhan mikroorganisme terhadap oksigen dan kemudahan proses pindah massa dan pindah panas untuk berlangsung pada suatu media.

Hasil percobaan yang tercantum pada Gambar 19 (dan Lampiran 11), memperlihatkan bahwa tidak terjadi perbedaan yang mencolok antara aktivitas lipase hasil dari kultivasi dengan aerasi atau tanpa aerasi. Hal ini karena *A. niger* dapat hidup pada kondisi oksigen yang terbatas (Cooke, 1979 bahkan menerangkan bahwa

A. niger masih dapat hidup pada 100 persen gas nitrogen/tanpa oksigen) dan juga diduga karena proses pindah massa dan pindah panas pada media tumbuhnya (dedak gandum) dengan ketebalan 3-4 cm sudah berlangsung cukup baik pada keadaan tanpa aerasi.



Gambar 19. Kurva hubungan antara aktivitas lipase dengan waktu kultivasi, pada berbagai laju aerasi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Lipase yang diproduksi oleh *A. niger* pada dedak gandum dengan media pemerkaya basal yang formula Rapp dan Backhauss (1992) mempunyai aktivitas yang tidak jauh berbeda dibandingkan lipase yang dihasilkan pada media pemerkaya formula Rivera-Munoz (1991). Hasil aktivitas lipase tertinggi dari kultivasi dengan media pemerkaya formula Rivera-Munoz (1991) dan basal (Rapp dan Backhauss, 1992) masing-masing sebesar 4,98 dan 5,18 U/ml.

A. niger yang ditumbuhkan pada media dedak gandum (*wheat pollard*) menghasilkan lipase dengan aktivitas yang lebih tinggi daripada jika dikultivasi pada bungkil inti sawit. Aktivitas lipase tertinggi dari *Aspergillus niger* yang dikultivasi pada dedak gandum dan bungkil inti sawit berturut-turut 6,18 dan 4,64 U/ml dari kultivasi 72 dan 120 jam dengan aktivitas spesifik masing-masing 6,15 dan 5,17 U/mg protein dari kultivasi 48 dan 96 jam. Selain itu hasil dari percobaan ini menunjukkan bahwa lipase dengan aktivitas yang tinggi mulai dihasilkan pada saat kecenderungan pertambahan nilai logaritmik penurunan bobot media mulai melandai dan hal itu terjadi baik pada media bungkil inti sawit maupun dedak gandum.

Penggunaan sumber nitrogen tambahan pada umumnya cenderung menyebabkan aktivitas lipase yang dihasilkan setelah jam ke-72 tidak turun securam aktivitas lipase *A. niger* yang dikultivasikan pada media tanpa penggunaan sumber nitrogen tambahan. Khusus pada penambahan sumber nitrogen dari pepton pada media kultivasi juga dapat meningkatkan aktivitas lipase yang dihasilkan pada awal kultivasi (sebelum jam ke-72). Penggunaan nitrogen dapat dikatakan tidak meningkatkan aktivitas lipase tertinggi yang dihasilkan selama kultivasi. Aktivitas lipase tertinggi yang dihasilkan dari kultivasi pada media tanpa penggunaan sumber

nitrogen tambahan, dengan penambahan urea 4 persen; pepton 3 persen dan susu skim 3 persen (b/v media pemerkaya) yakni : 6.18; 5.47; 6.03; dan 6.16 IU/ml

Penambahan Na-sitrat sebanyak 0.2 persen (b/v media pemerkaya) kepada media kultivasi tidak memberikan pengaruh terhadap produksi enzim lipase dari *A. niger* ini, sedangkan penambahan unsur kelumit pada media kultivasi dapat sedikit meningkatkan aktivitas lipase yang diproduksi selama kultivasi.

A. niger yang dikultivasi pada media yang tipis menyebabkan aktivitas lipase tertinggi lebih lambat dihasilkan. Untuk media dengan ketebalan 1, 2, 3 dan 4 cm aktivitas lipase yang dihasilkan berturut-turut 6,13; 6,81; 6,83; dan 6,93 U/ml dari hasil kultivasi 144, 120, 72 dan 72 jam.

Aerasi tambahan untuk kultivasi *A. niger* pada dedak gandum tidak mempengaruhi aktivitas lipase yang dihasilkannya. Aktivitas lipase tertinggi yang dihasilkan dengan tanpa aerasi, laju aerasi 0,017; 0,033; dan 0,069 l/menit/gram media padat, yakni 10; 8,4; 10,01 dan 8,86 U/ml.

B. SARAN

Perlu dilakukan studi mengenai unsur-unsur apa saja yang penting bagi *A. niger* dalam memproduksi lipase untuk menjelaskan mengapa aktivitas lipase *A. niger* yang dikultivasikan dengan media pemerkaya River-Munoz *et al.* (1991) atau media basal (Rapp dan Backhauss, 1992) menghasilkan nilai yang relatif sama.

Studi mengenai pengaruh penambahan Na-sitrat pada media kultivasi terhadap pembentukan biomassa dan produksi lipase *A. niger* perlu dilakukan lebih jauh. Hal ini untuk menjelaskan mengapa penggunaan Na-sitrat tidak berpengaruh terhadap produksi lipase.

Sebaiknya uji pengaruh ketebalan media kultivasi terhadap produksi lipase oleh *A. niger* dilakukan lagi pada bioreaktor baki tanpa menggunakan bioreaktor mini berganda karena akan mempunyai nisbah luas/volume yang berbeda jika menggunakan bioreaktor mini berganda seperti yang telah diuji pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist. AOAC., Washington.

Arnoit, G. W. 1966. Composition, Characteristic and Uses of Palm Oil Product. Di dalam G. W. Arnoit (eds). 1966. The Palm Oil in Malaya. Ministry of Agriculture and Co-operative, Kuala Lumpur.

Baillargeon, M. W., R. G. Bistline dan P. E. Sonnet. 1989. Evaluation of *Geotrichum candidum* for lipase production and fatty acid specificity. Applied Microbiology and Biotechnology. 30:92

Bernard, A. P., James, D. Preez dan P. W. Rain. 1992. Environmental Parameters. Di dalam H. W. Doelle, D. A. Mitchell dan C. E. Rolz (eds). 1992. Solid Substrat Cultivation. Elsevier, London.

Borgstrom, B. dan H. L. Brockman. 1984. Lipases. Elsevier, Amsterdam.

Chander, H., V. K. Batish, S. S. Sannabhadti, dan Srinivasan. 1980. Factor Affecting Lipase Production in *Aspergillus wentii*. J. Food Sci. 45:598-600.

Cooke, W. B. 1979. The Ecology of fungi. CRC Press, Boca Raton-Florida.

Crueger, W. dan A. Crueger. 1984. Biotechnology : A Text Book of Industrial Microbiology. Sinauer Associates Inc. Sunderland-Madison

Fatahillah, Y. H. 1992. Mempelajari pengaruh kondisi fermentasi pada produksi lipase dari *Aspergillus niger*. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Frazier, W. C. 1967. Food Microbiology. Mc. Graw Hill Book Co., New Delhi.

Frazier, W. C. dan D. C. Westhoff. 1983. Food Microbiology. Mc. Graw Hill Pub. Co. Ltd., New Delhi.

Gumbira-Said, E. 1987. Bioindustri : Penerapan teknologi fermentasi untuk industri. Mediyatama Sarana Perkasa, Jakarta.

Gumbira-Said; E. 1992. Development of Packed Bed Solid-State Cultivation Systems for The Protein Enrichment of Sago Starch. Ph. D. Thesis, University of Queensland, Australia.

Griffin, D. H. 1981. Fungal Physiology. John Willey and Sons, New York.

Hartley, C. W. S. 1967. The Palm Oil. Longman Group Ltd., London.

IUB. 1984. Enzyme Nomenclature : Recomendation of the Nomenclature of the International Union of Biochemistry on Nomenclature and Classification of Enzyme Catalyzed Reactions. Academic Press, Orlando.

Iwai, M. dan Y. Tsujisaka. 1984. Fungal Lipase. Di dalam B. Borgstrom dan H. L. Brockman (eds). 1984. Lipases. Elsevier, Amsterdam.

- Jernejc, K. dan A. Cimmerman. 1992. Composition of *A. niger* Mycelium During Growth on Productive and Unproductive Substrate. J. of Biotechnology 25:341-348.

Kartikaningsih, H. 1994. Kajian Proses Produksi Lipase oleh *Aspergillus niger* Galur Lokal. Tesis Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.

Leonard, W. H. dan J. H. Martin. 1963. Cereal Crops. MacMillan Publ Co. Inc., New York.

Linfield, W. M., R. A. Barauskas, L. Sivieri, S. Serota dan R. W. Stevenson. 1984. Enzymatic Fat Hydrolysis and Synthesis. J. of American Oil Chem. Soc. 18 : (2).

Mitchell, D. A. 1992. Growth Patterns, Growth Kinetics and The Modelling of Growth in Solid State Cultivation. Di dalam H. W. Doelle, D. A. Mitchell dan C. E. Rolz (eds). 1992. Solid Substrat Cultivation. Elsevier, London

Mitchell, D. A. dan B. K. Lonsane. 1992. Definition, Characteristics and Potential. Di dalam H. W. Doelle D. A. Mitchell dan C. E. Rolz (eds). 1992. Solid Substrat Cultivation. Elsevier, London.

Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Terjemahan oleh T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka (eds). Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Ramakhrisan, C. V. 1954. The Tricarboxylic Acid Cycle in *Aspergillus niger*. Enzymologia. 17:169-174. Uitgverij Dr. W. Junk, Den Haag.

Raper, K. B. dan D. L. Fennel. 1977. The Genus *Aspergillus*. Robert E. Krieger Publishing Co., New York.

Rapp, P. dan S. Backhauss. 1992. Formation of Extracellular Lipases by Filamentous Fungi, Yeast and Bacteria. Enzyme Microb. Technol. 14:938-943 Heinemann.

Rivera-Munoz, G., J. R. Tinoco-Valencia, S. Sanchez dan Farres. 1991. Production of Microbial Lipases in a Solid State Fermentation System. Biotechnology Letters. 13: (4) : 277-280.

Scopes, R. K. 1982. Protein Purification : Principe and Practice. Springer-Verlag, New York.

Shahani, K. M. 1975. Lipases and Esterases. Di dalam G. Reed (Eds). 1975. Enzyme in Food Processing. Academic Press, New York.

Simmonds, D. H. dan R. A. Orth. 1973. Structure and Composition of Cereal Proteins as Related to Their Potential Industrial Utilizations. Di dalam Y. Pomeranz dan Chairman (Eds). 1973. Industrial Uses of Cereals : Prosiding Simposium 4 - 8 November 1973, St. Louis, Misouri.

Stanier, R. Y., E. A. Adelberg dan J. Ingraham. 1982. Dunia Mikrobe I. Terjemahan oleh S. L. Angka, K. G. Lioe, Hastowo, B. Lay dan S. S. Tjitrosomo (eds). Bhratara Karya Aksara, Jakarta.

Weisser, H. M. 1962. Practical Food Microbiology and Technology. AVI Publishing Company, Wesport Connecticut.



Lampiran 1. Komposisi media pemerkaya dan unsur kelumit

1. Komposisi media pemerkaya formula Rivera-Munoz et al. (1991) :

- 20 g dedak gandum / bungkil inti sawit;
- 20 ml larutan mineral yang terdiri dari :
 - KH_2PO_4 13,4 g/l;
 - K_2HPO_4 16,8 g/l;
 - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l.

2. Komposisi media pemerkaya basal (formula Rapp dan Backhauss, 1992)

- 20 g dedak gandum/ bungkil inti sawit
- 20 ml unsur pemerkaya yang terdiri dari :
 - $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l;
 - KH_2PO_4 1,0 g/l;
 - NaNO_3 3,0 g/l;
 - Ekstrak khamir 1,0 g/l.

3. Komposisi unsur kelumit formula Rivera-Munoz et al. (1991) (digunakan sebanyak 2 ml/l media pemerkaya)

- H_3BO_3 114 mg/l;
- $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 484 mg/l;
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 780 mg/l;
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 16,72 mg/l;
- $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 144 mg/l.



Lampiran 2. Prosedur Ekstraksi Enzim (Rivera-Munoz *et al.*, 1991)

Ekstraksi enzim dari media kultivasi dilakukan dengan cara memindahkan media kultivasi yang telah ditumbuhkan *A. niger* ke dalam erlenmeyer 250 ml, lalu ditambah larutan bufer fosfat 0,05 M (pH 6) sebanyak 5 kali bobot kering media. Selanjutnya media ini digoyang pada kecepatan 150 rpm selama satu jam pada suhu kamar kemudian disimpan pada ruangan bersuhu 4 - 10°C selama 12 jam. Filtrat enzim lalu disentrifugasi pada gaya 906 g selama 30 menit dengan suhu 4°C.



Lampiran 3. Metoda analisis aktivitas lipase *Aspergillus niger* (Linfield et al., 1984) dengan modifikasi komposisi substrat hidrolisis menurut Iwai dan Tsujisaka (1984).

Sebanyak 2 gram minyak kelapa sawit "Filma" ditimbang dalam Erlenmeyer 50 ml, kemudian ditambahkan larutan bufer asetat 0,05 M (pH 5,6) sebanyak 4 ml, 1 ml larutan CaCl_2 1 M dan 1 ml larutan enzim kasar. Campuran substrat enzim ini diinkubasikan pada plat panas berpengaduk dan direndam dalam air pada bersuhu 30°C selama satu jam.

Setelah waktu inkubasi tercapai, campuran substrat-enzim diinaktivkan dengan penambahan campuran aseton : etanol (1:1) sebanyak 10 ml dan digoyang secara sempurna. Campuran ini kemudian dipindahkan pada Erlenmeyer 100 ml, sedangkan Erlenmeyer 50 ml tempat inkubasi dibilas dengan campuran aseton-ethanol sebanyak 10 ml. Bilasan ini ditambahkan pada erlenmeyer 100 tersebut di atas. Selanjutnya campuran pada Erlenmeyer 100 ml ditambahkan indikator fenolftalin 1 persen sebanyak 2-3 tetes dan selanjutnya dititrasi dengan larutan KOH beralkohol 0,05 N (harus distandarisasi setiap hari dengan asam oksalat). Titrasi dihentikan jika telah terbentuk warna merah jambu yang stabil selama 30 detik.

Untuk penentuan blanko dilakukan dengan komposisi campuran yang sama, tetapi pada saat dimasukkan larutan enzim segera ditambahkan campuran aseton-ethanol untuk menginaktivkan enzim kemudian dibilas dan dititrasi dengan prosedur yang sama pada analisis contoh.

$$\text{Aktivitas lipase (U/ml)} = \frac{(A-B) \times N \text{ KOH} \times 1000}{w \times 60}$$

di mana,

A	=	ml KOH untuk titrasi contoh
B	=	ml KOH untuk titrasi blanko
N KOH	=	normalitas KOH yang digunakan untuk titrasi
1000	=	konversi dari mmol ke μ mol
w	=	berat minyak yang digunakan
60	=	waktu inkubasi (1 jam = 60 menit)

1. Prosedur Penentuan Kadar Protein Terlarut Metode Bradford (1976) di dalam Scopes (1982).

Sebanyak 100 mg Coomasie Brilliant Blue G-250 dilarutkan dengan pengadukan yang kuat di dalam 50 ml etanol 95 persen, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit dengan 100 ml asam fosfat 85 persen. Campuran kemudian dilarutkan dalam 1 liter air suling dan disaring untuk menghilangkan pewarna yang tak larut. Larutan ini dapat bertahan selama 1 sampai 2 minggu.

Prosedur (yang dilakukan selama penelitian)

Dalam tabung reaksi 0,1 ml contoh atau larutan protein standar diencerkan sampai 1 ml dan ditambahkan larutan di atas sebanyak 4 ml. Tabung reaksi tersebut diaduk dengan vortex agar tercampur merata. Pembacaan oleh spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 595 nm. Pembuatan larutan protein standar dilakukan dengan melarutkan bovine serum albumin pada berbagai konsentrasi. Kurva standar ini harus selalu dibuat pada setiap kali pengukuran protein contoh untuk menghindari perubahan pembacaan (kesalahan alat) oleh spektrofotometer.

2. Prosedur Penentuan Kadar Air

Pinggan alumunium dipanaskan pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Sebanyak lebih kurang dua gram contoh ditimbang dan dimasukkan ke dalam pinggan alumunium yang telah diketahui bobotnya dan dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C sampai bobotnya konstan. Setelah itu pinggan dimasukkan ke dalam desikator dan setelah mencapai suhu kamar ditimbang. Sisa contoh dihitung sebagai total padatan yang kehilangan air.

3. Prosedur Penentuan Kadar Abu

Cawan porselein dipanaskan kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang bobotnya setelah mencapai suhu kamar. Contoh sebanyak 3 - 5 gram ditimbang di dalam kemudian dibakar pada suhu 550°C sampai berwarna kelabu, kemudian didinginkan di desikator dan ditimbang secepatnya setelah mencapai suhu kamar. Sisa contoh dihitung sebagai kadar abu.

4. Prosedur Penentuan Kadar Protein Total (metoda Makrojedahl)

Contoh sebanyak 0.2 gram didestruksi dengan 2.5 ml asam sulfat pekat dan katalisator selenium sampai warnanya menjadi jernih.

Destilasi dilakukan setelah penambahan sedikit akuades dan 15 ml NaOH 50 persen. Sebagai penampung digunakan 25 ml HCl 0.02 N dan dua tetes indikator metil biru. Hasil destilasi dititrasi dengan larutan NaOH 0,02 N. Prosedur blanko ditetapkan seperti di atas tanpa menggunakan bahan yang dianalisa. Kadar protein dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar protein} = \frac{a \times N \times 14 \times 6.25}{\text{mg contoh}} \times 100\%$$

Di mana a : selisih volume NaOH yang digunakan untuk titrasi blanko dan contoh

N : Normalitas larutan NaOH

5. Penentuan Kadar Lemak

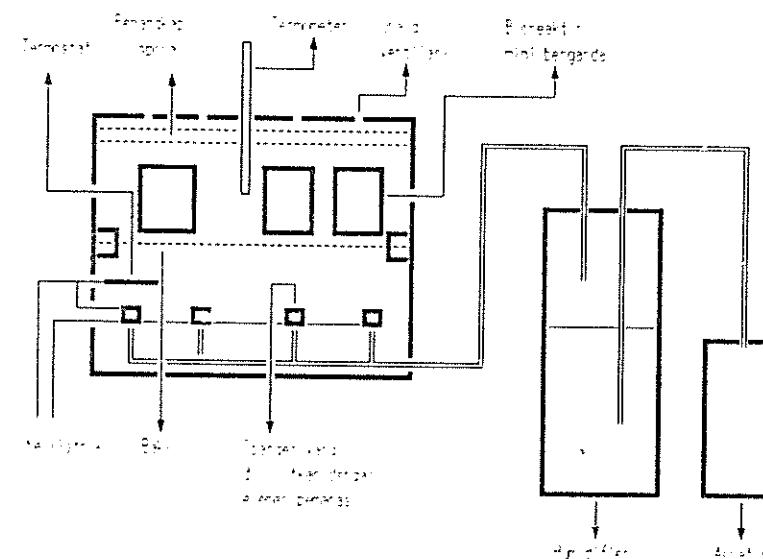
Sebanyak 5 - 10 gram contoh dibungkus di dalam kertas saring (yang telah ditimbang bobot keringnya) yang dibuat seperti kantong. Bungkusan kertas saring kemudian dikeringkan dalam oven sampai bobotnya konstan. Bungkusan kemudian dimasukkan ke dalam tabung soxhlet dan diekstrak dengan hexan sampai minimal 60 kali refluks setelah itu dikeringkan sampai hexan yang tersisa pada kantong



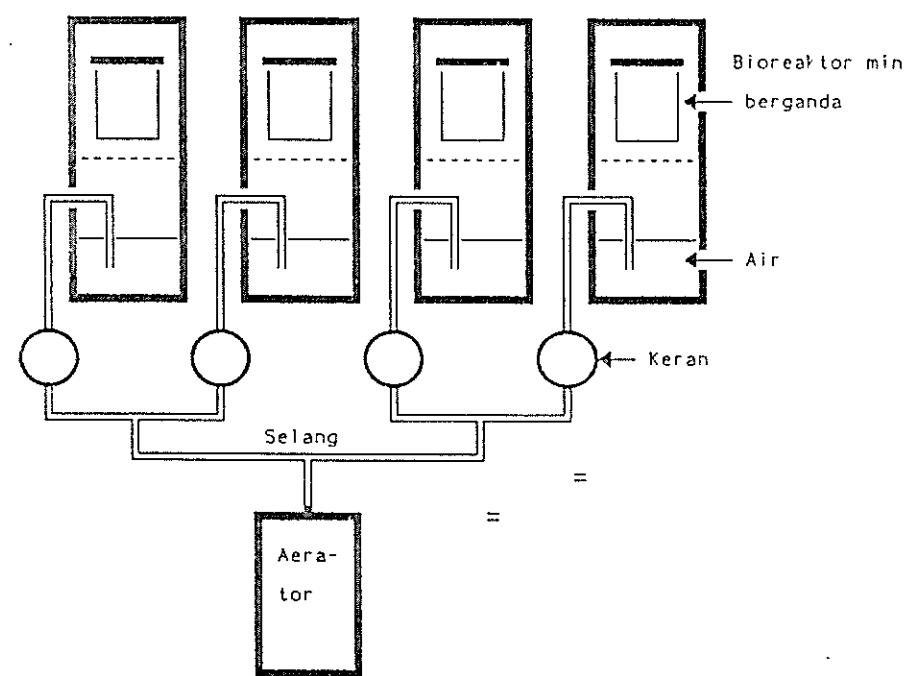
60 kali refluks setelah itu dikeringkan sampai hexan yang tersisa pada kantong menguap. Kadar lemak dihitung sebagai selisih bobot awal setelah pengeringan dan setelah ekstraksi.



Lampiran 5. Rancang Bangun bioreaktor kultivasi media padat



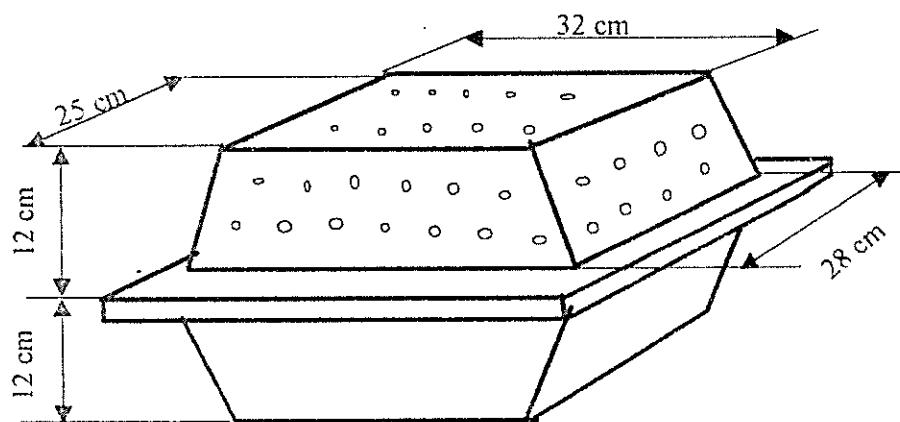
Skema bioreaktor baki modifikasi dari bioreaktor baki Gumbira-Said (1992)



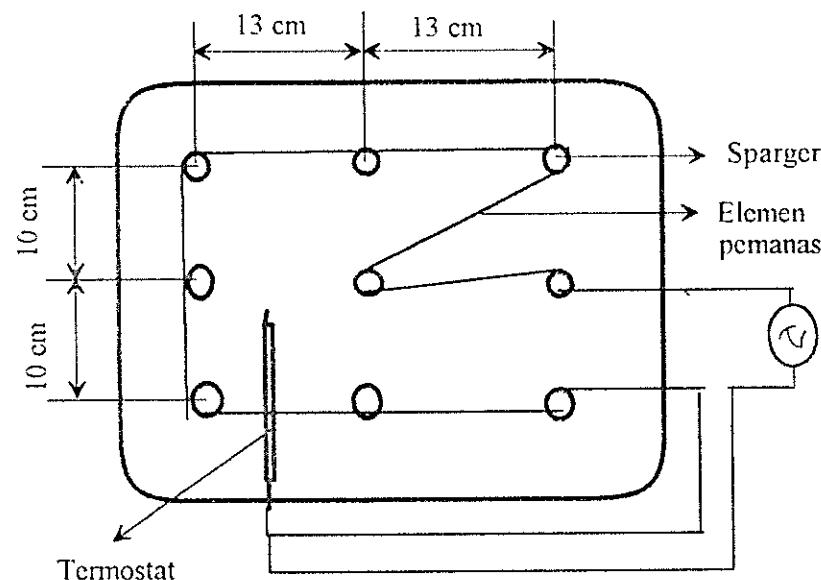
Skema bioreaktor untuk pengujian laju aerasi, modifikasi dari bioreaktor Sartorius yang digunakan oleh Gumbira-Said, 1992



Lampiran 5. Lanjutan



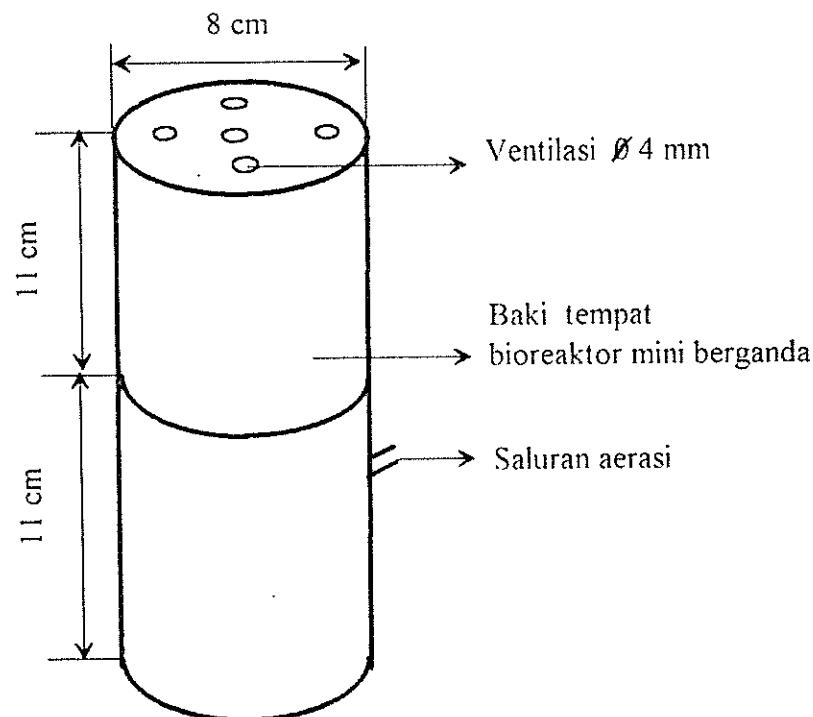
Bentuk tiga dimensi bioreaktor baki 1



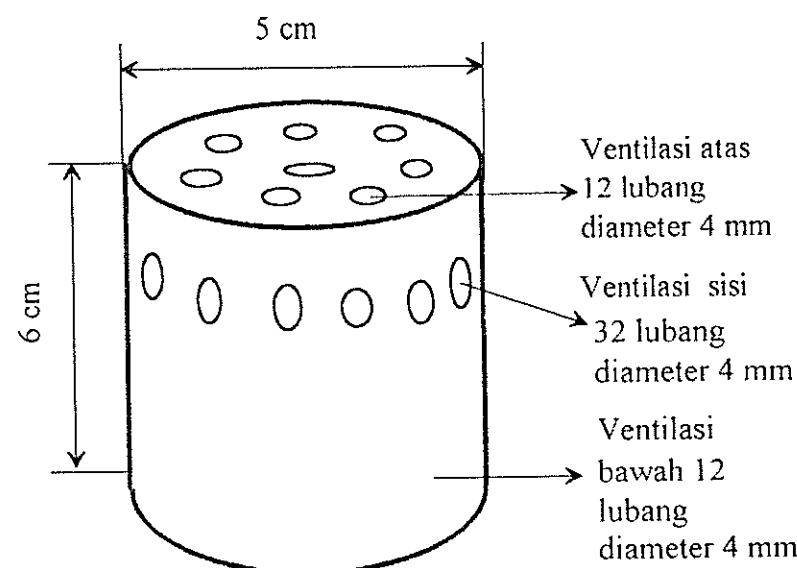
Penampang bagian bawah bioreaktor baki



Lampiran 5. Lanjutan



Gambar tiga dimensi bioreaktor untuk pengujian laju aerasi



Gambar tiga dimensi bioreaktor mini berganda

Lampiran 6.

Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi *A. niger* pada media dedak gandum dengan media pemerkaya formula Rivera-Munoz *et al.* (1991) dan basal (formula Rapp dan Backhaus, 1992).

Data dari kultivasi dengan menggunakan media pemeriksa formula River-Munoz

Waktu kultivasi	log. penurunan bobot media	pH lipase	aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
16					
24	0,19				
49	0,8	5,81	4,19	0,48	8,73
72	0,88	6,3	4,92	0,785	6,27
96	0,96	6,68	4,98	1,384	3,6
121	1,01	6,79	3,65	1,239	2,94
146	1,05	6,83	2,96	1,281	2,26
170	1,09	6,92	3,12	1,281	2,43

Data dari kultivasi dengan menggunakan media pemeriksa basal

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
16	-0,61				
24	0,27				
49	0,8	6,09	4,46	0,637	7
72	0,89	6,43	5,18	0,761	6,81
96	0,96	6,63	5,12	1,345	3,81
121	1,02	6,76	4,89	1,306	3,74
146	1,06	6,78	4,24	1,578	2,69
170	1,11	6,83	9,47	1,448	2,4

Lampiran 8. Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi *A. niger* pada penambahan protein, dengan penambahan urea 4 %, pepton 3 % dan susu skim 3 % (b/v media pemeriksa).

Data dari kultivasi pada media tanpa penambahan protein

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
14	-0,21				
25	0,32	5,8	0,17	0,663	0,26
49	0,77	6,23	4,12	0,67	6,15
72	0,86	6,33	6,18	1,132	5,46
96	0,92	6,51	5,85	1,610	3,63
120		6,37	3,86	1,505	2,56
144	0,98	6,73	3,99	1,672	2,39

Data dari kultivasi pada media dengan penambahan urea 4 %

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
14	-0,29				
25	0,38	7,97	0,33	1,055	0,31
49	0,79	7,22	4,35	1,758	2,47
72	0,87	6,71	5,47	1,568	3,49
96	0,92	6,65	5,39	1,705	3,16
120		6,64	4,77	1,638	2,91
144	0,97	7,07	4,9	1,6	3,06

Lampiran 8. Lanjutan

Data dari kultivasi pada media dengan penambahan pepton 3 %

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik (U/mg)
14	-0,18				
25	0,41	5,61	0,89	0,598	1,49
49	0,8	6,39	5,77	1,69	3,4
72		6,47	6,03	1,829	3,36
96	0,92	6,56	5,94	1,689	3,52
120		6,5	4,9	1,607	3,05
144	0,99	6,69	5,3	1,847	2,87

Data dari kultivasi dengan penambahan susu skim 3 %

Waktu kultivasi (jam)	log pertumbuhan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
14	-0,22				
25	0,3	5,02	0,37	0,385	0,96
49	0,74	6,01	4,31	0,96	4,49
72	0,83	6,23	6,16	1,339	4,6
96	0,89	6,58	5,74	1,851	3,1
120		6,61	4,77	1,854	2,57
144	0,98	6,82	3,31	1,864	1,77



Lampiran 9. Nilai logaritmik penurunan bobot media; pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi *A. niger* pada media dedak gandum yang menggunakan media pemerkaya basal dengan penambahan unsur kelumit dan penambahan Na-sitrat dan tanpa penambahan keduanya.

Data dari kultivasi pada media basal

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
11	-0,52				
26	0,35	5,55	1,25	0,643	1,9
50	0,76	5,93	4,76	0,876	6,13
72	0,88	6,26	6,14	1,132	5,42
96	0,96	6,49	5,16	1,372	3,76
120	1,01	6,55	3,91	1,207	3,53
145	1,05	6,61	3,45	1,286	2,68

Data dari kultivasi pada media basal dengan penambahan unsur kelumit

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
11	-0,41				
26	0,45	5,46	1,36	0,72	1,89
50	0,78	6,04	5,19	1,07	4,8
72	0,88	6,21	6,31	1,319	5,46
96	0,96	6,27	5,95	1,409	4,22
120	1	6,56	4,25	1,207	3,52
145	1,05	6,65	3,39	1,445	2,35



Lampiran 9. Lanjutan

Data dari kultivasi pada media basal dengan penambahan Na sitrat

Waktu kultivasi (jam)	log penurunan bobot media	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
11	-0,45				
26	0,41	5,85	1,47	0,734	2
50	0,73	6,16	4,75	1,072	4,43
72	0,83	6,32	6,24	1,054	5,92
96	0,91	6,53	5,22	1,461	3,57
120	0,97	6,6	4,09	1,173	3,49
145	1,01	6,7	3,01	1,516	1,98

Lampiran 10. Nilai pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari hasil kultivasi *A. niger* pada media dedak gandum dengan ketebalan 1, 2, 3 dan 4 cm.

Data dari kultivasi pada media dengan ketebalan 1 cm

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	4,75	,21	0,655	0,32
48	5,58	4,26	0,913	4,66
72	6,04	4,55	1,415	3,21
96	5,97	5,9	1,182	4,99
120	6,31	5,94	1,115	5,33
144	6,69	6,13	0,880	6,79

Data dari kultivasi pada media dengan ketebalan 2 cm

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	4,19	0,18	0,697	0,26
48	5,65	5,9	0,928	6,36
72	5,8	6,27	1,306	4,8
96	6,2	5,86	1,637	3,96
120	6,02	6,81	1,478	4,6
144	6,29	5,96	1,489	4,00

Lampiran 10. Lanjutan

Data dari kultivasi pada media dengan ketebalan 3 cm

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	4,06	0,04	0,709	0,06
48	5,67	5,9	1,015	5,81
72	6,14	6,83	1,585	4,3
96	6,24	5,69	1,669	3,41
120	6,19	5,13	1,603	3,18
144				

Data dari kultivasi pada media dengan ketebalan 4 cm

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	4,58	0,22	0,582	0,37
48	5,75	5,92	0,929	6,37
72	6,25	6,93	1,438	4,82
96	6,37	5,47	1,436	3,81
120	6,5	4,35	1,321	3,29
144	6,6	2,51	1,131	2,22

Lampiran 11. Nilai pH, aktivitas, kadar protein dan aktivitas spesifik lipase hasil dari kultivasi *A. niger* pada media dedak gandum dengan tanpa aerasi tambahan, 0,017; 0,033 ; dan 0,069 l/menit/g media padat.

Data dari kultivasi tanpa aerasi tambahan

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	3,69	0	0,409	0
48	5,56	6,7	1,048	6,39
72	5,86	10	1,311	7,63
96	6,32	8,44	1,842	4,58
120	6,67	4,06	1,908	2,13

Data dari kultivasi yang diaerasi dengan laju 0,017 l/menit/g media padat

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	3,51	0	0,406	0
48	5,7	7,83	1,041	7,52
72	6,08	8,4	1,366	6,15
96	6,55	7,57	1,809	4,18
120	6,5	4,97	2,062	2,41

Lampiran 11. Lanjutan

Data dari kultivasi yang diaerasi dengan laju 0,033 l/menit/g media padat

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	3,69	0,3	0,429	0,7
48	5,82	7,77	1,018	7,63
72	6,02	10,01	1,306	7,66
96	6,5	8,19	1,835	4,46
120	6,52	4,03	2,14	1,88

Data dari kultivasi yang diaerasi dengan laju 0,069 l/menit/g media padat

Waktu kultivasi (jam)	pH lipase	Aktivitas lipase tiap ml (U/ml)	K. protein lipase (mg/ml)	Aktivitas spesifik lipase (U/mg)
24	3,65	0	0,448	0
48	5,65	6,91	1,076	6,42
72	6,01	8,36	1,386	6,02
96	6,36	8,86	1,764	5,02
120	6,63	3,72	1,983	1,87