

PRODUKSI LIPASE *Aspergillus sp.* DENGAN TEKNIK IMOBILISASI

Lilis Nuraida, Sugiyono, Didah Nur Faridah, Nurheni Sri Palupi¹⁾

Salah satu enzim yang mempunyai peranan besar dalam industri pangan dan pengolahan pangan adalah enzim lipase. Lipase (triasilgliserol hidrolase) adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis trigliserida menjadi digliserida, monogliserida, gliserol dan asam lemak. Penggunaan lipase yang semakin luas mendorong industri enzim untuk memproduksi lipase secara komersial. Oleh karena itu, perlu dicari sumber yang potensial dan teknik yang efektif untuk memproduksi lipase.

Produksi lipase dengan menggunakan teknik imobilisasi sel menawarkan berbagai keuntungan diantaranya adalah sel mudah dipisahkan dan dapat digunakan secara berulang. Jenis penyangga yang digunakan akan mempengaruhi pertumbuhan mikroba termasuk metabolismenya. Berbagai jenis matriks penyangga seperti spons, alginat, dan kacang-kacangan telah banyak digunakan untuk mengimobilisasi sel.

Saat ini pengembangan produksi lipase mikrobial telah banyak dilakukan. Salah satunya adalah dengan menggunakan fermentor. Penggunaan fermentor diharapkan dapat memberi kondisi lingkungan yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Kondisi lingkungan tersebut antara lain suhu, pH, oksigen terlarut, dll.

Beberapa tujuan khusus penelitian ini secara rinci adalah (1) mempelajari konsentrasi sumber nitrogen dan konsentrasi induser yang optimum untuk produksi lipase, (2) mempelajari metode imobilisasi dengan berbagai jenis matriks penyangga untuk mengimobilisasi *Aspergillus sp.* dalam rangka memproduksi lipase dengan teknik imobilisasi, (3) melakukan pemakaian berulang sel terimobilisasi dengan matriks penyangga terpilih untuk produksi lipase, (4) mempelajari pengaruh pre-inkubasi pada sel imobil, (5) mempelajari kondisi optimum untuk produksi lipase dalam skala fermentor, yang meliputi waktu fermentasi dan kecepatan agitasi, (6) mengetahui waktu optimum produksi lipase pada sel terimobilisasi dengan matriks penyangga spons menggunakan fermentor, dan (7) mempelajari pemakaian berulang sel terimobilisasi dengan matriks penyangga spons untuk produksi lipase menggunakan fermentor.

Pada optimasi konsentrasi sumber nitrogen untuk media, aktivitas hidrolisis lipase ekstraselular *Aspergillus sp.* tertinggi diperoleh dari medium fermentasi proteose pepton 2.5 % yaitu sebesar 2397.28 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$ dan medium fermentasi ekstrak khamir 2.0 %, yaitu sebesar 26 703.71 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Pada optimasi induser (minyak sawit), aktivitas hidrolisis lipase tertinggi pada medium fermentasi proteose pepton 2.5 % diperoleh dengan penambahan konsentrasi minyak sawit 2.0 %, yaitu sebesar 32718.26 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Sedangkan aktivitas hidrolisis lipase tertinggi pada

¹⁾ Staf Pengajar Departemen Teknologi Pangan dan Dizi, Fakultas IPB

medium fermentasi ekstrak khamir 2.0 % diperoleh dengan penambahan konsentrasi minyak sawit 3.0 %, yaitu sebesar 65 555.56 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$.

Matriks penyangga spons yang optimum untuk digunakan dalam mengimobilisasi *Aspergillus sp.* adalah yang berukuran 0.5 x 0.5 x 0.5 cm karena enzim lipase yang dihasilkan memiliki aktivitas hidrolisis tertinggi, yaitu sebesar 662.65 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Pada sel yang diimobilisasi dengan spons berukuran 0.5 x 0.5 x 0.5 cm, waktu fermentasi yang optimum untuk menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas hidrolisis tertinggi adalah 6 hari, yaitu sebesar 1297.25 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Sedangkan pada sel bebas, waktu fermentasi yang optimum untuk menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas hidrolisis tertinggi adalah 4 hari, yaitu sebesar 1857.79 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$.

Media produksi yang sesuai untuk *Aspergillus sp.* yang diimobilisasi dengan alginat adalah media produksi menurut Jenie (1990) yang telah dimodifikasi dengan menambahkan proteose pepton dan mengganti sukrosa dengan minyak sawit. Komposisi media pertumbuhan tersebut terdiri dari 0.02% KH_2PO_4 , 0.03% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02% NH_4NO_3 , 0.00001% $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.000025% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2% protease pepton dan minyak sawit dengan konsentrasi 2% serta dilakukan penambahan CaCl_2 sebanyak 0.01%.

Aktivitas hidrolisis enzim lipase ekstraseluler yang diperoleh dari *Aspergillus sp.* terimobil yang tertinggi adalah pada konsentrasi alginat 3,5% yaitu sebesar 2291.22 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Pada waktu fermentasi 2 hari diperoleh aktivitas hidrolisis *Aspergillus sp.* tertinggi, yaitu sebesar 1407.80 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Namun waktu fermentasi yang digunakan adalah 6 hari fermentasi karena kadar protein terendapkan yang dihasilkan selama 2 hari fermentasi pada sel terimobil sangat kecil. Aktivitas hidrolisis enzim lipase dari *Aspergillus sp.* terimobil pada 6 hari fermentasi adalah sebesar 840.35 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$.

Hasil pengukuran aktivitas hidrolisis pada sel yang diimobilisasikan pada tiga jenis kacang menunjukkan bahwa aktivitas hidrolisis tertinggi dihasilkan oleh kacang merah, yaitu sebesar 29 387.58 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas hidrolisis menunjukkan bahwa aktivitas sel terimobilisasi tertinggi dihasilkan pada waktu fermentasi 4 hari, yaitu sebesar 28 688.52 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$.

Kajian pemakaian berulang menunjukkan bahwa sel yang diimobilisasi dengan spons berukuran 0.5 x 0.5 x 0.5 cm dengan waktu fermentasi 6 hari dapat digunakan sampai pemakaian ke-2. Aktivitas hidrolisis enzim lipase yang dihasilkan pada pemakaian pertama dan pemakaian kedua ke-2 masih stabil, yaitu sebesar 1123.72 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$ dan 994.51 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Sel yang diimobilisasi dengan alginat 3.5% dengan waktu fermentasi 6 hari hanya dapat digunakan sampai pemakaian pertama karena setelah itu gel Ca-alginat yang digunakan

menjadi hancur. Aktivitas hidrolisis enzim lipase yang dihasilkan pada pemakaian pertama adalah sebesar 487.30 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Sel yang diimobilisasi dengan kacang merah dengan waktu fermentasi 4 hari juga hanya dapat digunakan sampai pemakaian pertama karena setelah itu kacang merah yang digunakan menjadi hancur. Aktivitas hidrolisis enzim lipase yang dihasilkan pada pemakaian pertama sebesar 21029.46 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$.

Perpendekan waktu fermentasi menjadi 4 hari ternyata tidak dapat mempertahankan kestabilan sel imobil dan aktivitas hidrolisis enzim lipase yang dihasilkannya. Sel imobil hanya dapat digunakan sampai 1 kali pemakaian untuk menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas yang tinggi. Aktivitas hidrolisis enzim lipase yang dihasilkan mengalami penurunan setelah pemakaian pertama.

Tahap pre-inkubasi yang telah dilakukan dengan penambahan *potato dextrose broth* (PDB) kepada sel tidak dapat meningkatkan aktivitas hidrolisis enzim lipase yang dihasilkannya. Secara keseluruhan, aktivitas hidrolisis enzim lipase yang paling tinggi dihasilkan oleh tanpa penambahan PDB pada waktu fermentasi 3 hari.

Kecepatan agitasi yang optimum untuk digunakan dalam produksi enzim lipase ekstraseluler oleh *Aspergillus sp.* dengan menggunakan fermentor kapasitas 2 liter adalah 150 rpm. Hal ini ditunjukkan oleh aktivitas hidrolisis enzim lipase ekstraseluler yang paling tinggi, yaitu 1604.49 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$. Aktivitas yang tertinggi tersebut dicapai pada waktu fermentasi 3 hari.

Optimasi waktu fermentasi dengan teknik imobilisasi pada produksi lipase skala 1 liter menghasilkan bahwa aktivitas hidrolisis lipase yang tertinggi, terjadi pada waktu fermentasi empat hari, yaitu 1709.28 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$.

Pada pemakaian berulang sel imobil dalam produksi lipase menggunakan fermentor skala 1 liter, diperoleh bahwa aktivitas hidrolisis enzim lipase tertinggi dihasilkan pada pemakaian pertama yaitu sebesar 1554.73 $\mu\text{mol ALB/g protein}$. Aktivitasnya menurun pada pemakaian kedua yaitu sebesar 968.09 $\mu\text{mol ALB/g protein menit}$ dan mengalami penurunan yang sangat tinggi pada pemakaian ketiga yaitu sebesar 169.62 $\mu\text{mol ALB/g protein}$.