

PENGARUH PENAMBAHAN LEMAK SAPI SEBAGAI PENGINDUKSI LIPASE TERHADAP JUMLAH *Aspergillus niger*, AKTIVITAS DAN PRODUKSI LIPASE

The Effect of Tallow As Lipase Inducer on Total of Aspergillus Niger, Lipolytic Activity and Lipase Yield

Manik Eirry Sawitri¹, Abdul Manab¹, Khotibul Umam Al Awwaly¹ dan Rista Nur Dinatingtyas²

¹Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

²Alumni Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

diterima 17 Februari 2010; diterima pasca revisi 11 Juli 2011
Layak diterbitkan 1 Agustus 2011

ABSTRACT

The objectives of this research was to determined of tallow addition with different concentration as lipase Aspergillus niger inducer to total of A. niger, lipolytic activity and lipase yield. The result showed that tallow addition as inducer in the lipase A. niger production gave no significant effect on total of A. niger ($5.3 \times 10^7 - 1.7 \times 10^8$ cfu/gram) in the medium. Tallow addition gave a highly significant effect on lipolytic activity and yield of lipase A. niger. Lipolytic activity ranged between 32.0354 – 53.1197 U/mg protein, while the yield of lipase was 6.6418–7.8941 µg/ml. The conclusion of this research was the addition of tallow for 8% as the lipase inducer of A. niger on lipase production was more effective to obtain the optimal result.

Keywords : Tallow, lipase, inducer, Aspergillus niger

PENDAHULUAN

Enzim merupakan katalisator dari suatu sistem biologi yang dapat mengkatalisis suatu reaksi secara spesifik. Penggunaan enzim ditujukan untuk peningkatan nilai ekonomis produk, peningkatan mutu produk, peningkatan citarasa dan aroma. Suhartono (2000) menyatakan bahwa pengguna utama enzim adalah industri pangan (45%), detergen (34%), tekstil (11%), kulit (3%), pulp dan kertas (1,5%), serta bidang diagnostik dan medis (5,5%). Peningkatan kuantitas enzim yang diperdagangkan mencapai 10-15 %

per tahun. Pertumbuhan ini dimungkinkan dengan meningkatnya produk enzim baru dan jenis aplikasinya berkaitan dengan meningkatnya era industrialisasi.

Lipase adalah enzim yang bekerja dalam hidrolisis lemak dan minyak, secara fisiologi enzim tersebut mempunyai peranan penting dalam pencernaan intraluminal trigliserida suatu bahan pangan karena aktivitas molekulnya yang tinggi (Muchtadi dkk., 1992). Enzim lipase dapat diperoleh dari beberapa jaringan mamalia, bahan-bahan nabati dan mikroorganisme.

Aspergillus niger merupakan salah satu kapang penghasil lipase yang paling

banyak diketahui (Fallony et al., 2006). Lipase dari mikroorganisme lebih disukai karena mudah diproduksi dalam skala besar, spesifik dan biaya produksi yang lebih murah (Mala et al., 2001). Produksi enzim lipase dapat menggunakan berbagai substrat di antaranya adalah dedak padi.

Dedak padi merupakan hasil samping dari penggilingan gabah menjadi beras. Dedak mempunyai potensi gizi yang baik karena banyak mengandung komponen tanaman bermanfaat yang biasa disebut sebagai fitokimia, vitamin, mineral, asam amino, asam lemak esensial dan antioksidan (*tocopherol*, *oryzanol* dan *tocotrienol*) (Hariyadi, 2006). Komposisi dedak padi tersebut memungkinkan terdapatnya peluang untuk memanfaatkan dedak padi sebagai substrat dalam produksi lipase *A. niger*.

Bahan penginduksi yang digunakan dalam proses produksi lipase merupakan salah satu substrat yang dapat merangsang pembentukan enzim untuk hasil yang optimal. Pada penambahan minyak zaitun sebanyak 2% pada media SSF diperoleh aktivitas lipase *A. niger* optimum yaitu sebesar 4,8 IU/ml (Fallony et al., 2006). Penambahan minyak zaitun sebanyak 2% dapat meningkatkan aktivitas lipase *A. niger* spesifik sebanyak 51% (Pera et al., 2006). Menurut Mala et al. (2007), penambahan substrat lemak nabati sebanyak 25% pada media SSF dapat meningkatkan aktivitas lipase *A. niger* sebesar 36% dibandingkan dengan media SSF tanpa penambahan lemak nabati. Beberapa hasil penelitian tersebut menjelaskan pentingnya penambahan bahan penginduksi pada produksi lipase, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai berbagai konsentrasi penambahan lemak sapi sebagai bahan penginduksi dalam proses produksi lipase *A. niger*.

MATERI DAN METODE

Bahan Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan *A. niger* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan tiga kali ulangan. Ketiga perlakuan yang dicobakan yaitu P0 (tanpa penambahan lemak sapi); P1 {penambahan 4% lemak sapi (w/w)} dan P2 {Penambahan 8% lemak sapi (w/w)}. Diagram alir produksi ekstrak kasar enzim lipase *Aspergillus niger* disajikan pada Gambar 1.

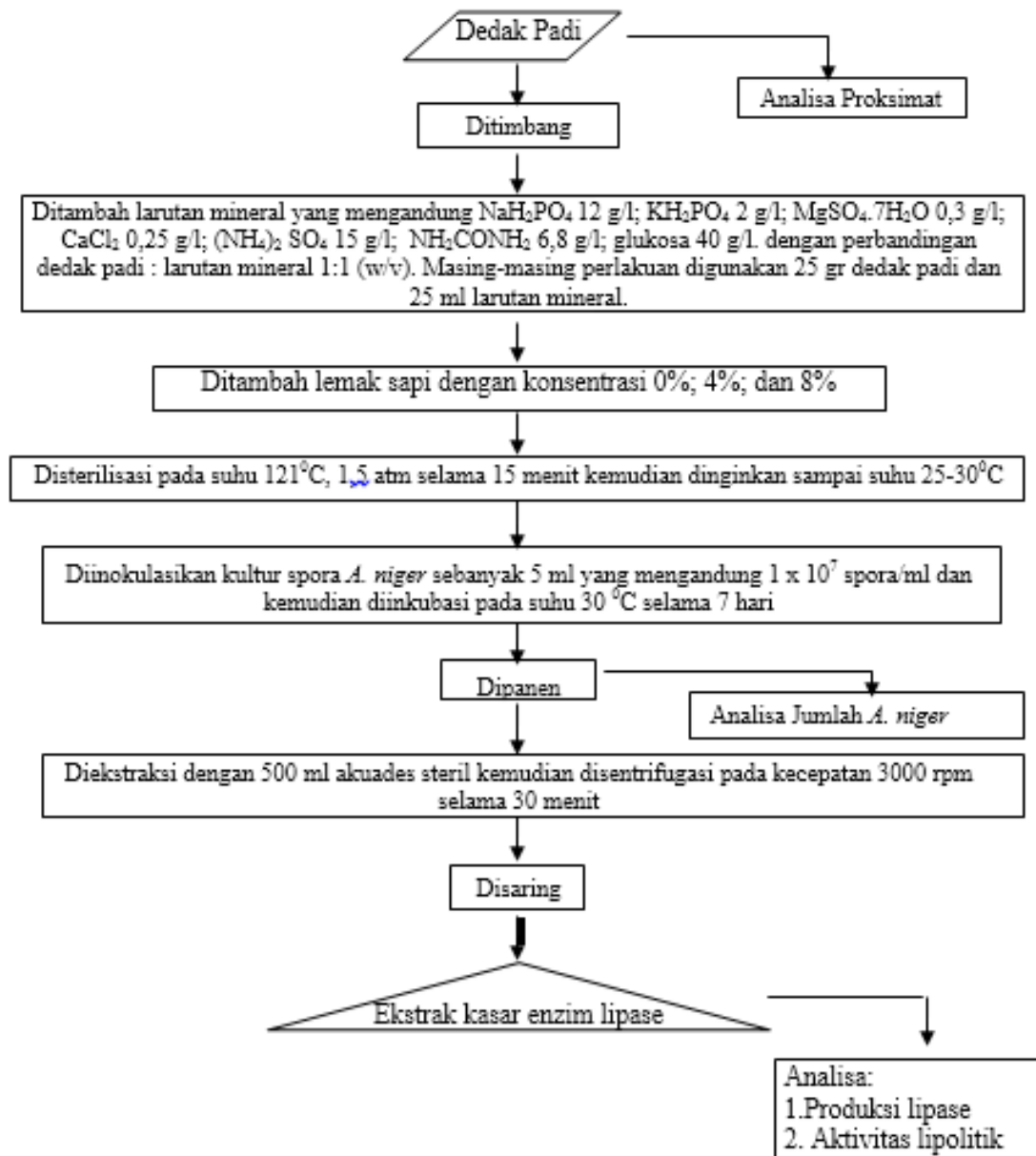
Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang dilakukan meliputi:

- Pengujian jumlah *A. niger* dengan pendekatan metode hitungan cawan menurut Waluyo (2008).
- Pengujian aktivitas lipase menurut Hoffman and Weiss (1980).
- Pengujian produksi lipase menurut Bradford (1979).

Analisa Data

Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam. Apabila antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) (Yitnosumarto, 1993).



Gambar 1. Diagram Alir Produksi Ekstrak Kasar Enzim Lipase *A. niger* (Fallony *et al.*, 2006)

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Penggunaan Lemak Sapi terhadap Jumlah *Aspergillus niger*

Hasil analisis ragam, menunjukkan bahwa penggunaan lemak sapi sebagai penginduksi pada produksi lipase *A. niger*

tidak memberikan pengaruh yang nyata ($P > 0,05$) pada jumlah *A. niger* dalam media fermentasi. Rata-rata jumlah *A. niger* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Jumlah *A. niger* dan Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

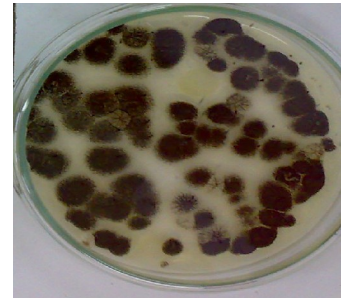
Perlakuan	Jumlah (cfu/gram)
Tanpa penambahan lemak sapi	$5,3 \times 10^7$
Penambahan lemak sapi 4%	$1,7 \times 10^8$
Penambahan lemak sapi 8%	$6,0 \times 10^7$

Data pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa pada hasil pengamatan rata-rata jumlah *A. niger* bervariasi dan cenderung meningkat pada perlakuan penambahan lemak sapi sebanyak 4%, yaitu sebesar $1,7 \times 10^8$ cfu/gram. Jumlah *A. niger* yang bervariasi ini disebabkan oleh perbedaan persentase penambahan lemak sapi pada masing-masing perlakuan. Persentase penambahan lemak sapi yang berbeda ini dapat mempengaruhi ketersediaan asam lemak dan karbon pada media fermentasi, sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan *A. niger*. Putranto dkk., (2006) menyatakan bahwa kapang merupakan mikroorganisme yang 80% kebutuhan substratnya dipenuhi oleh makromolekul yang memiliki rantai karbon.

Lemak sapi sebagai substrat penginduksi merupakan faktor penting bagi pertumbuhan mikroorganisme dan sintesis produk metabolisme. Pada jumlah penambahan lemak sapi yang optimum, mikroorganisme dapat tumbuh dan melakukan metabolisme sebaik-baiknya. Hasil pengamatan terhadap jumlah *A. niger* menunjukkan bahwa penambahan lemak sapi sebagai substrat penginduksi, optimum pada penambahan lemak sapi sebanyak 4%. Lemak pada sapi terdiri dari asam lemak rantai sedang dan rantai panjang (C₁₄-C₁₈). Jay (1992) menyatakan bahwa asam lemak C₁₂₋₁₆ dapat berfungsi sebagai bahan antimikroba. Hal ini menyebabkan semakin banyak penambahan lemak sapi pada media fermentasi dapat menghambat pertumbuhan *A. niger*.

Faktor terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme adalah nilai aktivitas air (Aw) (Purnomo, 1995). Semakin banyak

penambahan lemak sapi dapat menurunkan nilai Aw pada media fermentasi. Anonim (2009) menyatakan bahwa asam lemak tersusun oleh gugus -OH dan -NH₂ yang dapat menyebabkan ikatan hidrogen dengan air sehingga dapat menurunkan nilai Aw. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis terhadap koloni *A. niger* yang tumbuh dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan Makroskopis terhadap Koloni *A. niger*

Pengaruh Penggunaan Lemak Sapi terhadap Aktivitas Lipase *Aspergillus niger*

Hasil analisis ragam, menunjukkan bahwa penggunaan lemak sapi sebagai penginduksi pada produksi lipase *A. niger* memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) pada aktivitas lipase *A. niger*. Rata-rata aktivitas lipase dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Aktivitas Lipase dan Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Aktivitas (U/mg Protein)
Tanpa penambahan lemak sapi	37,3468 ^a
Penambahan lemak sapi 4%	32,0354 ^a
Penambahan lemak sapi 8%	53,1197 ^b

Keterangan: Notasi (a, b) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$)

Hasil pengamatan aktivitas lipase memiliki nilai yang bervariasi dan cenderung menurun pada penambahan lemak sapi sebanyak 4% pada media fermentasi yaitu sebesar 32,0354 U/mg protein. Penurunan aktivitas lipase ini

dimungkinkan karena banyaknya enzim yang terbentuk selain enzim lipase, mengingat mikroorganisme berpotensi memproduksi berbagai jenis enzim ekstraseluler seperti protease, lipase dan amilase.

Aktivitas lipase maksimal diperoleh pada fase stasioner. Pada fase ini hampir seluruh lemak pada media fermentasi telah dikonsumsi oleh *A. niger* dan sudah tidak terjadi pembelahan, jumlah mikroorganisme yang hidup sama dengan mikroorganisme yang mati. Penurunan aktivitas lipase pada penambahan lemak sapi sebanyak 4% juga dapat disebabkan oleh jumlah *A. niger* dalam media fermentasi yang tinggi. Jumlah *A. niger* yang tinggi dapat menyebabkan perebutan nutrisi serta penumpukan metabolit dan produk akhir yang dapat mempercepat fase stasioner. Dhanang (2008) menyatakan bahwa penyebab utama dari fase stasioner adalah ketidakterersediaan nutrisi, penumpukan metabolit dan produk akhir serta kekurangan ruang gerak. Pada penelitian ini aktivitas lipase tertinggi diperoleh pada persentase penambahan lemak sapi sebanyak 8%, yaitu sebesar 53,1197 U/mg protein.

Waktu fermentasi yang digunakan pada penelitian ini adalah selama 168 jam. Semakin banyak penambahan lemak sapi pada medium fermentasi akan menyebabkan bergesernya waktu awal fase stasioner *A. niger*. Dinata (2004) menyatakan bahwa awal fase stasioner pada kapang terjadi antara 66 jam sampai dengan 102 jam waktu fermentasi.

Fallony *et al.*, (2006) menyatakan bahwa produksi lipase pada kultur media dengan penambahan lipid sebagai sumber karbon lebih baik dibandingkan dengan kultur media tanpa penambahan lipid. Aktivitas lipase meningkat dengan adanya penambahan lipid sebagai penginduksi pada media fermentasi. Rahayu (1986) menyatakan bahwa keberhasilan pengujian aktivitas enzim sangat tergantung pada

kondisi sumber enzim, letak, bahan dan cara ekstraksi yang sesuai dengan sifat enzim. Parameter-parameter yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah konsentrasi enzim, pH, suhu, adanya aktivator dan konsentrasi substrat yang digunakan (Hill *et al.*, 2001) serta jenis media uji yang digunakan (Kombong, 2004).

Pengaruh Penggunaan Lemak Sapi terhadap Produksi Lipase *Aspergillus niger*

Hasil analisis ragam, menunjukkan bahwa penggunaan lemak sapi sebagai bahan penginduksi memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) pada produksi lipase *A. niger*. Rata-rata hasil produksi lipase dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Produksi Lipase dan Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Jumlah ($\mu\text{g/ml}$)
Tanpa penambahan lemak sapi	6,6418 ^a
Penambahan lemak sapi 4%	7,8941 ^b
Penambahan lemak sapi 8%	6,6917 ^a

Keterangan: Notasi (a, b) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$).

Lemak sapi merupakan faktor penting dalam produksi lipase oleh *A. niger*, karena mengandung karbon yang dibutuhkan dalam pertumbuhan dan sintesis produk metabolisme oleh *A. niger*. Produksi lipase oleh *A. niger* terjadi ketika 50% kandungan karbon dalam media fermentasi telah dikonsumsi. Hasil pengamatan produksi lipase memiliki nilai yang bervariasi dan cenderung meningkat pada penambahan lemak sapi sebanyak 4% pada media fermentasi, yaitu sebesar 7,8941 $\mu\text{g/ml}$ dan terjadi penurunan pada penambahan lemak sapi sebanyak 8%. Penurunan ini dapat disebabkan oleh kandungan karbon pada media fermentasi lebih banyak pada penambahan lemak sapi sebanyak 8%, sehingga pada waktu

fermentasi 168 jam belum terjadi produksi enzim yang optimal.

Tingginya jumlah produksi lipase pada perlakuan penambahan lemak sapi sebanyak 4% antara lain juga disebabkan oleh mikroorganisme yang berpotensi memproduksi berbagai jenis enzim ekstraseluler seperti protease, lipase dan amilase. Fressner (2000) menyatakan bahwa komposisi medium pada akhirnya mempengaruhi protein apa yang diproduksi di dalam sel, oleh karena itu pemilihan medium untuk enzim tertentu berperan penting untuk menentukan protein yang diinginkan.

Produksi lipase pada penelitian ini diuji menggunakan pengujian protein terlarut. Metode ini mengukur banyaknya protein dalam suatu ekstrak kasar enzim, yaitu larutan yang masih mengandung bahan pengotor yang berasal dari komponen atau senyawa lain di media produksi. Stanbury dan Whitaker (1984) menyatakan bahwa semua enzim adalah protein, tetapi tidak semua protein merupakan enzim sehingga enzim memiliki sifat yang mirip dengan protein. Enzim disintesis oleh sel biologi seluruh organisasi hidup dan terlibat dengan reaksi kimia metabolisme.

Teknik fermentasi juga berpengaruh terhadap jumlah produksi enzim selain dari jenis mikroorganisme penghasil dan bahan penginduksi yang digunakan. Fallony *et al.*, (2006) menyatakan bahwa teknik SSF mempunyai beberapa kelebihan, yaitu lebih ekonomis, media fermentasi lebih sederhana, hasil superior dan tidak memerlukan mesin yang rumit.

KESIMPULAN

Penggunaan lemak sapi optimum diperoleh pada konsentrasi penambahan sebanyak 8% dengan memberikan rata-rata nilai aktivitas lipase tertinggi yaitu sebanyak 53,1197 U/mg protein. Penambahan lemak sapi sebanyak 4% memberikan rata-rata nilai produksi lipase

dan jumlah *A. niger* terbesar yaitu masing-masing sebanyak 7,8941 µg/ml dan $1,7 \times 10^8$ cfu/gram. Penambahan lemak sapi sebanyak 8%

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. Asam Lemak. http://www.yahoo_answer.com/Ilmu_kimia/Trasya.htm. Diakses Tanggal 27 Januari 2009.
- Bradford, M.M. 1979. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Anal. Biochem*, 72: 248-254.
- Dhanang, P. 2008. Pertumbuhan Sel Bakteri. http://www.Multiply.Global.curr_reply_to.id/coretan%20dan%20catatan_%20dhanang%20-%20pertumbuhan%20sel%20bakteri_files/36.htm. Diakses Tanggal 23 Oktober 2008.
- Dinata, D.I. 2004. Mutasi Kapang *Monascus sp.* dengan Etil Metana Sulfonat dan Analisis Kadar Sitrinin Hasil Fermentasi Cair Galur Induk dan Mutannya. Thesis. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Fallony, G., J. C. Armas, J.C.D. Mendoza and J.L.M. Hernandez, 2006. Production of Extracellular lipase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation. *Food Technol. Biotechnol.*, 44 (2): 235-240.
- Fressner, W.D. 2000. Biocatalysis from Discovery to Application. Springer Verlag. Berlin.
- Hariyadi, P. 2006. Padi Tak Selalu Jadi Beras. <http://www.kontan-online.com>. Diakses Tanggal 10 September 2006.

- Hill, C.G., S. Ghannouchi and H.S. Garcia, 2001. Lypolysis of butter oil by immobilized lamb pregastric esterase: I. Uniresponse kinetics-pH and Temperature Effects. *J. Dairy Science*. 84:1034-1043.
- Hoffman, G.E. and L. Weiss. 1980. Spesific Serum Pancreatic Determination, with use of Purified Colipase. *J. Clin. Chem.*, 26 (12): 1731-1733.
- Jay, J.M. 1992. Modern Food Microbiology. 4th edition. Chapman and Hall. New York.
- Kombong, H. 2004. Evaluasi Daya Hidrolitik Enzim Glukoamilase dari Filtrat Kultur *Aspergillus niger*. *J. Ilmu Dasar.*, 5 (1): 16-20.
- Mala, J.G., N.R. Kamini and R. Puvanakrishan. 2001. Strain Improvement of *Aspergillus niger* Enhanced Lipase Production. *J. Gen. Appl. Mikrobiol.*, 47: 181-186.
- Mala, J.G., N.G. Edwinouver, N.R. Kamini and R. Puvanakrishan. 2007. Mixed Substrate Solid State Fermentation for Production and Extraction of Lipase from *Aspergillus niger* MTCC 2594. *J. Gen. Appl. Mikrobiol.* 53: 247-253.
- Muchtadi, D.N., S. Palupi dan M. Astawan. 1992. Enzim Dalam Industri Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pera, L.M., C.M. Romero, M.D. Baigori and G.R. Castro. 2006. Catalytic Properties of Lipase Extracts from *Aspergillus niger*. *J. Food Technol. Biotechnol.* 44(2):247-252.
- Purnomo, H. 1995. Aktivitas Air dan Peranannya dalam Pengawetan Pangan. UI Press. Jakarta.
- Putranto, R.A., D. Santoso, T. Panji, Suharyanto dan A. Budiani. 2006. Karakterisasi Gen Penyandi Lipase dari Kapang *Rhizopus oryzae* dan *Absidia corymbifera*. *J. Menara Perkebunan.*, 74 (1): 23-32.
- Rahayu, K. 1986. Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Stanbury, P. F. and A. Whitaker. 1984. Principles of Fermentation Technology. Pergamon Press Ltd. Oxford.
- Suhartono, M.T. 2000. Protease Rekombinan dari *Bacillus pumilus* Lokal. <http://www.ipb.ac.id/id/?p=66>. Diakses Tanggal 10 September 2006.
- Waluyo, L. 2008. Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Yitnosumarto, S. 1993. Percobaan Perancangan, Analisis, dan Interpretasinya. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.