



prosiding

"PEMANFAATAN BIOMASSA UNTUK PANGAN, ENERGI, DAN BAHAN KIMIA"



ISBN 978-979-98465-6-3

seminar
Teknik Kimia Alupar 2010

22 april 2010



DAFTAR ISI

TKB-01	Rancangbangun Teknologi Tepatguna Biogas Arustiarso <i>Balai Besar Pengembangan Mekanisasi Pertanian Serpong</i>	1
TKB-02	Analisis Karakteristik Dimetileter (DME) Sebagai Pengganti LPG Untuk Bahan Bakar Dengan Sistem “External Combustion” Cahyo S. Wibowo ¹ , Riesta Anggarani ² , dan Lies Aisyah ³ <i>Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi (PPPTMGB) “LEMIGAS”</i>	5
TKB-03	Interaksi antara Biomassa Fitoplankton <i>Chlorella sp.</i> dengan Kromium dalam Medium Air Diah Kusmardini <i>Institut Sains dan Teknologi Al-Kamal</i>	10
TKB-04	Studi Penghilangan Lignin pada Enceng Gondok sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Menggunakan Basa Kuat Eka Sari <i>Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa</i>	17
TKB-05	Studi Produksi Hidrogen dari Konversi Bioetanol Berbahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Kombinasi Reformer dan Membran Eka Sari ¹ , Yusvardi ² , Mochammad Effendi ³ ¹ <i>Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa</i> ² <i>Jurusan Teknik Mesin Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa</i> ³ <i>Jurusan Teknik Kimia, Itats</i>	24
TKB-06	Biokonversi Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Etanol Happy Widiastuti dan Djoko Santoso <i>Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia</i>	35
TKB-07	Pemanfaatan Limbah Kelapa Sawit sebagai Komposit Siti Agustina, Tri Widiyanto, dan Aida Soelaeman <i>Balai Besar Kimia dan Kemasan</i>	38
TKB-08	Pengaruh Pemanfaatan Biodiesel Terhadap Pengurangan Emisi Gas Buang Pada Mesin Generator Maymuchar, Cahyo S Wibowo, dan Dimitri R <i>PPPTMGB “Lemigas”</i>	43
TKB-09	Pemanfaatan Jamur Merang (<i>Volvariella Volvacea</i>) untuk Mendegradasi kandungan Lignin pada Komposting Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dengan Penambahan Aktivator <i>Effective Mikroorganism EM-4</i> Nuniek Hendriani, Rendra Graha* dan S.R. Juliastuti <i>Jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi sepuluh Nopember</i>	47

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian

- TPB-13 **Kajian Peluang Inovasi dan Implementasi Pengembangan Platform Teknologi Bidang Pangan Fungsional di LIPI** 174
Rahmi Lestari Helmi
Pusat Inovasi-LIPI
- TPB-14 **Pengaruh Jenis dan Kadar *Plastisizer* terhadap Permeabilitas Uap Air dan Sifat Mekanik *Edible Film* dari Kitosan** 182
Ratna Ningsih¹, Siti Syamsiah
¹*Jurusan Teknik Kimia Universitas Gadjah Mada*
- TPB-15 **Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* dengan Induser Minyak Goreng Sawit** 189
Sri Wahyu Murni, Siti Diyar Kholisoh, Renaldo Agustian Nugraha, dan Nurul Arifin Saleh Saputra
Program Studi Teknik Kimia UPN "Veteran" Yogyakarta
- TPB-16 **Pertumbuhan dan Interaksi antara *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum* dengan *Escherichia coli* pada Sumber Karbon Berbagai Jenis Pati Sagu** 197
Suyanti, Sri Usmiati dan Endang Yuli Purwani
Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
- TPB-17 **Pengaruh Konsentrasi Dan Jenis Gula Terhadap Sifat Fisiko Kimia Susu Kental Manis Kacang Hijau** 205
Taufik Rahman dan Wawan Agustina
Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna-LIPI
- TPB-18 **Pengaruh Cara Dan Jenis Kemasan Terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Pisang Goreng Instan** 211
Thomas Indarto Putut Suseno¹, Yayuk Trisnawati², dan Suwito Suryomulyono Liemoh³
¹*Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya*
² *Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya*
³*Alumni Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya*
- TPB-19 **Optimasi Produksi Tepung Lidah Buaya (*Aloe vera*) dari Skala Pilot ke Skala Industri** 220
Tri Yuni Hendrawati
Program Studi Teknik Kimia Institut Sains dan Teknologi Al Kamal
- TPB-20 **Characteristics of α -Amylase From Local Soybean Sprouts** 229
Melody Angela Mary Gani¹, Maggy T Suhartono², dan Julia Ratna Wijaya³
¹*Alumni of Food Technology Department Universitas Pelita Harapan*

Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* dengan Induser Minyak Goreng Sawit

**Sri Wahyu Murni, Siti Diyar Kholisoh, Renaldo Agustian Nugraha,
dan Nurul Arifin Saleh Saputra**

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, UPN "Veteran" Yogyakarta
Jl. SWK 104 (Lingkar Utara), Condong Catur, Yogyakarta 55283, Telp./Fax. +62-274-486889
E-mail: wahyuswm@yahoo.com, diyar.kholisoh@upnyk.ac.id, renaldoagustian_121050088@yahoo.com,
dan arie_zokam@yahoo.com

Abstrak

Proses hidrolisis minyak atau lemak yang menghasilkan asam lemak dan gliserol merupakan salah satu gerbang yang menjembatani industri minyak nabati dan industri oleokimia. Alternatif proses yang dewasa ini sedang banyak dikembangkan adalah hidrolisis pada suhu dan tekanan rendah dengan katalis enzim lipase. Mengingat banyaknya manfaat dan tingginya nilai ekonomi enzim lipase, maka enzim ini layak untuk diproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi enzim lipase dari jamur *Aspergillus niger* dan menentukan kondisi optimumnya sehingga dihasilkan enzim dengan aktivitas tinggi. Enzim lipase diproduksi melalui proses fermentasi secara batch dalam fermentor bervolume kerja 1,4 liter. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dan pH awal 7. Variabel proses yang dipelajari meliputi konsentrasi induser (1-5 %-berat), laju aerasi (0,5-1,5 vvm), dan laju putaran pengadukan (150-350 rpm). Hasil fermentasi selanjutnya diuji aktivitas enzim lipase, berat kering sel, dan kandungan protein terlarutnya. Penelitian ini dilakukan melalui rancangan percobaan faktorial 2^3 dengan 3 titik data tambahan. Hasil-hasil percobaan menyimpulkan bahwa enzim lipase dapat diproduksi dari *Aspergillus niger* melalui proses fermentasi dengan induser minyak goreng sawit. Kondisi optimum proses dicapai pada konsentrasi induser (X_1), laju aerasi (X_2), dan laju putaran pengadukan (X_3) masing-masing sebesar 3 %-berat, 1 vvm, dan 250 rpm. Laju aerasi merupakan variabel yang teramati paling berpengaruh terhadap proses. Pemanenan yang dilakukan pada kondisi optimumnya menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas dan aktivitas spesifik masing-masing sebesar 1,5 U/ml dan 0,2817 U/mg protein.

Kata Kunci: Aktivitas enzim, *Aspergillus niger*, enzim lipase, hidrolisis, induser

Abstract

Hydrolysis reaction of oil or fat to produce fatty acid and glycerol is one of two main pathways for oleochemical industries. Nowadays an alternative process at low temperature and pressure by using lipase enzyme is widely and potentially applied, whereas the enzyme still highly costs. Such facts encourage many researches for producing the enzyme. This research was aimed to produce lipase enzyme by *Aspergillus niger* fungi and palm oil as an inducer and also determine the optimum condition yielding high activity of lipase. This study for producing lipase was conducted in a 1.4 liter-batch fermenter at room temperature and initial pH of 7. Process conditions varied included inducer concentration (1-5 %-w), aeration rate (0,5-1,5 vvm), and agitation rate (150-350 rpm). The fermentation product was therefore tested its enzyme activity, cell dry weight, and soluble protein content. This research was investigated through a 2^3 factorial experimental design with 3 added runs. This work concluded that lipase could be produced by *Aspergillus niger* and palm oil as an inducer through a fermentation process. The optimum condition was obtained at inducer concentration (X_1), aeration rate (X_2), and agitation rate (X_3) of 3 %-w, 1 vvm, and 250 rpm, respectively. The effect of aeration rate was the most dominantly observed on this process. The harvesting on its optimum condition successfully produced lipase at its activity and specific activity of 1,5 U/ml and 0,2817 U/mg protein, respectively.

Keywords: *Aspergillus niger*, enzyme activity, hydrolysis, inducer, lipase enzyme.

Pendahuluan

Indonesia memiliki potensi yang besar dalam menghasilkan minyak-minyak nabati, seperti minyak kelapa, minyak sawit, minyak jarak, dan lain-lain. Sebagai contoh, pada tahun 2008, volume ekspor minyak sawit Indonesia bahkan sudah melebihi konsumsi dalam negeri. Produksi minyak sawit mencapai 18,8 juta ton, dengan 4,5 juta ton untuk kebutuhan industri dalam negeri dan 12,5 juta ton untuk diekspor ke luar negeri (PT Perkebunan Nusantara, 2008). Selain merupakan bahan pangan, minyak nabati juga merupakan bahan baku industri oleokimia. Sebagai bahan baku industri oleokimia, minyak atau lemak harus dipecah terlebih dahulu menjadi asam lemak dan gliserol sebelum diolah menjadi berbagai bahan kimia lain. Proses pemecahan minyak yang dikenal dengan proses hidrolisis ini pada umumnya berlangsung dengan uap air (atau *steam*) pada suhu dan tekanan tinggi, yaitu 240-250°C dan tekanan 45-50 bar. Kondisi operasi tersebut mengakibatkan investasi peralatan menjadi relatif besar. Selain itu, proses ini memerlukan energi yang cukup besar, asam lemak yang dihasilkan pada umumnya berwarna coklat, serta berakibat pada rusaknya komponen-komponen minor yang terkandung di dalam minyak, misalnya β -karoten.

Alternatif proses yang dewasa ini sedang banyak dikembangkan adalah melakukan hidrolisis pada suhu dan tekanan rendah, yang dalam hal ini menggunakan katalis enzim lipase. Proses ini memerlukan energi yang relatif rendah dan aman bagi lingkungan kerja, karena bekerja pada suhu kamar dan tekanan atmosferik. Di samping itu, produk yang dihasilkan mempunyai kualitas yang relatif lebih baik dibandingkan produk sejenis yang dibuat dengan proses kimia atau fisika, karena relatif tidak terjadi kerusakan akibat pemanasan pada suhu tinggi. Namun demikian, sampai saat ini pemanfaatan lipase secara komersial masih sangat sedikit karena mahalnya harga lipase. Menurut Kao Corporation (2004), harga lipase impor relatif sangat mahal. Sebagai contoh, harga lipase dengan merk dagang *Lipozyme IM*, *BIO-lipase*, dan *Lipolase* mencapai 25 juta rupiah per kg.

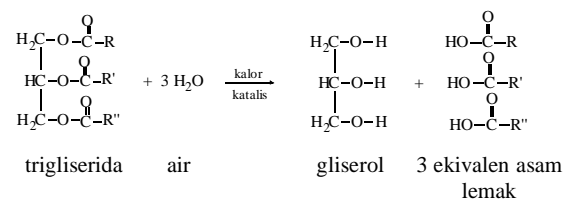
Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian untuk memproduksi enzim lipase, mengingat peluangnya yang besar untuk dimanfaatkan di dalam industri minyak atau lemak. Produksi enzim lipase menggunakan mikroba merupakan cara yang paling banyak dilakukan. Salah satu mikroba yang potensial sebagai penghasil lipase ekstraseluler adalah jamur *Aspergillus niger*. Produksi enzim lipase juga dipengaruhi oleh minyak dan lemak sebagai induser. Pada penelitian ini minyak goreng sawit digunakan sebagai induser karena ketersediaannya yang melimpah di Indonesia sehingga harganya relatif murah.

Pembentukan enzim lipase dari mikroba sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya, yaitu

induser, pH, suhu, pengadukan, dan aerasi. Induser diperlukan agar mikroba dapat mensintesis enzim, pH dan suhu berpengaruh terhadap kemampuan sel untuk mensintesis enzim, serta pengadukan diperlukan untuk mempercepat laju transfer massa fasa-fasa yang ada dalam kultur pertumbuhan. Aerasi diperlukan untuk mensuplai oksigen, karena *Aspergillus niger* bersifat aerobik. Dengan demikian, optimasi terhadap faktor-faktor tersebut perlu dilakukan. Penelitian ini dilakukan melalui kajian eksperimental dengan tujuan mempelajari produksi enzim lipase dari jamur *Aspergillus niger* dengan induser minyak goreng sawit, serta mengevaluasi pengaruh variabel proses pada fermentasi produksi enzim lipase, yang meliputi konsentrasi induser, laju aerasi, dan kecepatan pengadukan.

Tinjauan Pustaka

Enzim Lipase. Enzim lipase merupakan salah satu jenis enzim hidrolase. Enzim ini menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak, gliserida parsial, dan gliserol. Reaksi hidrolisis trigliserida bersifat reversibel, maka lipase juga mengkatalisis reaksi esterifikasi. Jenis-jenis reaksi yang dikatalisis lipase meliputi hidrolisis ester, sintesis ester, asidolisis, alkoholisis, dan interesterifikasi. (Gandhi, 1997). Berikut ini adalah reaksi hidrolisis lemak/minyak:



Enzim lipase banyak digunakan pada industri pangan maupun non-pangan. Aplikasi pada industri pangan di antaranya adalah industri susu untuk hidrolisis lemak susu, pengolahan daging dan ikan untuk meningkatkan kualitas telur dengan jalan hidrolisis lemak, serta industri kimia dan farmasi untuk transesterifikasi minyak secara alami. Pada industri non-pangan, enzim lipase digunakan pada industri oleokimia untuk hidrolisis minyak atau lemak, industri deterjen untuk mempermudah menghilangkan kotoran yang berupa lemak/ minyak, industri kosmetik untuk menghilangkan lemak, serta industri kulit untuk menghilangkan lemak dari kulit binatang.

Fermentasi Produksi Lipase. Indonesia dengan keanekaragaman hayatinya berpeluang besar untuk mengembangkan produksi lipase dari mikroba lokal. Beberapa jenis kapang (jamur) diketahui tumbuh pada habitat yang mengandung minyak, misalnya tandan kelapa sawit. Beberapa kapang penghasil lipase antara lain adalah *Aspergillus niger*, *Mucor miehei*, *Monilia sitophila*, *Rhizopus delemar*, dan *R. javanicus* (Onions et al., 1981 & Yamane, 1987).

Fermentasi untuk memproduksi enzim dimulai dari pemilihan mikroba penghasil enzim, dilanjutkan dengan fermentasi pada medium tertentu, dan kemudian dilakukan ekstraksi dan pemurnian enzim. Pada penelitian ini mikroba yang dipilih adalah jamur *Aspergillus niger*. Hal ini dikarenakan *Aspergillus niger* merupakan jenis mikroba yang memiliki keunggulan, yaitu menghasilkan enzim ekstraseluler dengan aktivitas tinggi serta mudah dalam pemeliharannya.

Sebagian besar (yaitu hampir 95%) fermentasi dengan enzim komersial dilakukan pada kultur cair. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi kultur cair meliputi:

Komposisi Medium. Medium fermentasi enzim pada dasarnya sama dengan medium fermentasi lainnya. Komposisi medium harus memenuhi nutrisi makro dan mikro yang meliputi penyediaan sumber C, N, P, S, Fe, dan Mg, serta vitamin sebagai faktor pertumbuhan. Komposisi medium untuk *Aspergillus niger* menurut Pal, dkk (1978) mengandung NH_4NO_3 sebagai sumber N, sumber P berupa KH_2PO_4 , serta unsur mikro yaitu Mg dan Fe berupa $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Keberadaan induser yang memacu pembentukan enzim serta represor yang menghambat pembentukan enzim (misalnya gula sederhana seperti glukosa) harus sangat diperhatikan. Pada produksi lipase, induser yang biasa digunakan adalah minyak/ lemak atau asam lemak. Dalam penelitian ini dipilih minyak goreng sawit sebagai induser mengingat harganya yang relatif murah dan ketersediaannya yang melimpah.

pH dan Suhu. Enzim merupakan protein yang terdiri dari gugus yang dapat terionisasi sehingga pH medium akan mempengaruhi struktur dan fungsinya. Pertumbuhan mikroba juga dipengaruhi oleh pH, dan pada umumnya pH optimum pertumbuhan berbeda dengan pH optimum aktivitas enzim. Dalam produksi enzim dipilih pH yang mendekati pH optimum untuk aktivitas enzim. *Aspergillus niger* mempunyai pH pertumbuhan yaitu 4-6,5. pH optimum aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus niger* yang telah dilaporkan berkisar antara 6-7. Suhu merupakan parameter penting pada proses fermentasi. Pertumbuhan sel merupakan hasil dari serangkaian reaksi kimia, sehingga suhu sangat mempengaruhi efisiensi pertumbuhan dan pembentukan produk. Menurut Wang (1979), suhu optimum untuk sintesis enzim berbeda dengan suhu optimum pertumbuhan serta suhu optimum aktivitas enzim terhadap substrat. *Aspergillus niger* termasuk mikroba tipe mesofilik, yaitu mikroba yang dapat tumbuh dengan baik pada suhu 35-37°C.

Aerasi dan Pengadukan. *Aspergillus niger* pada umumnya bersifat aerobik. Mikroba aerobik hanya dapat membentuk enzim jika oksigen tersedia dalam jumlah yang cukup, sehingga oksigen sangat

diperlukan untuk kelangsungan hidupnya. Oksigen digunakan untuk pernapasan sel yang kemudian sangat berguna untuk pertumbuhannya. Aerasi dan pengadukan berfungsi memasok kebutuhan oksigen bagi aktivitas metabolik mikroba. Pengadukan juga bertujuan untuk mempercepat laju transfer massa fasa-fasa yang ada dalam kultur pertumbuhan dan menjaga homogenitas kondisi kultur. Kelarutan oksigen dalam air sangat terbatas, yaitu 7 ppm pada suhu 25°C dan tekanan 1 atm. Oleh karenanya, faktor ini dapat menjadi pembatas dalam proses fermentasi aerobik. Konsentrasi oksigen terlarut harus dijaga agar berada di atas kondisi kritik (C_{crit}). Jika konsentrasi oksigen terlarut di bawah C_{crit} maka metabolisme sel akan terganggu. Dalam fermentasi kultur cair produksi lipase, induser yang berupa minyak bersifat tidak larut dalam air, sementara mikroorganisme larut dalam air. Dengan demikian, pengadukan juga berfungsi untuk mengefektifkan transfer oksigen. Selain itu, menurut Gordillo dkk (1995) pengadukan dan aerasi berpengaruh pada kestabilan lipase. Lipase stabil pada kecepatan aerasi sampai dengan 2,5 vvm (volume udara per volume medium per menit) dan kecepatan pengadukan sampai dengan 750 rpm.

Induser dan Represor. Enzim lipase dari mikroba pada umumnya bersifat ekstraseluler dan terinduksi; produksinya akan meningkat dengan adanya substrat tertentu yang sesuai. Produksi enzim lipase diinduksi oleh lemak dan asam lemak. Benjamin dan Pandey (1997) menyatakan bahwa tanpa penambahan induser maka lipase yang diproduksi sangat sedikit. Benjamin dan Pandey (1996) mempelajari konsentrasi induser minyak zaitun pada rentang 2-15%; semakin besar jumlah induser maka aktivitas lipase semakin besar.

Represor pada produksi enzim lipase adalah sumber karbon sederhana, yaitu mono dan disakarida. Jika hanya terdapat substrat glukosa maka enzim lipase tidak disintesis (Pandey, 1996).

Kinetika Pertumbuhan Sel dan Pembentukan Produk. Menurut Wang (1979), pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba ditandai oleh semakin bertambahnya berat atau jumlah sel tersebut. Hal ini dapat tercapai jika faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan, seperti suhu, pH, dan nutrisi yang diperlukan, terpenuhi. Secara umum, pertumbuhan mikroba terdiri dari tiga fase utama, yaitu fase *lag*, fase eksponensial, dan fase stasioner.

Kinetika pertumbuhan sel dan pembentukan produk sangat berkaitan. Hal ini dipengaruhi oleh fungsi produk tersebut di dalam proses metabolisme sel. Penggambaran sintesis produk dalam masa pertumbuhan (*growth-associated*) dan setelah pertumbuhan sel terhenti (*nongrowth-associated*) merupakan dua bentuk kinetika yang umum. Bentuk yang kurang umum adalah pola *mixed-growth-associated*, di mana pada awal pertumbuhan sel produk tidak terbentuk, tetapi pada beberapa saat

kemudian produk mulai dihasilkan sedangkan pertumbuhan sel terus berlangsung.

Metodologi

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental melalui tahap-tahap penyiapan bahan dan alat, penyediaan biakan murni *Aspergillus niger* dalam media agar miring dan biakan dalam media *starter*, percobaan pendahuluan untuk memperoleh waktu optimum inokulasi jamur di dalam media *starter*, serta fermentasi untuk memproduksi enzim lipase.

Kondisi optimum yang ingin ditentukan meliputi konsentrasi induser, laju aerasi, dan laju putaran pengadukan dalam proses fermentasi (dengan rentang percobaan seperti yang tersaji pada Tabel 1). Percobaan dilakukan melalui rancangan percobaan faktorial 2 tingkat untuk 3 variabel (2^3) dengan 3 titik data tambahan. Kondisi optimum fermentasi didasarkan pada pencapaian aktivitas enzim lipase yang tertinggi.

Tabel 1. Variabel Proses dan Rentang Percobaan

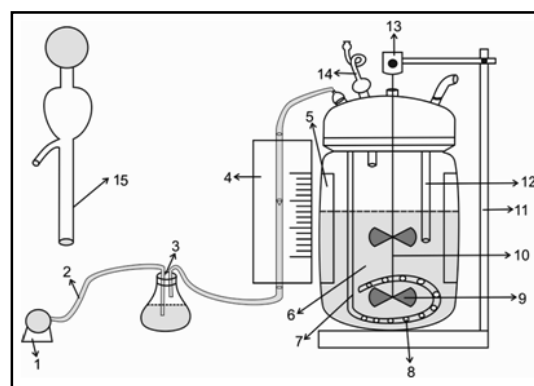
Variabel Proses	Level Rendah (-1)	Level Tengah (0)	Level Tinggi (+1)
Konsentrasi induser, %-berat (X_1)	1	3	5
Laju aerasi, vvm (X_2)	0,5	1	1,5
Laju putaran pengadukan, rpm (X_3)	150	250	350

Bahan. Bahan-bahan yang digunakan meliputi: (1) biakan *Aspergillus niger* dalam media agar miring (diperoleh dari Laboratorium Biologi Tanah, Jurusan Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Yogyakarta), (2) minyak goreng sawit, dengan merk dagang Kunci Mas, sebagai induser, (3) media agar miring, dengan komposisi per 100 ml: taoge 10 g, glukosa 6 g, *agar bacteriologica* 1,8 g, dan (4) media *starter* dan fermentasi, dengan komposisi per 100 ml: NH_4NO_3 0,1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, KH_2PO_4 0,2 g, sukrosa 1 g, minyak goreng sawit 1 g (untuk *starter*)

Alat. Alat utama yang digunakan berupa sebuah fermentor bervolume 2 liter dengan volume kerja sebesar 1,4 liter yang beroperasi secara *batch*. Ilustrasi alat secara skematik beserta kelengkapannya disajikan pada Gambar 1.

Cara Kerja. Proses fermentasi produksi enzim lipase diawali dengan menyiapkan media fermentasi sebanyak 1,4 liter yang sudah mengandung induser minyak goreng sawit, sesuai dengan variasi percobaan (Tabel 1). Campuran ini dimasukkan ke dalam fermentor dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama ± 15 menit. Setelah dingin, cairan

fermentasi diatur pada pH awal netral ($\text{pH} = 7$) dengan larutan NaOH 50%. Laju putaran pengadukan dan laju aerasi juga diatur, sesuai dengan variasi percobaan (Tabel 1). *Starter* sebanyak 10% (dari volume kerja fermentor) diinokulasikan secara aseptik ke dalam fermentor, dan saat inokulasi ini dihitung sebagai waktu ke-0. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang selama 32 jam. Pengambilan sampel dilakukan setiap interval waktu 4 jam. Selanjutnya sampel dianalisis aktivitas enzim lipasenya dengan metode titrasi (metode Linfield, 1984) dan analisis berat kering set dengan metode gravimetri. Satu unit lipase per ml (U/ml) menyatakan banyaknya enzim lipase yang dapat melepaskan $1 \mu\text{mol}$ asam lemak bebas per menit.



Keterangan alat:

1. Pompa udara
2. Selang udara
3. Labu Erlenmeyer (berisi desinfektan)
4. Flowmeter
5. Baffle
6. Cairan fermentasi
7. Sparger
8. Lubang sparger
9. Impeller
10. Batang pengaduk
11. Statif (berisi desinfektan)
12. Pipa pengeluaran sampel
13. Motor pengaduk
14. Leher angsa
15. Penghisap sampel

Gambar 1. Fermentor untuk proses fermentasi

Larutan enzim yang diperoleh pada kondisi optimum selanjutnya dianalisis kadar proteinnya. Analisis ini dilakukan untuk menguji terbentuknya enzim melalui keberadaan protein. Analisis kadar protein dilakukan dengan metode Lowry.

Hasil dan Pembahasan

Hasil percobaan pendahuluan menyimpulkan bahwa waktu optimum pertumbuhan dan perkembangbiakan sel (jamur *Aspergillus niger*) dalam memproduksi enzim lipase adalah sekitar 24 jam. Selain itu, teramati bahwa produksi enzim lipase dari *Aspergillus niger* mengikuti pola kinetika *growth-associated*, yaitu peningkatan produksi dan aktivitas enzim berlangsung secara bersamaan dengan perkembangbiakan sel. Hal ini disebabkan karena

produksi enzim lipase berfungsi mendukung pertumbuhan sel-sel jamur *Aspergillus niger*.

Konsentrasi Induser, Laju Aerasi, dan Laju Putaran Pengadukan Optimum. Aktivitas enzim lipase yang diperoleh pada masing-masing tempuhan berdasarkan rancangan percobaan faktorial disajikan pada Tabel 2. Berdasarkan hasil tersebut, pengaruh setiap variabel terhadap aktivitas lipase dapat dinyatakan dalam model empirik:

$$Y = -4,2786 - 2,4193 X_1 + 6,6722 X_2 + 0,0452 X_3 + 0,2995 X_1^2 - 4,1668 X_2^2 - 0,0001 X_3^2 + 0,4114 X_1 X_2 + 0,0022 X_1 X_3 + 0,0086 X_2 X_3 - 0,00198 X_1 X_2 X_3 \quad (1)$$

Secara statistika, persamaan (1) dapat dianggap representatif terhadap hasil percobaan karena menghasilkan penyimpangan yang sangat kecil antara Y_{data} dengan Y_{model} .

Tabel 2. Aktivitas Enzim Lipase: Perbandingan antara Data dan Model

No. Tempuhan Percobaan	Variabel Proses			Aktivitas Enzim Lipase (U/ml)	
	X ₁ (%-berat)	X ₂ (vvm)	X ₃ (rpm)	Y _{data}	Y _{model}
1	1	0,5	150	1,2500	1,2500
2	1	0,5	350	0,4583	0,4583
3	1	1,5	150	1,0000	1,0000
4	1	1,5	350	1,5416	1,5416
5	5	0,5	150	0,3333	0,3333
6	5	0,5	350	0,5416	0,5416
7	5	1,5	150	0,5416	0,5416
8	5	1,5	350	0,5000	0,5000
9	3	1	250	1,7083	1,7083
10	3	0,5	250	0,5416	0,5416
11	3	1	150	0,6250	0,6250

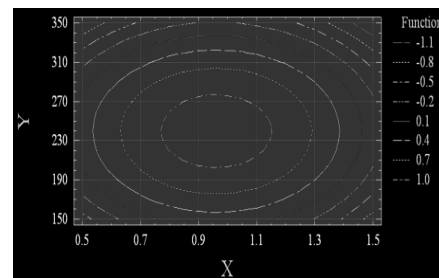
Keterangan: Respons percobaan (Y) merupakan aktivitas enzim lipase tertinggi yang dicapai pada masing-masing tempuhan.

Berdasarkan nilai-nilai parameter model (1), teramati bahwa variabel X₂ mempunyai pengaruh (*single-effect*) yang terbesar dan variabel X₃ mempunyai pengaruh yang terkecil. Selain itu, dari sudut pandang *interaction-effect*, teramati bahwa interaksi antara dua variabel X₁-X₂ mempunyai pengaruh yang terbesar dibandingkan dengan interaksi variabel X₂-X₃ dan X₁-X₃. Sementara itu, *interaction-effect* antara tiga variabel X₁-X₂-X₃ tidak mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap hasil percobaan.

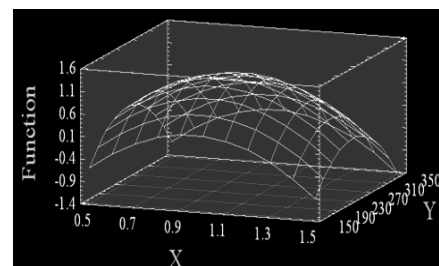
Secara matematik, nilai optimum variabel proses dapat ditentukan dari persamaan (1). Dengan mempertimbangkan keterbatasan ketelitian peralatan dalam penelitian ini, nilai-nilai optimum tersebut selanjutnya diaplikasikan dalam percobaan dengan mengambil nilai: X₁ (konsentrasi induser) optimum = 3 %-berat, X₂ (laju aerasi) optimum = 1 vvm, dan X₃ (laju putaran pengadukan) optimum = 250 rpm. Jika nilai-nilai ini disubstitusikan ke dalam persamaan (1), maka diperoleh aktivitas lipase maksimum sebesar 1,6935 U/ml. Nilai ini cukup dekat dengan aktivitas lipase maksimum yang diperoleh melalui percobaan, yaitu 1,7083 U/ml.

Gambar 2 menyajikan pengaruh laju aerasi (X) dan laju putaran pengadukan (Y) terhadap perolehan aktivitas enzim lipase (*Function*), berdasarkan persamaan (1), dalam profil kontur (a) dan *surface* (b), pada konsentrasi induser optimumnya (3 %-berat). Tercapainya aktivitas lipase yang maksimum teramati dengan jelas dari ilustrasi grafik ini. Nilai maksimum ini dapat diproyeksikan ke arah sumbu X dan sumbu

Y yang selanjutnya menghasilkan perpotongan pada nilai laju aerasi (X) sebesar ± 1 vvm dan laju putaran pengadukan (Y) sebesar ± 250 rpm. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa rentang percobaan yang dipilih dalam penelitian ini cukup representatif dan menghasilkan kondisi optimum proses, yaitu konsentrasi induser, laju aerasi, dan laju putaran pengadukan masing-masing sebesar 3 %-berat, 1 vvm, dan 250 rpm.



(a)



(b)

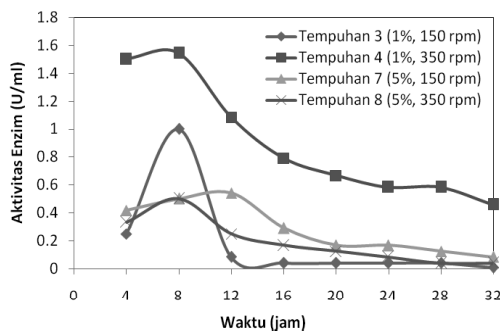
Gambar 2. Profil kontur (a) dan *surface* (b) untuk hubungan antara laju aerasi (X) dan laju putaran pengadukan (Y) dengan aktivitas enzim lipase (*Function*) pada konsentrasi induser optimum (= 3 %-berat)

Verifikasi Hasil (Pemanenan Enzim). Tahap pemanenan yang dilakukan pada kondisi optimum fermentasi, yaitu konsentrasi induser, laju aerasi, dan laju putaran pengadukan masing-masing sebesar 3 %-berat, 1 vvm, dan 250 rpm menghasilkan aktivitas lipase seperti yang tersaji pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3, enzim lipase yang dihasilkan dari penelitian ini mempunyai aktivitas dan aktivitas spesifik masing-masing sebesar 1,5 U/ml dan 0,2817 U/mg protein. Enzim merupakan gugus protein yang mempunyai daya katalitik terhadap reaksi-reaksi biokimia yang spesifik. Hasil pengujian kadar protein terlarut terhadap cairan hasil fermentasi yang mengandung enzim lipase membuktikan keberadaannya sebagai enzim ekstraseluler yang diproduksi oleh jamur *Aspergillus niger* dan diinduksi oleh minyak goreng sawit.

Tabel 3. Aktivitas Enzim Lipase Hasil Verifikasi

Aktivitas Enzim Lipase (U/ml)	Kadar Protein Terlarut (mg/ml)	Aktivitas-Spesifik Enzim Lipase (U/mg)
1,5	5,3240	0,2817

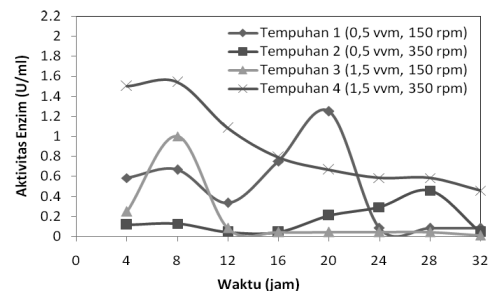
Profil Aktivitas Enzim Lipase. Proses produksi enzim lipase dapat diamati melalui perubahan aktivitasnya. Profil aktivitas enzim lipase yang dihasilkan selama berlangsungnya proses fermentasi pada berbagai tempuhan percobaan dan berbagai nilai variabel proses yang tetap disajikan pada Gambar 3, 4, 5, dan 6.



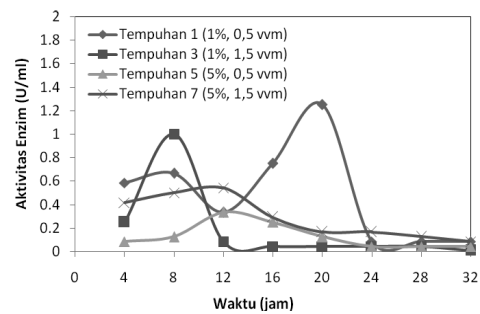
Gambar 3. Aktivitas enzim lipase (laju aerasi 1,5 vvm)

Berdasarkan Gambar 3, teramati bahwa aktivitas enzim lipase mengalami kenaikan hingga waktu tertentu, yang kemudian diikuti dengan adanya penurunan. *Trendline* yang sama juga teramati pada seluruh tempuhan percobaan. Pada laju aerasi yang sama (yaitu 1,5 vvm), aktivitas enzim mengalami kenaikan pada rentang waktu fermentasi 8 hingga 12

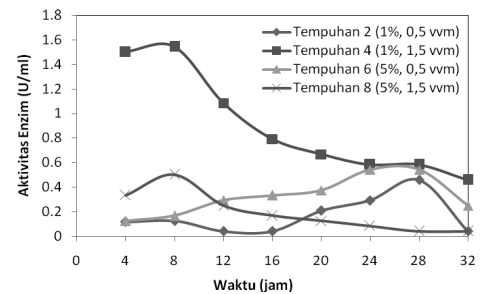
jam. Fenomena ini menunjukkan bahwa pada rentang waktu tersebut enzim lipase diproduksi.



Gambar 4. Aktivitas enzim lipase (konsentrasi induser 1%-berat)



Gambar 5. Aktivitas enzim lipase (laju putaran pengadukan 150 rpm)



Gambar 6. Aktivitas enzim lipase (laju putaran pengadukan 350 rpm)

Gambar 3 juga memperlihatkan produksi enzim lipase (hingga mencapai maksimumnya) yang berlangsung dalam rentang waktu yang relatif cepat (pada percobaan dengan laju aerasi 1,5 vvm). Hal ini relevan dengan hasil sebelumnya yang menyimpulkan bahwa laju aerasi merupakan variabel proses yang teramati paling berpengaruh dalam penelitian ini. *Aspergillus niger* bersifat aerobik. Artinya, oksigen perlu tersedia dalam jumlah cukup untuk mendukung proses pertumbuhan sel dan produksi enzim. Penggunaan laju aerasi yang tinggi (yaitu 1,5 vvm) sangat mendukung kecepatan pembentukan enzim hingga mencapai aktivitas maksimumnya, dibandingkan dengan laju aerasi yang lebih rendah. Fakta ini juga didukung oleh profil aktivitas enzim lipase yang tersaji pada Gambar 4, 5, dan 6.

Pengaruh laju putaran pengadukan terhadap aktivitas enzim juga teramati dari Gambar 4. Tempuhan percobaan dengan laju putaran pengadukan yang tinggi (pada laju aerasi dan konsentrasi induser yang sama) menghasilkan aktivitas enzim lipase yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan laju putaran pengadukan yang rendah. Fenomena ini disebabkan oleh sifat minyak yang tidak bercampur dengan air. Jamur *Aspergillus niger* yang terdispersi dalam cairan fermentasi memerlukan kontak yang baik dengan minyak goreng sawit agar dapat menginduksi terbentuknya enzim lipase. Untuk itulah, diperlukan pengadukan dengan intensitas yang cukup dan efektif.

Selain pengadukan yang digerakkan oleh motor, faktor-faktor lain seperti aerasi, geometri fermentor, keberadaan *baffle*, serta bentuk dan ukuran *impeller* juga mendukung keberhasilan proses pengontakan tersebut. Namun demikian, di sisi lain, tempuhan percobaan dengan laju putaran pengadukan yang tinggi cenderung mengakibatkan sel-sel jamur cepat mengalami kerusakan secara fisik (pecah) sehingga mempengaruhi kemampuannya dalam memproduksi enzim. Selain itu, pengaruh laju putaran pengadukan terhadap aktivitas enzim kurang signifikan dibandingkan dengan pengaruh laju aerasi. Dari sudut pandang stabilitas enzim, penggunaan laju aerasi dan laju putaran pengadukan yang tinggi akan menurunkan stabilitas enzim lipase yang dihasilkan. Dalam hal ini, enzim lipase yang berada di dalam cairan hasil fermentasi cenderung mengalami kerusakan secara fisik akibat adanya *shear stress*.

Pengaruh konsentrasi induser terhadap aktivitas enzim diilustrasikan pada Gambar 5 dan 6. Pada dasarnya, induser dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam jumlah yang cukup untuk menginduksi proses pembentukan enzim dan selanjutnya berperan sebagai substrat bagi reaksi hidrolisis yang dikatalisisnya. Namun demikian, sifat minyak dan air yang tidak saling bercampur menjadi persoalan yang cukup serius dalam penelitian ini. Penggunaan induser dengan konsentrasi tinggi, tanpa didukung oleh laju aerasi dan laju putaran pengadukan yang tinggi, berakibat pada rendahnya aktivitas enzim lipase yang dihasilkan (seperti yang teramati pada tempuhan 5). Sebaliknya, penggunaan induser dengan konsentrasi rendah, tetapi dilakukan pada laju aerasi dan laju putaran pengadukan yang tinggi, mengakibatkan tingginya aktivitas enzim yang dihasilkan (seperti yang teramati pada tempuhan 4). Dalam hal ini, aerasi tidak hanya berperan memasok oksigen yang dibutuhkan oleh fermentasi, melainkan juga membantu proses pengadukan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil-hasil yang telah diuraikan di atas, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut. Enzim lipase dapat diproduksi oleh jamur *Aspergillus niger* dengan induser minyak goreng sawit melalui proses

fermentasi. Kondisi optimum proses dicapai pada konsentrasi induser (X_1), laju aerasi (X_2), dan laju putaran pengadukan (X_3) masing-masing sebesar 3 %-berat, 1 vvm, dan 250 rpm. Dari 3 (tiga) variabel proses yang dipelajari, laju aerasi merupakan variabel yang teramati paling berpengaruh terhadap proses fermentasi. Proses verifikasi yang dilakukan pada kondisi optimum proses menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas dan aktivitas spesifik masing-masing sebesar 1,5 U/ml dan 0,2817 U/mg protein.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Program Hibah Kompetisi (PHK) A-2 Tahun 2008 Jurusan Teknik Kimia FTI UPN "Veteran" Yogyakarta yang menyediakan dana penelitian ini.

Daftar Simbol

Y	≡	aktivitas enzim lipase	(U/ml)
X_1	≡	konsentrasi induser	(%-berat)
X_2	≡	laju aerasi	(vvm)
X_3	≡	laju putaran pengadukan	(rpm)

Daftar Pustaka

- Benjamin, S. and Ashok Pandey, 1997, *Enhancement of Lipase During Repeat Batch Culture Using Immobilized Candida rugosa*, Process Biochemistry, 32, 437-440.
- Benjamin, S. and Ashok Pandey, 1996, *Optimization of Liquid Media for Lipase Production by Candida rugosa*, Bioresource Technology, 55:167-170.
- Gandhi, N., 1997, *Application of Lipases*, Journal of American Oil Chemist Society, 74 (6), 621-629.
- Gordillo, M.A et al, 1995, *Stability Studies and Effect of Initial Oleic Acid Concentration on Lipase Production by Candida rugosa*, Appl. Microbiol. Biotechnol., 43:38-41.
- Kao Corporation, 2004, *General Properties and Cooking Characteristic of Diacylglycerol as an Edible Oil di dalam Karakterisasi Gen Penyandi Lipase dari Kapang Rhizopus oryzae dan Abdisia corymbifera*, Riza A. Putranto dkk, Menara Perkebunan, 2006, 74(1), 23-31.
- Linfield, et.al., 1984, *Lipid-lipase Interaction I. Fat Splitting with Candida rugosa*, JAOCS, 61(6), 1067-1071.
- Onions, A.H.S., D. Allsopp, and H.O.W. Eggins, 1981, *Smith's Introduction to Industrial Mycology dalam Karakterisasi Gen Penyandi Lipase dari Kapang Rhizopus oryzae dan Abdisia corymbifera*, Riza A. Putranto dkk, Menara Perkebunan, 2006, 74 (1), 23-31.

Pal. N., S. Das., and A. K. Kundu., 1978, *Influence of Culture and Nutritional Conditions on the Production of Lipase by Submerged Culture of Aspergillus niger*, Journal Ferment. Technol., Vol 56, No 6, pp. 593 – 598.

PT Perkebunan Nusantara, 2008, dalam *website*: www.kpbtpn.co.id/news, Desember 2008.

Wang, D. I, C. C. Coney, A. L. Demain, P. Dunhill, A. F. Humphrey and M. D. Lilly, 1979, *Fermentation and*

Enzyme Technology, John Wiley and Sons, New York, 57-97.

Yamane T., 1987, *Enzyme Technology for the Lipids Industry: An Engineering Overview* di dalam *Karakterisasi Gen Penyandi Lipase dari Kapang Rhizopus oryzae dan Abdisia corymbifera*, Riza A. Puranto dkk, Menara Perkebunan, 2006, 74(1), 23-31.