

Produksi *Crude Lipase* Dari *Aspergillus niger* Pada Substrat Ongkok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat

Yanty Maryanty, Hesti Pristianti, Paulina Ruliawati.

Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang, Jl. Veteran No.8 PO.Box 04

yantyerik@yahoo.com

Abstrak

Sampai saat ini limbah ongkok belum dimanfaatkan secara optimal. Salah satu alternatif pemanfaatannya adalah digunakan sebagai substrat pada proses fermentasi *Aspergillus niger*. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan lipase dari *Aspergillus niger* dengan memanfaatkan ongkok sebagai substratnya. Variabel yang digunakan adalah jumlah mikroorganisme 10, 20, 30,40 dan 50 % dari jumlah substrat. Fermentasi fasa padat dilakukan selama 4 hari sesuai dengan data kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* pada substrat ongkok. Untuk mengetahui aktifitas enzim dilakukan dengan dua analisa yaitu uji lipolitik yang ditandai dengan bercak kuning pada *rhodamine agar* dan analisa titrimetri. Hasil *crude lipase* tertinggi diperoleh dari jumlah mikroorganisme 50% dengan aktifitas lipase 42,22 u/ml.

Kata kunci *ongkok, Aspergillus niger, lipase*

1. Pendahuluan

Produksi tapioka pada umumnya banyak diusahakan dalam industri kecil dan industri rumah tangga . Limbah atau sisa ampasnya masih banyak yang dipasarkan belum diolah menjadi komoditi produk yang memiliki nilai tambah produksi di pedesaan. Ampas atau limbah produksi pada musim hujan tidak laku dijual dan membusuk menjadi kotoran yang menimbulkan bau yang tidak sedap. Ampas yang tidak terpakai adalah ongkok. Ongkok yang berasal dari ubi kayu merupakan hasil ikutan padat dari pengolahan tepung tapioka. Sebagai ampas pati singkong (ubi kayu) yang mengandung banyak karbohidrat, ongkok dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi, nilai gizi yang terkandung pada ongkok salah satunya adalah karbohidrat 72,49% - 85,99% (Macklin, 2009).

Pemanfaatan ongkok sebagai bahan baku pembuatan enzim dibatasi oleh rendahnya kandungan protein. Ongkok hanya digunakan sebagai sumber energi. Salah satu teknologi alternatif dalam upaya peningkatan pemanfaatan ongkok dapat membantu menghasilkan lipase, yaitu dengan mengubahnya menjadi produk yang bermutu melalui proses fermentasi. Fermentasi dilakukan secara semi padat dengan menggunakan *Aspergillus niger* sebagai inokulum.

Aspergillus niger merupakan salah satu spesies *Aspergillus* yang tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan (Gras, 2008). Oleh karena itu dalam penelitian ini menggunakan *Aspergillus niger* disamping tidak membahayakan juga mudah untuk dikembangkan . *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim diantaranya lipase, *acid protease* , *xilanase*, dan *cellulase*

2. Bahan dan Metode Penelitian

Metode Agar Miring

Media PDA sebanyak 3,99 gr yang ditambahkan aquades 100 ml yang telah di autoklaf dimasukan ke dalam tabung reaksi diisi kira-kira sepertiga dari tabung reaksi yang steril kemudian tabung tersebut miringkan dan diamankan sampai media agar terbentuk. Inokulum yang terdapat di tabung reaksi diambil dengan menggunakan kawat ose secara aseptik kemudian digoreskan secara lurus pada agar miring. Diinkubasi pada inkubator dengan temperatur 30°C selama kurang lebih 2x 24jam

Pembuatan inokulum

a. Komposisi

Ekstrak kecambah (500 gr kecambah di ekstraksi dengan 500 ml air). Tiga % sukrosa

b. Proses

Lima puluh ml media cair dimasukkan kedalam erlenmyer 250 ml. Disterilisasi pada suhu 121 °C selama 30 menit. Dinginkan sampai hangat kuku. Dua ose *aspergillus* murni dari agar miring ditambahkan kedalam media dan ditutup rapat. Diinkubasi dengan 130 rpm pada suhu 25-30 °C, selama 5 hari.

Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Pembuatan inokulum

Komposisi

Ekstrak kecambah (500 gr kecambah di ekstraksi dengan 500 ml air). Tiga % sukrosa

Proses

Lima puluh ml media cair dimasukkan kedalam erlenmyer 250 ml. Disterilisasi pada suhu 121 °C selama 30 menit. Dinginkan sampai hangat kuku. Dua ose *aspergillus* murni dari agar miring ditambahkan kedalam media dan ditutup rapat. Diinkubasi dengan 130 rpm pada suhu 25-30 °C, selama 5 hari.

Pembuatan kurva pertumbuhan

Komposisi untuk ekstrak onggok

Ekstrak onggok (500 gr onggok diekstraksi dengan 1000 ml air). Sukrosa 15 %. Ekstrak *khamir*. K₂HPO₄. Czapek konsentrat

Proses

Lima puluh ml media cair dimasukkan kedalam erlenmyer 250 ml sebanyak 20 buah

(duplo 10 titik).Disterilisasi pada suhu 121 °C selama 30 menit. Dinginkan sampai hangat kuku. Lima belas % inokulum ditambahkan kedalam media dan ditutup rapat. Diinkubasi dengan 150 rpm pada suhu 25-30 °C, selama 5 hari. Dianalisa berat keringnya tiap 12 jam.

Fermentasi

Lima gram substrat ditimbang (onggok dan gandum). Dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 ml Ditambahkan 10 ml nutrisi dan komposisi *Czapek Yeast Extract* (0.1 gr/l ekstrakyeast, 0.01 gr/l K₂HPO₄, 0.3 sukrosa, czapek konsentrat). Diautoklaf selama 30 menit pada suhu 121 °C. Ditambahkan 10, 20, 30, 40 dan 50 % inokulum *Aspergillus niger*. Diinkubasi selama waktu yang ditentukan pada variabel. Ditambahkan 100 ml akuades untuk melarutkan substrat. Disaring dengan kertas saring. Disentrifus selama 30 menit pada kecepatan 3000 rpm

Uji Lipolitik

Dimasukan larutan enzim pada media PDA ditambahkan rodhamine dengan indikator PP.Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Reaksi positif ditandai oleh bercak-bercak kuning disekeliling koloni, sedangkan reaksi negatif ditandai oleh bercak-bercak yang tetap berwarna merah.

Uji Titrimetri

Dua ml minyak goreng dalam erlenmeyer 100 ml, ditambah 1 ml buffer fosfat (pH 7), dan 1 ml larutan enzim. Campuran substrat enzim ini kemudian dikocok menggunakan *shaker* inkubator pada 30°C selama 30 menit. Setelah 1 jam substrat enzim diinaktifkan dengan menggunakan campuran aseton : etanol (1:1) sebanyak 1 ml. Campuran tersebut ditambahkan 5 tetes fenolftalein 1% sebagai indikator dan dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,05 M. Titrasi dihentikan setelah campuran berubah menjadi merah muda. Pengukuran aktivitas

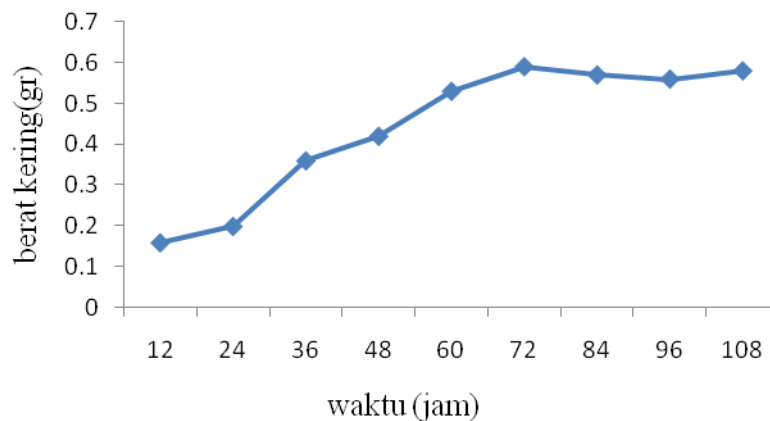
dilakukan secara duplo. Untuk penentuan standar dilakukan dengan komposisi campuran yang sama, tetapi pada saat dimasukkan larutan enzim dengan segera ditambahkan campuran aseton : etanol untuk menginaktifkan enzim. Kemudian dititrasi dengan prosedur yang sama dengan analisis sama.

3. Pembahasan

Adaptasi merupakan penyesuaian mikroorganisme terhadap media tumbuh. Pada penelitian, jamur yang digunakan adalah *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* tumbuh optimum selama 3-5 hari dengan suhu 25-30°C (Falony, 2008).

Pada awalnya jamur yang digunakan ditumbuhkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) kemudian untuk membuat kurva pertumbuhan, jamur ditanam dengan menggunakan media tauge. Media tauge digunakan sebagai nutrisi. Dari media tauge ini didapatkan jamur dalam waktu 5 hari yang kemudian diadaptasikan kembali pada media onggok 4 hari. Penentuan lamanya diadaptasi berdasarkan kurva pertumbuhan yang telah kami buat sebelumnya pada media onggok dan gandum.

Pada pembuatan kurva pertumbuhan ditambahkan sukrosa sebagai nutrisi dalam pertumbuhan *aspergillus niger* karena sukrosa merupakan sumber karbon. Untuk menentukan kurva pertumbuhan ada beberapa metode yaitu menghitung berat massa sel kering dan jumlah koloni. Pada penelitian ini kami menggunakan perhitungan massa sel kering karena kami menggunakan jamur yang bisa dihitung hanya dengan perhitungan massa sel kering. Untuk menghitung massa sel kering dengan cara menginokulasikan *aspergillus niger* pada media semi padat onggok selama 5 hari, dimana setiap 12 jam disaring lalu dioven untuk mendapatkan berat massa sel kering yang konstan. Dari data yang diperoleh didapatkan data sebagai berikut:



Gambar 3.1 Kurva Pertumbuhan Pada Onggok

Dari kurva di atas dapat diketahui bahwa pada waktu 12 sampai 24 jam merupakan fase adaptasi (lag). Dalam fase adaptasi ini jamur dalam tahap penyesuaian terhadap lingkungan baru. Kondisi ini dapat terjadi karena terdapat perubahan media serta lingkungannya dari media tauge ke media onggok ini sesuai dengan referensi bahwa jika mikroba dipindahkan ke dalam suatu medium mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan dan sekitarnya. Lamanya fase adaptasi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya yaitu :

a. Medium dan lingkungan pertumbuhan

Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim.

b. Jenis inokulum

Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi (Fardiaz, 1988).

Pada jam ke-36 sampai 60 jamur mengalami pertumbuhan terus menerus, dari data yang diperoleh pada kondisi ini, jamur mengalami fase log. Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti

kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti kandungan nutrisi dan kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara (Fardiaz, 1988)

Pada waktu ke-72 sampai 108 fase stationer. Pada fase ini jumlah populasi masih sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil-kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan-bahan kimia (Fardiaz,1988). Pada fase stationer ini juga dihasilkan metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan jenis metabolisme yang memiliki densitas aliran yang jauh lebih kecil, terutama yang berhubungan dengan pembentukan produk-produk khusus yang diperlukan oleh sel dalam jumlah sedikit seperti biosintesis koenzim, hormon, nukleotida, pigmen, toksin, enzim dan lain – lain. Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut, pada substrat ongkok *Aspergillus niger* dapat menghasilkan lipase setelah kurang lebih 4 hari dengan ditunjukkan adanya fase stationer dimana pada fase ini lipase sebagai metabolit sekunder dihasilkan.

Prosedur untuk mengetahui aktifitas Lipase crude diantaranya adalah dengan menggunakan media rodamine Agar. Pada prinsipnya metode di atas menggunakan indikator yang mampu mendeteksi keberadaan asam lemak yang terbentuk akibat hidrolisis lemak. Berikut hasil dari penelitian kami:

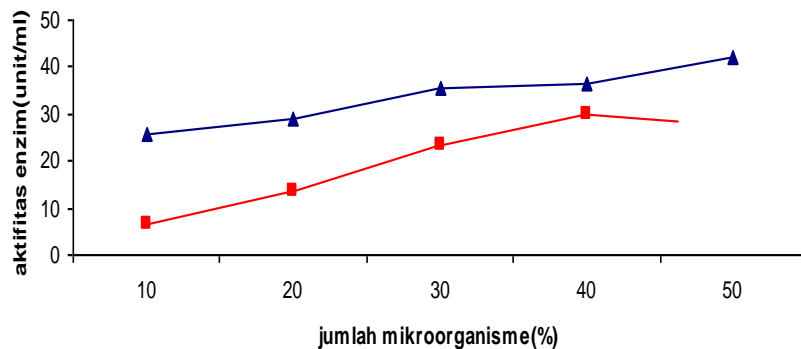


Gambar 3.2 Hasil Uji Lipolitik

Dari gambar ini dapat diketahui adanya bercak-bercak berwarna kuning ini menunjukkan adanya lipase. Pada tabung mulai dari kiri ke kanan jumlah mikroorganisme semakin besar. Pada tabung A yang berisi jumlah mikroorganisme 10% terdapat bercak kuning yang tidak terlalu banyak dibanding dengan yang lain. Pada tabung B yang jumlah mikroorganismenya 20% lebih banyak bercak kuning daripada pada tabung A. Pada tabung C yang jumlah mikroorganismenya 30 % bercaknya lebih memenuhi permukaan agar. Pada tabung D yang jumlah mikroorganismenya 40 % bercak kuningnya lebih besar dibanding tabung A, B, dan C. Pada tabung E yang jumlah mikroorganisme 50 % bercak kuning lebih banyak. Pada penelitian ini semakin banyak jumlah mikroorganismenya enzim yang dihasilkan untuk menghidrolisis lemak yang ditandai dengan adanya bercak kuning.

Uji Titrimetri

Pada metode titrimetri, banyaknya asam lemak yang dilepaskan akan dititrasi oleh NaOH sehingga volume NaOH sama dengan volume asam lemak yang dihasilkan oleh aktivitas *lipase crude*. NaOH dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat pada *lipase crude*. Kondisi ini digunakan sebagai kondisi kontrol pada penentuan aktivitas enzim dan juga penentuan dengan perubahan pH. Pada proses titrasi larutan diamati perubahan warna dari putih menjadi pink. Warna pink ini menunjukkan adanya asam lemak bebas. Jika larutan tidak mengalami perubahan warna kembali maka asam lemak yang dihasilkan dari enzim telah habis dititrasi. Bisa dikatakan bahwa enzim lipase tidak melakukan aktifitas untuk memproduksi asam lemak kembali



3.3 Kurva Aktifitas Enzim Vs Jumlah Mikroorganisme, Δ Onggok, □ Gandum

Pada grafik di atas menunjukkan bahwa aktifitas lipase dengan substrat gandum memiliki kondisi optimum dengan jumlah mikroorganisme 40% yaitu 30 unit/ml enzim. Sedangkan aktifitas lipase dengan substrat onggok memiliki kondisi optimum pada jumlah mikroorganisme 50% yaitu 42,22 unit/ml enzim. Unit/ml adalah jumlah μmol NaOH yang dibutuhkan per satuan waktu inkubasi untuk menetralkan asam lemak bebas. Hal ini menunjukkan bahwa pada onggok memiliki aktifitas enzim yang lebih besar dari pada gandum (sebagai pembandingan) karena jumlah karbohidrat pada onggok lebih besar daripada pada gandum. Hal ini menunjukkan bahwa lipase yang dapat menghidrolisis lemak sebesar 42,22 unit/ml. Untuk mengetahui aktifitas enzim pada substrat onggok dan gandum dengan jumlah mikroorganisme 10 – 50 % menggunakan perhitungan seperti di atas.

Pada kurva aktifitas enzim pada gandum mengalami penurunan pada jumlah mikroorganisme 50%. Hal ini berarti jumlah mikroorganisme yang dapat ditambahkan pada gandum baik dengan jumlah mikroorganisme 40 % karena nutrisi pada substrat gandum menurun sehingga aktifitasnya menurun juga.

Pada kurva aktifitas enzim pada onggok sampai jumlah mikroorganisme 50% mengalami peningkatan dan dibatasi dengan variabel sampai jumlah mikroorganisme 50% sehingga aktifitas enzim yang optimum pada jumlah mikroorganisme 50 %.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa, onggok memiliki aktifitas enzim yang lebih besar dari pada gandum (pembandingan) yaitu 42,22 unit/ml pada mikroorganisme 50%. Unit/ml adalah jumlah μmol NaOH yang dibutuhkan per satuan waktu inkubasi untuk menetralkan asam lemak bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. *Fermentasi*, (online) (<http://blogspot.com> diakses pada 10 juli 2009)
- Anonim. 2006. *Lipase*, (online) (<http://blogs.unpad.ac.id/file>) diakses pada 20 April 2009)
- Anonim. 2001. *aktifitas enzimatik mikroorganisme*. (online) (www.ekmonsaurus.com diakses pada 19 Februari 2009).
- Anonim. 2007. *fermentasi*.(online)(wikipedia.com, diakses pada tanggal 27 Januari 2009)
- Anonim. 2009. *Uji Lipolitik*. (online) (www.ekmonsaurus.com diakses pada 19 Februari 2009)
- Anonim, 2009. (online) (www.ekmonsaurus.com diakses pada 19 Februari 2009)
- Anonim, 2009. *Yeast Ekstrak*. (online) (wikipedia.com, diakses pada tanggal 26 Agustus 2009).



SEMINAR REKAYASA KIMIA DAN PROSES, 4-5 Agustus 2010
ISSN : 1411-4216

- Aziz, Pradhana. 2008. (online) (<http://th.greenforce.files.wordpress.com> diakses pada 20 Maret 2009)
- Macklin,boy.2009,*pemanfaatanonggok*,(<http://boymacklin.com/2008/01/pemanfaatanonggok+sumberenergi>) diakses pada 3 April 2009.
- Fadli, 2009, *Aspergillus niger*,(<http://linkfadliblog.blogspot.com/2009/04/aspergillus-niger.html>) diakses pada 3 April 2009
- Falony, Gwen. 2006. *Production of Extracellular Lipase from Aspergillus niger by Solid State Fermentation*. Cuba : Grupo de Biotecnologia Aplicada
- Fardiaz, Srikandi. 1988. *fisiologi fermentasi*. pusat antar universitas ITB: Bandung
- Handayani R., Joko Sulisty, 2005. *Transesterifikasi ester asam lemak melalui pemanfaatan teknoogi lipase*. LIPI. Bogor
- Ihwal, 2009. analisa titrimetri. (<http://sangbintang.wordpress.com> diakses pada 20 April 2009)
- Gras, 2008, *Aspergillus niger*, (<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-gras.html>)
- Rulianah, Sri. *Buku ajar teknologi bioproses*. Politeknik negeri malang, 2005
- Winarno, F.g. 1982. *Enzim Pangan*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama([educoroola2.blogspot](http://educoroola2.blogspot.com). diakses pada 10 juli 2009)
- Prawira. 2009. *fermentasi*. (<http://yprawira.wordpress.com>) diakses pada 20 Maret 2009
- Syofianti, dwi ari dan Nia. 2008. “*Fermentasi Biji Jarak Penghasil Minyak Jarak Menggunakan Acetobacter Xylinum dan Acetobacter Acety*”. Malang
- www.wikipedia.org, 2009. *Kurva pertumbuhan*. Di akses pada 10 mei 2009