

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM LIPASE DARI *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN MENGGUNAKAN INDUSER MINYAK JAGUNG SERTA KOFAKTOR Na⁺ DAN Co²⁺

Dian Pratiwi⁽¹⁾, Firman Sebayang⁽¹⁾ dan It Jamilah⁽²⁾

⁽¹⁾Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara

⁽²⁾Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara

ABSTRACT

Between source of lipase that produce by plants, animals and microbial, it found that microbes are most used to. In addition, lipase enzim from microbes, generally resist to hot. Production and characterization of crude extract lipase by *Pseudomonas aeruginosa* was performed by growing the bacteria in various inducer concentration of corn oil which were 2, 4, 6, 8 and 10% and addition of Na⁺ and Co²⁺ on each inducer. Crude extract lipase was obtained by incubation at 72 hour, then centrifugated at 6000 rpm for 30 minutes. Activity of lipase crude extract is done by measuring free fatty acid levels at temperature variation of 30; 35; 40; 45; 50°C and pH 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; 8,0. It could be concluded that the highest production of crude extract lipase occurred at the concentration of inducer 8% and addition of cofactor Na⁺, resulting activity 478,5026 μmol/mL/menit. The highest activity of this lipase was occurred at temperature 40°C and pH 7. It could be conclude that corn oil could be used efficiently as inducer to produce lipase from *P.aeruginosa* at concentration of 8% temperature setting on 40°C at pH netral.

Keywords : *Pseudomonas aeruginosa*, enzyme, Lipase, Isolation, activity of enzyme

1.Pendahuluan

Proses hidrolisis minyak lemak menjadi asam lemak dan gliserol secara komersial yang sampai kini digunakan, beroperasi pada suhu 240-245°C dan tekanan 45-50 bar. Kondisi seperti ini membutuhkan biaya investasi yang tinggi, karena peralatan proses utama pabrik harus tahan terhadap suhu dan tekanan yang tinggi, serta terhadap asam (korosif). Proses ini juga mengkonsumsi energi yang besar untuk mempertahankan kondisi operasinya. Oleh karenanya perlu dicari alternatif proses yang dapat berlangsung pada suhu dan tekanan yang rendah. Proses hidrolisis enzimatik menggunakan enzim lipase dari mikroba memenuhi kriteria tersebut (Malcolm,1964).

Genus-genus mikroba yang mampu menghasilkan enzim lipase antara lain

ialah *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Moraxella*, *Arcaligenes*, *Candida* dan sebagainya.

Pseudomonas aeruginosa (*P. aeruginosa*) merupakan bakteri Gram negatif yang mampu menggunakan 80 macam senyawa organik untuk pertumbuhannya. Selain itu *P.aeruginosa* dapat menggunakan nitrat dalam kondisi anaerob. Suhu pertumbuhannya ialah antara 30°-42°C. Lipase yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* memiliki peranan yang sangat penting dalam bidang bioteknologi. Enzim yang dihasilkan dari genus ini merupakan suatu katalis yang sangat baik untuk reaksi sintesis transformasi organik. Enzim lipase dari *P. aeruginosa* merupakan enzim ekstraselular yang relatif lebih stabil dibandingkan enzim intraselular.

Produksi enzim lipase akan meningkat jika ada induser yang sesuai dalam medium. Tanpa induser, enzim lipase

tetap diproduksi, tetapi dalam jumlah yang kecil. Induser ialah zat yang ditambahkan kedalam medium produksi enzim untuk memicu produksi enzim lipase dari bakteri tersebut. Pada penelitian ini, induser yang digunakan ialah minyak jagung. Senyawa yang digunakan sebagai induser untuk memproduksi lipase adalah trigliserida yang mengandung asam lemak rantai panjang, seperti oleat (Gupta et al, 2004). Karena minyak jagung mengandung asam lemak oleat yang cukup tinggi, maka minyak jagung sangat cocok digunakan sebagai induser dalam memproduksi enzim tersebut.

Beberapa peneliti sebelumnya telah memproduksi enzim lipase dari jamur dan menambahkan kofaktor kedalam media pertumbuhannya, seperti Seniwati (2009), menggunakan ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} untuk memproduksi enzim lipase dari *Aspergillus niger*. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk memproduksi enzim lipase dengan menggunakan kofaktor yang lain. Adanya garam sangat mempengaruhi aktivitas enzim, misalnya dengan adanya garam NaCl sampai konsentrasi 7,0 mM, lipase menunjukkan aktivitas yang maksimal dan setelah itu aktivitas menurun (Winarno, 1992). Keberadaan ion kobalt dapat meningkatkan aktivitas enzim dengan mempertahankan kestabilan enzim pada suhu yang tinggi.

Di antara sumber lipase baik berasal dari tumbuhan, hewan dan mikroba, ternyata lipase mikroba paling banyak digunakan. Hal ini disebabkan karena mikroba dapat dengan mudah dibudidayakan. Selain itu, Enzim lipase dari mikroba umumnya tahan terhadap panas meskipun jasad penghasilnya tidak tahan. Untuk mendeteksi keberadaan mikroba penghasil lipase yang paling mudah adalah dengan menggunakan nutrien agar (Hidayat, 2006).

Lipase ekstraseluler berhasil diisolasi dari *P. aeruginosa* pada tahun 1986. Enzim lipase memiliki sub unit berupa glikoprotein dan lipoprotein. Sub unit tersebut dapat sebagai monomer, dimer, oligomer, atau polimer. Enzim lipase stabil pada suhu optimumnya yaitu 30°C , walaupun masih aktif pada 51°C (Nishio, 1987).

Pada kebanyakan mikroorganisme, bagian yang kuat dari lipase ekstraseluler

sebagian masih terikat pada dinding sel. Adanya ikatan antara enzim dan dinding sel mungkin menghambat ekskresi lipase berikutnya dalam media pertumbuhan dan dengan demikian menurunkan hasil lipase ekstraseluler. Zat yang dapat menstimulasi pelepasan lipase dari dinding sel sehingga dapat meningkatkan pembentukan lipase ialah ion magnesium dimana ion magnesium tersebut ditambahkan kedalam media pertumbuhan (Aisaka dan Terada, 1979).

2. Metode Penelitian

Penelitian ini dirancang berdasarkan eksperimental laboratorium, dengan menggunakan biakan murni bakteri *P. aeruginosa* yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi FMIPA-USU dan sampel yang digunakan sebagai induser berupa minyak jagung merk "Mazola" sedangkan substrat yang digunakan adalah RBDPO (*Refining Bleaching Deodorizing Palm Oil*). Pada penelitian ini untuk mendapatkan kondisi yang optimum, *P. aeruginosa* ditumbuhkan pada media dengan sumber karbon yang berasal dari minyak jagung dengan konsentrasi yang divariasikan, sebagai sumber nitrogen yang diujikan adalah 0,3% ammonium nitrat (NH_4NO_3) dan komposisi senyawa lain yang juga dibuat tetap yaitu: KH_2PO_4 dan K_2HPO_4 sebagai buffer pada pH 7 (Abiggor dkk, 2002) 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Kotch et al, 1991) penambahan kofaktor enzim Na^+ yang berasal dari kristal 7,0 mM NaCl (Winarno, 1983), penambahan kofaktor enzim Co^{2+} yang berasal dari 1,0 mM $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Dimana kadar asam lemak bebas hasil hidrolisis enzim ditentukan dengan metode titrasi.

Dalam penelitian ini digunakan tiga variabel perlakuan yaitu variabel tetap, variabel bebas dan variabel terikat.

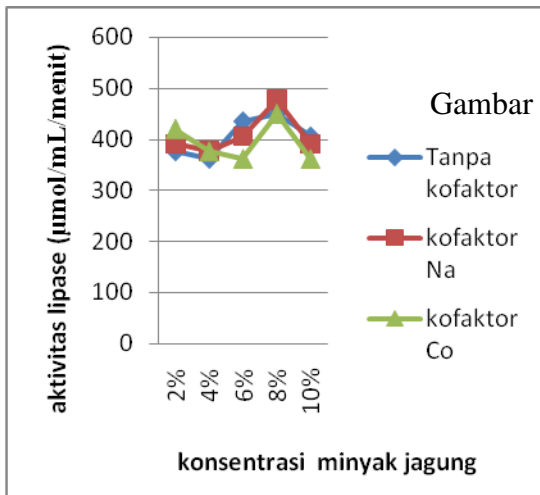
1. Variabel tetap meliputi : jenis induser, jenis kofaktor enzim, jenis bakteri, temperatur, pH, tempat produksi, dan lama produksi.
2. Variabel bebas meliputi : konsentrasi
3. induser dan komposisi media produksi
4. Variabel terikat meliputi : Aktivitas enzim lipase yang diukur berdasarkan kadar asam lemak bebas (%).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil Penelitian

3.1.1 Pengaruh konsentrasi induser dan kofaktor terhadap media pertumbuhan

Ekstrak kasar yang dihasilkan dengan konsentrasi induser 8 % adalah 18 mL. Pengaruh konsentrasi induser dan kofaktor enzim terhadap media produksi enzim lipase dapat dilihat pada grafik berikut :



Gambar 3.

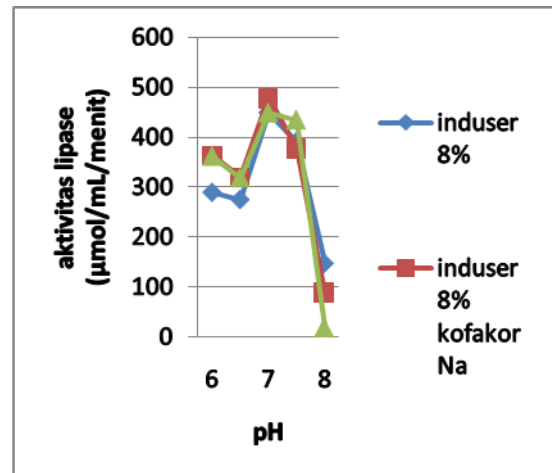
Gambar 3.1. Pengaruh konsentrasi induser dan kofaktor terhadap media pertumbuhan

Dari grafik dapat dilihat pengaruh konsentrasi induser dan kofaktor terhadap produksi enzim lipase. Aktivitas enzim tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi induser 8% dengan kofaktor Na^+ yaitu sebesar 478,5026 $\mu\text{mol/mL/menit}$.

3.1.2. Pengaruh pH terhadap aktivitas

Ekstrak kasar enzim Lipase yang diproduksi dari bakteri *P. aeruginosa* pada konsentrasi induser 8% serta penambahan kofaktor divariasikan terhadap pH yaitu 6; 6,5; 7; 7,5; dan 8. Grafik hasil perhitungan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dalam

menghidrolisis minyak dapat dilihat dibawah ini :



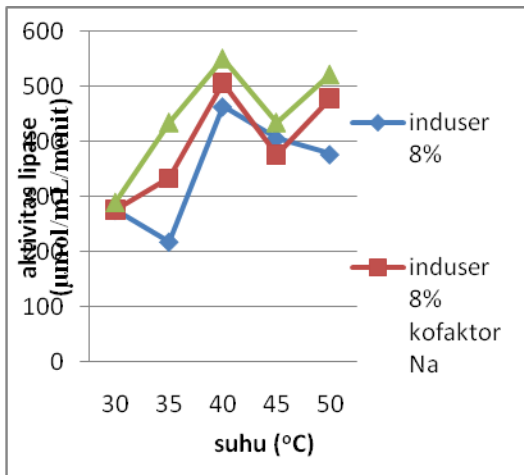
Gambar 2. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim lipase dengan konsentrasi induser 8% serta penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+}

pH optimum untuk enzim lipase dengan konsentrasi induser 8%, 8%Na dan 8% Co yaitu 7 dimana aktivitasnya masing-masing secara berturut-turut ialah 449,4987; 478,5026; 449,4987 $\mu\text{mol/mL/menit}$.

3.1.3. Pengaruh Suhu terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase

Ekstrak kasar enzim lipase yang diproduksi dari bakteri *P. aeruginosa* pada konsentrasi induser 8% serta penambahan kofaktor divariasikan terhadap suhu yaitu 30°, 35°, 40°, 45°, dan 50°C. Grafik hasil perhitungan

aktivitas ekstrak kasar enzim Lipase dalam menghidrolisis minyak dapat dilihat dibawah ini :



Gambar 3.3. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim lipase dengan konsentrasi induser 8% serta penambahan kofaktor Na⁺ dan Co²⁺

Suhu optimum untuk enzim lipase dengan konsentrasi induser 8%, 8%Na dan 8% Co yaitu 40°C dimana aktivitasnya masing-masing secara berturut-turut ialah 463,9974; 507,6; 551,0026 µmol/mL/ment

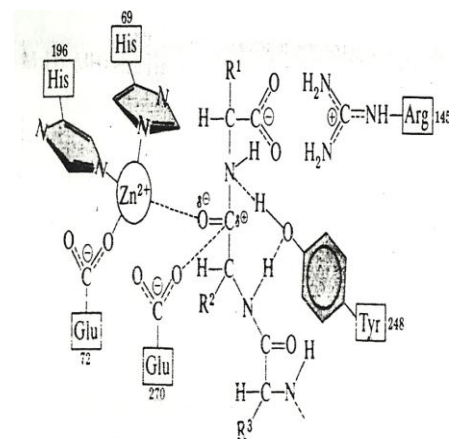
3.2. Pembahasan Hasil penelitian

3.2.1. Pengaruh konsentrasi induser dan kofaktor terhadap media pertumbuhan

Konsentrasi 8% merupakan konsentrasi substrat optimum bagi *P. aeruginosa* untuk memproduksi enzim lipase. Sedangkan pada konsentrasi substrat 2,4, dan 6%, enzim lipase tidak dapat diproduksi secara maksimal. Hal ini disebabkan bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik pada konsentrasi induser yang rendah. Pada konsentrasi substrat 10% aktivitas mengalami penurunan yang diakibatkan kurangnya difusi oksigen kedalam media sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri. Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri aerob yang sangat membutuhkan oksigen dalam kelangsungan proses metabolismenya. Produksi enzim lipase akan meningkat jika ada induser yang sesuai dalam medium. Tanpa induser, enzim lipase tetap diproduksi, tetapi dalam jumlah yang kecil. Induser ialah

zat yang ditambahkan kedalam medium produksi enzim untuk memicu produksi enzim lipase dari bakteri tersebut (Gupta *et al*, 2004).

Penambahan ion Na⁺ dan ion Co²⁺ terhadap media pertumbuhan dapat meningkatkan aktivitas enzim. Tanpa ion kofaktor, aktivitas enzim mula-mula ialah 449,4987 µmol/mL/ment sedangkan dengan adanya ion Na⁺ dan ion Co²⁺ aktivitas meningkat hingga mencapai 478,5026 µmol/mL/ment dan 449,4987 µmol/mL/ment. Menurut Palmer (1991) beberapa enzim memerlukan ion-ion logam tertentu untuk meningkatkan aktivitasnya. Pada konsentrasi tertentu, ion logam dapat bertindak sebagai aktivator dan pada konsentrasi tertentu pula dapat bertindak sebagai inhibitor. Selain itu, adanya ikatan kompleks antara enzim dan ion logam akan meningkatkan aktivitas enzim dimana ion logam akan berikatan secara koordinasi dengan sisi aktif enzim kemudian akan membentuk ikatan koordinasi dengan substrat. Dengan adanya ikatan tersebut substrat akan mudah dipecah oleh enzim. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 3.4



Gambar 3.4 Ikatan koordinasi enzim dengan ion logam

Adanya garam sangat mempengaruhi aktivitas enzim, misalnya dengan adanya garam NaCl sampai konsentrasi 7,0 mM, lipase menunjukkan aktivitas yang maksimal dan setelah itu aktivitas menurun (Winarno, 1992). Hal ini ditunjukkan pada grafik, bahwa

enzim yang mengandung kofaktor Na^+ dan Co^{2+} , akan mengalami peningkatan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan enzim yang tidak menggunakan kofaktor.

3.2.2 Pengaruh suhu terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase

Seiring dengan bertambahnya suhu, aktivitas enzim terus meningkat hingga akhirnya menurun pada suhu 50°C . Karena struktur protein menentukan aktivitas enzim, maka jika struktur ini terganggu, aktivitas akan berubah. Proses denaturasi berlaku untuk protein-protein enzim, dan bahan yang mendenaturasi adalah sama. Misalnya enzim sering memperlihatkan kerapuhan akibat suhu jika di atas 50°C (Ismadi, 1998). Pada gambar 4.2 dan gambar 4.3, enzim mengalami penurunan aktivitas pada suhu 45°C kemudian aktivitas meningkat kembali pada suhu 50°C . Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh kofaktor yang membantu enzim aktif dalam menghidrolisis substrat.

3.2.3 Pengaruh pH terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase

Beberapa enzim memiliki toleransi terhadap perubahan pH, tapi yang lainnya bekerja dengan baik pada rentang pH yang tidak terlalu jauh. Jika suatu enzim diberi pH yang ekstrim, maka akan terdenaturasi (Ismadi, 1998).

Dari gambar 4.2, dapat dilihat bahwa aktivitas enzim mengalami peningkatan hingga pH 7,5 dan menurun secara drastis pada pH 8. Hal ini dapat disebabkan karena putusannya ikatan hidrogen sehingga struktur enzim tersebut berubah atau terdenaturasi.

4. Kesimpulan

1. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi minyak jagung optimum untuk memproduksi ekstrak kasar enzim lipase adalah 8% dan dengan penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+} kedalam media produksi, maka aktivitas enzim akan meningkat. Aktivitas tertinggi enzim lipase terjadi pada konsentrasi induser 8% dengan penambahan kofaktor

Na^+ yaitu sebesar 478,5026 $\mu\text{mol/mL}/\text{menit}$.

2. Suhu optimum untuk masing-masing enzim lipase dengan konsentrasi 8% serta penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+} ialah 40°C sedangkan pH optimum untuk masing-masing enzim lipase dengan konsentrasi 8% serta penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+} ialah 7.

DAFTAR PUSTAKA

Aisaka, K. & Terada, O. (1979). *Agricultural and Biological Chemistry*. Hlm 2125

Abigor, R. D., P. O. Uadia., T. A. Foglia, M. J. K. Scott dan B. J. Savary. 2002. *Partial and Properties of Lipase from Germaning Seeds of *Jatropha curcas**, *L.J. Am Oil. Chem. Soc.*, 79 ; hlm 1123-1126

Hidayat, N. 2006. *Mikrobiologi Industry*. Edisi pertama. Yogyakarta: Andi Offset.

Ismadi, M. 1998. *Biokimia*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.

Malcolm, D. 1964. *Enzymes*. Second Edition. New York. Academic Press.

Nishio, T., T. Chikano, and M. Kamimura. 1987. *Tracylglycerol dalam enzyme Handbook*. Springer-Verlag, .

Winarno, F.G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka utama.