

PENAPISAN AKTIVITAS LIPOLITIK SEPULUH BIAKAN *Rhizopus*
KOLEKSIUICC (UNIVERSITY OF INDONESIA CULTURE COLLECTION)¹
[Screening Lipolytic Activity of Ten Strains *Rhizopus* from
University of Indonesia Culture Collection (UICC)]

Inu Yuyun Lusini², Wibowo Mangunwardoyo¹ ET dan Indrawati Gandjar²

²Akademi Kimia Analis CARAKANusantara, Cimanggis-Kelapa Dua, Depok 16951

³Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Universitas Indonesia, Depok 16424

* e-mail: w_mangunwardoyo@hotmail.com

ABSTRACT

Ten *Rhizopus* were screened for their extracellular lipolytic activity. All strains showed lipolytic activity with different activities. *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* (Cohn) Scipper & Stalpers UICC 520 (4.52 unit/ml) and *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 (2.58 unit/ml) showed a high lipolytic activity in screening medium containing 5% pepton and 1% glucose (b/v) without a lipid substrate after 24 hours of incubation at room temperature.

Kata kunci: Enzim ekstraselular, lipase, *Rhizopus*, University of Indonesia Culture Collection (UICC).

PENDAHULUAN

University of Indonesia Culture Collection (UICC) merupakan unitkoleksi biakan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi FMIPA-UI, didirikan Tahun 1980; menjadi anggota ke 63 dari Worlds Federation on Culture Collection. Koleksi UICC merupakan biakan mikroba indigenus di Indonesia yang penting bagi industri pangan, lingkungan, pertanian, molekular genetik, fermentasi, produksi enzim dsb. UICC memiliki visi untuk konservasi keanekaragaman mikroorganisme di Indonesia. Saat ini jumlah koleksi telah mencapai 2.115 biakan terdiri: 43 bakan bakteri, 479 biakan kapang dan 1.933 biakan khamir.

Lipase (triacylglycerol acilhydrolases, E.C.3.1.1.3) adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis dari lipid (triasilgliserol) menjadi diasilgliserida, monoasilgliserida atau gliserol, dan asam-asam lemak bebas (Pandey *et al.*, 1999). Lipase telah digunakan dalam industri makanan seperti pada proses penggantian substituen *cocoa butter* (Mojovick *et al.*, 1993) atau teh (Ramarethinamefa^l, 2002). Dalam industri kosmetik, lipase digunakan sebagai emulsifier dan pelembap (Sharma *et al.*, 2001). Lipase juga dapat diaplikasikan pada produksi biodiesel dan biopolimer (Fukuda *et al.*, 2001; Hama *et al.*, 2006). Lipase diproduksi oleh beberapa mikroorganisme, tumbuhan, dan hewan. Pada umumnya produksi lipase yang

diproduksi untuk tujuan komersial berasal dari mikroorganisme (Sharma *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2003).

Penapisan produksi lipase terus dilakukan terhadap sejumlah strain baru dari kelompok kapang *Rhizopus* yang ada di koleksi biakan UICC, karena *Rhizopus* spp. adalah kelompok kapang yang dikenal sebagai mikroorganisme penghasil enzim lipolitik. Kelompok *Rhizopus* yang telah diketahui sebagai penghasil lipase komersial adalah *R. arrhizus*, *R. delemar*, *R. japonicus*, *R. niveus* dan *R. oryzae* (Sharma *et al.*, 2001).

Explorasi terhadap koleksi UICC telah banyak dilakukan, misalnya untuk penelitian lipase, sebanyak 21 biakan *Rhizopus* terpilih diuji aktivitas dengan metode rhodamine B, semuanya menunjukkan zona bening (halo) karena adanya aktivitas lipase. Pengujian lain menunjukkan bahwa pada fermentasi cair menghasilkan satu biakan *Rhizopus oligosporus* UICC 542 menunjukkan aktivitas yang tinggi (15,89 unit/mg). Hasil karakterisasi partial menunjukkan enzim tersebut memiliki pH optimum 7,5 dan memiliki dua suhu optimum 35°C (65,67 unit/mg) serta 45°C (55,67 unit/mg) (Mangunwardoyo *et al.*, 2004).

Tujuan penelitian adalah penapisan aktivitas lipase sepuluh biakan *Rhizopus* koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC).

BAHAPANMETODE

Bahan

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian adalah sepuluh biakan *micro-Rhizopus* koleksi UICC yang diisolasi dari tempe dan bahan lain berasal dari berbagai daerah di Indonesia, pengelompokan biakan dalam *micro-Rhizopus* berdasarkan Schipper dan Stalpers (1984) (Tabel 1).

Pembuatan inokulum dan enumerasi spora kapang

Sebanyak 4 ml akuades steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi kapang *Rhizopus* yang telah berumur lima hari secara aseptis. Biakan tersebut kemudian dikerik perlahan dengan menggunakan jarum ose untuk memperoleh suspensi spora. Suspensi spora dikocok agar homogen. Selanjutnya ditentukan jumlah spora per ml akuades dengan metode *Count Forming Unit* (CFU) (Gandjar et al., 1992).

Medium basal

Medium basal yang digunakan adalah metode Samad et al. (1990) yang dimodifikasi dengan metode Ellibol dan Ozer (2002) terdiri dari pepton 50, glukosa 10, KH_2PO_4 0,5, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 (g/l) dalam akuades dengan pH 6,0.

Penapisan aktivitas lipolitik sepuluh biakan *Rhizopus*

Sebanyak 0,2 ml suspensi spora ($0,73-9,05 \times 10^6$ spora/ml) diinokulasikan dalam erlenmeyer 100 ml yang berisi medium basal 20 ml dengan pH 6,0. Setiap

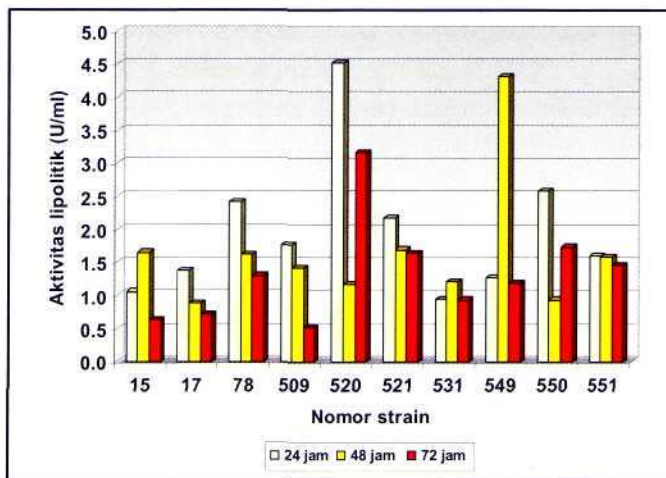
perlakuan diulang tiga kali (triplo). Inkubasi menggunakan *shaker incubator* pada suhu ruang ($27-30^\circ\text{C}$) dan kecepatan pengocokan 110 rpm. Pemanenan dilakukan pada jam ke 24,48 dan 72. Hasil fermentasi disaring dengan kertas Whatman nomor 1. Aktivitas lipolitik ditentukan berdasarkan metode titrasi (Samać et al., 1990) dan biomassa dikeringkan dalam oven 50°C hingga konstan. Perhitungan berat kering biomassa ditentukan dengan rumus menurut (Nahas, 1988).

Uji substrat lipid yang ditambahkan dalam medium basal strain terpilih

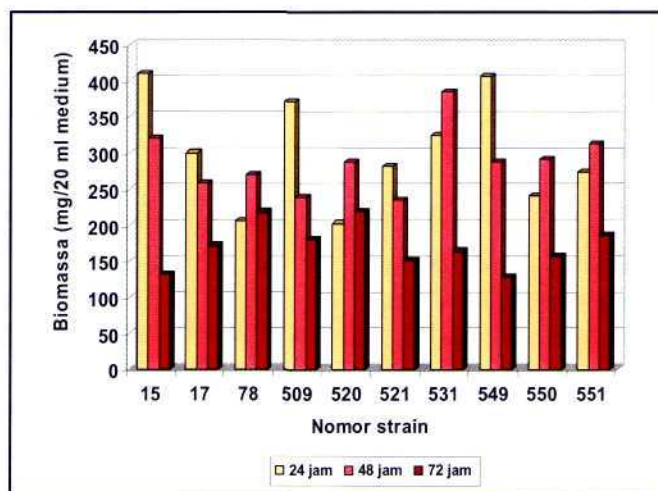
Uji substrat lipid dilakukan berdasarkan metode Kulkarni (2002). Substrat lipid yang akan ditambahkan pada medium basal, diemulsifikasi terlebih dahulu dengan polivinil alkohol (PVA). Emulsi minyak 20% (v/v) dibuat dengan mencampurkan substrat lipid dan larutan PVA (2% g/v) dengan perbandingan 1:4. Emulsi dihomogenkan dalam *shaker* 150 rpm selama satu jam dan disterilisasikan dengan autoklaf 121°C , 15 menit. Emulsi substrat lipid ditambahkan ke medium fermentasi yang berisi medium basal dengan konsentrasi akhir substrat lipid 2% (v/v). Sebanyak 0,2 ml suspensi spora ($1,4 - 2,67 \times 10^6$ spora/ml) diinokulasi ke dalam medium fermentasi, dan diinkubasikan dalam *shaker incubator* pada suhu ruang ($27-30^\circ\text{C}$) dan kecepatan pengocokan 110 rpm. Penghitungan biomassa kering, pH dan aktivitas lipolitik dilakukan pada jam ke 24,48 dan 72.

Tabel 1. Sepuluh biakan *microRhizopus* koleksi UICC yang diteliti.

No	Nama species	Asal
1	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>microsporus</i> van Tieghem UICC 15	Tempe kedelai, Yogyakarta
2	<i>Rhizopus oligosporus</i> Saito UICC 17	Tempe gembus, Yogyakarta
3	<i>Rhizopus oligosporus</i> Saito UICC 78	Tempe kapok, Mojokerto
4	<i>Rhizopus oligosporus</i> Saito UICC 509	Bedak dingin, Mustika ratu
5	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>rhizopodiformis</i> (Cohn) Schipper & Stalpers UICC 520	Daun waru, Manado
6	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>chinensis</i> (Saito) Schipper & Stalpers UICC 521	Tempe kedelai, Aceh
7	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>microsporus</i> van Tieghem UICC 531	Tempe kedelai, Balikpapan
8	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>oligosporus</i> (Saito) Schipper & Stalpers UICC 549	Tempe kedelai, Palu
9	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>oligosporus</i> (Saito) Schipper & Stalpers UICC 550	Tempe kedelai, Maumere NTB
10	<i>Rhizopus microsporus</i> var. <i>oligosporus</i> (Saito) Schipper & Stalpers UICC 551	Tempe kedelai, Riau



Gambar 1. Aktivitas lipolitik sepuluh biakan *Rhizopus* setelah inkubasi 24,48, dan 72 jam



Gambar 2. Berat biomassa sepuluh biakan *Rhizopus* pada inkubasi 24, 48, dan 72 jam

Setiap perlakuan dilakukan tiga kali (triplo).

PENGUKURAN AKTIVITAS LIPOLITIK

Penentuan aktivitas lipolitik

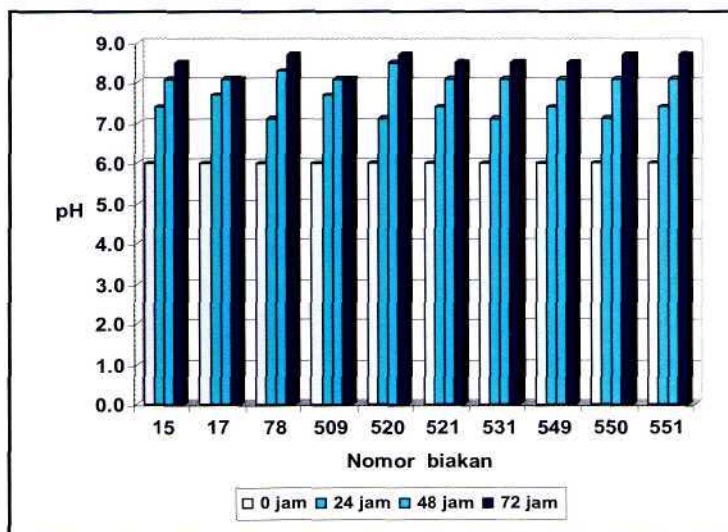
Aktivitas lipolitik ditentukan dengan cara titrasi menurut metode Samad *et al.* (1990). Substrat minyak zaitun diemulsikan terlebih dahulu, dengan menambahkan 1% (b/v) PVA ke dalam minyak zaitun 50% (v/v) kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit bufer fosfat pH 7,5, 50 % (v/v) sambil dikocok. Emulsi dihomogenkan dengan shaker 150 rpm, selama minimal satu jam.

Substrat sebanyak 2,5 ml yang telah diemulsikan ditambah dengan 1 ml filtrat enzim dan 20 μ l CaCl_2 0,02M. Campuran tersebut diinkubasi dalam *water bath shaker*,

pada suhu 35° C selama 30 menit, kecepatan pengocokan 120 rpm. Sebanyak 3,5 ml campuran etanol dan aseton p.a (1: 1) ditambahkan pada substrat setelah inkubasi untuk menghentikan kerja enzim. Selanjutnya ditambahkan tiga tetes larutan fenoltalein 1% dan dititrasi dengan larutan NaOH yang telah distandarisasi. Satu unit (U) aktivitas lipase didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang membebaskan 1 μ mol asam lemak per menit pada kondisi pengujian.

HASIL

Penapisan aktivitas lipolitik sepuluh biakan *Rhizopus*
Aktivitas lipolitik sepuluh biakan *Rhizopus*,



Gambar 3. pH medium sepuluh biakan *Rhizopus* pada inkubasi 24, 48, dan 72 jam

pada tiga waktu inkubasi dapat dilihat pada Gambar 1. Berat biomassa disajikan pada Gambar 2, sedangkan Gambar 3 menunjukkan perubahan pH medium fermentasi kesepuluh biakan yang diuji dalam tiga waktu inkubasi yaitu pada 24, 48 dan 72 jam.

Aktivitas lipolitik sepuluh biakan yang diuji

Rhizopus microsporus var. *microsporus* UICC 15

Aktivitas lipolitik *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 15 pada jam ke 24, 48 dan 72 masing-masing adalah 1,05 U/ml, 1,65 U/ml, 0,63 U/ml, tertinggi pada jam ke 48 dan terendah pada jam ke 72. Berat biomassa pada jam ke 24, 48 dan 72 masing-masing adalah 410,3, 320,7 dan 132,0 mg/20 ml medium. Berat biomassa tertinggi dicapai pada jam ke 24.

Rhizopus oligosporus UICC 17

Aktivitas lipolitik *R. oligosporus* UICC 17 pada tiga waktu inkubasi 24, 48 dan 72 jam masing-masing adalah 1,37, 0,88 dan 0,72 U/ml. Aktivitas lipolitik dan berat biomassa tertinggi (299,7 mg/20 ml medium) dicapai pada jam ke 24. Seperti halnya aktivitas lipolitik, berat biomassa *R. oligosporus* UICC 17 pada jam ke 48 (258 mg/20 ml medium) dan ke 72 (172 mg/20 ml medium) lebih rendah dari jam ke 24.

Rhizopus oligosporus UICC 78

Aktivitas lipolitik *R. oligosporus* UICC 78 pada tiga waktu inkubasi 24, 48 dan 72 jam masing-masing adalah 2,41, 1,62 dan 1,30 U/ml. Aktivitas lipolitik tertinggi pada jam ke 24, sedangkan berat biomassa

tertinggi dicapai pada jam ke 48. Berat biomassa *R. oligosporus* UICC 78 berturut-turut adalah 206,0, 269,1 dan 218,3 mg/20 ml medium.

Rhizopus oligosporus UICC 509

Aktivitas lipolitik tertinggi untuk *R. oligosporus* UICC 509 adalah pada jam ke 24 (1,76 U/ml). Aktivitas lipolitik pada jam ke 48 lebih rendah yaitu 1,41 U/ml dan 0,51 U/ml pada jam ke 72. Berat biomassa tertinggi (371,1 mg/20 ml medium) juga dicapai pada jam ke 24 dan lebih rendah pada jam ke 48 dan jam ke 72 yaitu 238,0 dan 180,3 mg/20 ml medium.

Rhizopus microsporus var. *rhizopodiformis* UICC 520

Biakan *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520 memiliki aktivitas lipolitik tertinggi di antara kesepuluh biakan *Rhizopus* sp. yang diuji pada jam ke 24 (4,52 U/ml). Aktivitas lipolitiknya lebih rendah pada jam ke 48 (1,16 U/ml), tetapi tinggi pada jam ke 72 (3,16 U/ml). Berat biomassa *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520 tertinggi (287,0 mg/20 ml medium) pada jam ke 48, saat aktivitas lipolitiknya terendah di antara tiga waktu inkubasi. Berat biomassa pada jam ke 24 adalah 202,7 mg/20 ml medium dan 219,5 mg/20 ml medium pada jam ke 72.

Rhizopus microsporus var. *chinensis* UICC 521

Aktivitas lipolitik *R. microsporus* var. *chinensis* UICC 521 tertinggi (2,17 U/ml) pada jam ke 24. Pada jam ke 48 dan ke 72 aktivitas lipolitik lebih rendah yaitu 1,69 U/ml dan 1,64 U/ml. Berat biomassa (282,1 mg/20

ml medium) dan aktivitas lipolitik tertinggi (2,17 U/ml) dicapai bersamaan pada jam ke 24. Berat biomassa lebih rendah pada jam ke 48 (235,0 mg/20 ml medium) dan terendah padajam ke 72 (151,4 mg/20 ml medium).

***Rhizopus microsporus* var. *microsporus* UICC 531**

Aktivitas lipolitik *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 531 padajam ke 24, 48 dan 72 masing-masing adalah 0,94 U/ml, 1,2 U/ml dan 0,93 U/ml, sedangkan berat biomasanya masing-masing 323,8, 383,7 dan 163,9 mg//20 ml medium. Aktivitas lipolitik dan berat biomassa tertinggi strain *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 531 dicapai pada jam ke 48.

***Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* UICC 549**

Aktivitas lipolitik *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 549 tertinggi (4,3 U/ml) padajam ke 48. Aktivitas lipolitik padajam 24 lebih rendah (1,26 U/ml) dan jam ke 72 (1,18 U/ml) merupakan aktivitas lipolitik terendah. Berat biomassa tertinggi dicapai pada jam ke 24 (405,5 mg), sedangkan padajam ke 48 dan 72 berat biomassa lebih rendah yaitu 287,1 dan 128,1 mg//20 ml medium.

***Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* UICC 550**

Aktivitas lipolitik *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 adalah 2,58 U/ml tertinggi pada jam ke 24 dan berat biomassa 240,9 mg/20 ml medium. Aktivitas lipolitik padajam ke 48 lebih rendah (0,93 U/ml) dari jam ke 24, pada saat berat biomassa tertinggi (291,6 mg/20 ml medium). Aktivitas lipolitik padajam ke 72 (1,73 U/ml) lebih tinggi dari aktivitas lipolitik jam ke 48. Berat biomassa pada 24 jam adalah 240,9 mg/20 ml medium dan padajam ke 72 adalah 156,7 mg//20 ml medium.

***Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* UICC 551**

Aktivitas lipolitik tertinggi untuk *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 551 adalah 1,6 U/ml padajam ke 24. Aktivitas lipolitik pada dua waktu inkubasi lain yaitu 48 dan 72 jam adalah 1,58 U/ml dan 1,46 U/ml. Berat biomassa padajam ke 24 adalah 274,0 mg/20 ml medium, sedangkan berat biomassa tertinggi dicapai padajam ke 48 (312,5 mg/20 ml medium). Berat biomassa terendah dicapai padajam ke 72 (186,8 mg/20 ml medium).

Perubahan pH medium penapisan aktivitas lipolitik selama fermentasi

Perubahan pH medium (pH awal 6,0) untuk kesepuluh biakan yang diuji bergeser ke arah basa (Gambar 3) dan padajam ke 72 medium menunjukkan pH paling basa (8,1- 8,7).

PEMBAHASAN

Gambar 1, menunjukkan bahwa kesepuluh biakan yang diuji memiliki aktivitas lipolitik dengan tingkat yang bervariasi. Aktivitas lipolitik maksimal setiap biakan, dicapai dalam waktu inkubasi yang tidak selalu sama. Tujuh biakan menunjukkan aktivitas lipolitik tertingginya dicapai padajam ke 24 seperti *R. oligosporus* UICC 78, *R. oligosporus* UICC 17, untuk *R. oligosporus* UICC 509, *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520, *R. microsporus* var. *chinensis* UICC 521, *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 551. Tiga biakan *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 15, *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 549 dan *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 531, aktivitas lipolitik tertingginya dicapai padajam ke 48 jam.

Pada jam ke 72 semua biakan menunjukkan aktivitas lipolitik yang terendah, kecuali biakan *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520 dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550. Aktivitas lipolitik kedua biakan tersebut, kembali meningkat pada jam ke 72 (UICC 520 = 3,16 U/ml dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 = 1,73 U/ml), meski tidak setinggi aktivitas lipolitik padajam ke 24 (UICC 520 = 4,52 U/ml dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 = 2,58 U/ml). Fenomena tersebut mungkin disebabkan oleh kondisi fermentasi yang tidak mendukung produksi lipase pada sistem yang dipanen pada jam ke 48, seperti faktor ketersediaan oksigen. Elibol dan Ozer (2002) melaporkan produksi lipase dari *R. arrhizus* sangat tergantung pada ketersediaan oksigen. Ketersediaan oksigen dipengaruhi oleh efek dari agitasi dan aerasi selama fermentasi. Mikroorganisme lain tidak mengalami kenaikan aktivitas lipolitik pada jam ke 72. Hal demikian mungkin disebabkan perbedaan respon setiap mikroorganisme akibat perbedaan sifat fisiologi, morfologi dan sekaligus menunjukkan bahwa setiap mikroorganisme memiliki

kebutuhan oksigen yang berbeda untuk mempertahankan fungsi fisiologi (Allonso *et al.*, 2005).

Kemungkinan kedua, terjadi proses degradasi kembali lipase ekstraselular yang telah diproduksi oleh sel-sel mikroorganisme (*self consumption*) pada jam ke 48 akibat kondisi populasi tinggi (291 mg/20 ml medium), sedangkan pada jam ke 72 kondisi populasi sel lebih rendah (156,7 mg/20 ml medium). Pada saat tersebut, waktu fermentasi sudah melampaui fase stasioner (jumlah populasi sel menurun) sehingga *self consumption* kemungkinan tidak terjadi; selain itu, kemungkinan sebagian sel telah mengalami lisis dan lipase intraselular dilepaskan dalam medium menjadi satu dengan lipase ekstraselular (aktivitas lipolitik tinggi). Dua biakan dengan aktivitas yang tinggi pada jam ke 24 berturut-turut adalah *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520 berasal dari daun waru di daerah Manado, dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 berasal dari tempe kedelai di daerah Maumere-NTT.

Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas lipolitik tidak selalu disertai dengan kenaikan berat biomassa. Peningkatan aktivitas lipolitik biakan *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 15, *R. oligosporus* UICC 78, *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520, *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 549, *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 551, tidak seiring kenaikan berat biomasanya; sedangkan aktivitas lipolitik biakan *R. oligosporus* UICC 17, *R. oligosporus* UICC 509, *R. microsporus* var. *chinensis* UICC 521 dan *R. microsporus* var. *microsporus* UICC 531 seiring dengan bertambahnya berat biomassa. Aktivitas lipolitik yang tinggi tidak selalu dicapai pada saat berat biomassa mencapai maksimal. Nahas (1988) melaporkan, bahwa produksi miselium (biomassa) dan lipase oleh mikroorganisme sangat berbeda-beda dalam kondisi pertumbuhan yang bervariasi; dalam penelitiannya *R. oligosporus* menunjukkan aktivitas lipolitik yang rendah, walaupun berat biomassa tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Macris *et al.* (1996), produksi maksimal lipase ekstraselular *Aspergillus niger* dicapai pada saat biomassa mencapai berat maksimal.

Hasil penapisan juga menunjukkan bahwa

kesepuluh biakan *Rhizopus* memproduksi enzim lipolitik konstitutif. Enzim konstitutif adalah enzim yang selalu diproduksi oleh sel-sel mikroorganisme tanpa tergantung pada komposisi medium pertumbuhannya. Enzim konstitutif diproduksi dalam jumlah kecil dan tidak dikontrol secara langsung oleh lingkungannya (Madigan *et al.*, 2000). Besar aktivitas lipolitik kesepuluh strain yang bervariasi membuktikan bahwa setiap mikroorganisme dapat memberi respon yang berbeda terhadap medium yang sama. Davranov dan Khalameizer (1997) juga melaporkan hal yang sama, sehingga menurutnya penelitian terhadap kondisi pertumbuhan setiap mikroorganisme untuk mendapat produksi lipase yang baik perlu dilakukan.

Produksi lipase sangat dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi sumber nitrogen dan karbon, pH medium, temperatur pertumbuhan, konsentrasi garam terlarut dan konsentrasi oksigen terlarut. Sumber karbon, nitrogen dan oksigen merupakan faktor yang paling menentukan produksi enzim suatu mikroorganisme (Madigan *et al.*, 2000; Elibol dan Ozer, 2002).

Gambar 3 menunjukkan perubahan pH medium sepuluh strain bergeser ke arah lebih basa dengan bertambahnya waktu inkubasi. Adanya perubahan pH ke arah basa selama terjadinya proses fermentasi, kemungkinan disebabkan oleh senyawa-senyawa basa seperti ammonium (NH₃) yang dilepaskan dalam medium sebagai hasil degradasi pepton dan asam amino yang terkandung dalam medium basal yang berisi bakto-pepton sebanyak 5% (g/v). Menurut Allonso *et al.* (2005) asam-asam amino bebas dalam medium, selanjutnya juga akan mengalami deaminasi menjadi senyawa ammonium. Pepton adalah senyawa larut air yang diperoleh dari daging tidak berlemak atau bahan-bahan protein lain seperti otot jantung, kasein, fibrin atau tepung kedelai yang didegradasi terlebih dahulu oleh enzim proteolitik seperti pepsin, tripsin atau papain. Kandungan utama dari bakto-pepton adalah pepton, asam-asam amino, berbagai garam anorganik seperti pospat, magnesium dan potasium (Madigan *et al.*, 2000).

KESIMPULAN

Sepuluh biakan *Rhizopus* koleksi UICC

menunjukkan aktivitas lipolitik dalam medium basal yang mengandung pepton 5% dan glukosa 1% (g/v). Dua biakan yang memiliki aktivitas lipolitik tertinggi di antara sepuluh biakan yang diuji berturut-turut adalah *R. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC 520 (4,52 U/ml) dan *R. microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 (2,58 U/ml) pada jam ke 24.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar MW, AQ Mirza and MID Chughtai. 1980.** Lipase induction in *Mucor hiemalis*. *Appl. and Environ. Microbiol.* **40**, 257-263.
- Allonso FOM, EBL Oliveira, GM Deltamore-oritz and Pereira-Meirelles. 2005.** Improvement of lipase production idt different stirrings speed & oxygen levels. *Brazillian Journal of Chemistry Engineering* **22(1)**, 9-18.
- Davranov K and VB Khalameizer. 1997.** Current state of the study of microbial lipases. *Chemistry of Natural Compound* **33**, 113-126.
- Ellibol M and D Ozer. 2002.** Response surface analysis of lipase production by freely suspended *Rhizopus arrhizus*. *Process Biochem.* **38**, 367-372.
- Fukuda H, A Kondo and H Noda. 2001.** Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience & Bioengineering* **92**, 405-416.
- Gandjar I, IR Koentjoro, W Mangunwardoyo dan L Subagyo. 1992.** *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Jurusan Biologi FMIPA-UI. Depok.
- Ha ma S, S Tamalampudi, T Fukumizu, K Miura, H Yamaji, A Kondo and H Fukuda. 2006.** Lipase localization in *Rhizopus oryzae* cells immobilized within biomass support particles for use as whole-cell biocatalyst in biodiesel-fuel production. *Journal of bioscience & bioengineering.* **110(4)**, 328-333.
- Kulkarni N. 2002.** Studies on lipase enzyme from *Pseudomonas fluorescens* NS2W. *PhD Thesis in Microbiology*. University of Pune, India.ii+213 him.
- Macris JB, E Kourentzi and DG Hatzinikolaou. 1996.** Studies on localization and regulation of lipase production by *Aspergillus niger*. *Procces Biochemistry* **31(8)**, 807-812.
- Madigan MT, JM Martinko and J Parker. 2000.** *Brock Biology of Microorganism*. Prentice Hall. Upper Saddle-River. New Jersey.
- Mangunwardoyo W, Santoso I, Fauzi R and MW Sugianto. 2004.** Lipase activity of *Rhizopus* spp. in University of Indonesia Culture Collection. *Proceedings of the Tenth International Congress For Culture Collection*. Tsukuba, Japan, 10-15 Oktober 2004.
- Mojovick L, S Siler-Marinkov, G Kuki and G Vunjak-Novakovic. 1993.** *Rhizopus arrhizus* lipase-catalyzed interesterification of the midfraction of palm oil to a cocoa butter equivalent fat. *Enzyme Microb. Technol.* **15**, 438-443.
- Nahas E. 1988.** Control of lipase production by *Rhizopus oligosporus* under variuos growth conditions. *J. of General Microbiology* **134**, 227-233.
- Pandey A, S Benjamin, CR Soccol, P Nigam, N Kriger and VT Soccol. 1999.** The realms of lipases in biotechnology. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **29**, 119-131.
- Ramarethinam S, K Latha and N Rajalakshmi. 2002.** Use of a fungal lipase for enhancement of aroma in black tea. *Food Sci. Technol. Res.* **8(4)**, 328-332.
- Samad M, YA Samad, AB Salleh, CNA Razak, K Ampon, WMZW Yunus and M Basri. 1990.** Lipase from a newly isolated thermophilic *Rhizopus rhizopodiformis*. *World J. of Microbiology and Biotechnology* **6**, 390-394.
- Schipper MAA and JA Stalper. 1984.** A revision of the genus *Rhizopus* II. The *Rhizopus microsporus-gmup*. *Studies in Mycology No.25*, 20-34.
- Sharma R, Y Chisti and UC Banerje. 2001.** Review: Production, purificaton, characterization and application of lipases. *Biotechnology Advances* **19**, 627-662.
- Zhang LY and DZ Wei. 2003.** Effective inducers for lipase production by *Candida rugosa*. *Annals of Microbiology* **53(4)**, 449-504.