

AKTIVITAS LIPOLITIK *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* ISOLAT UICC No. 6

Iman Santoso, Sitaresmi, Doni Prayudi dan Kudin

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

E-mail: isa@makara.cso.ui.ac.id

Abstrak

Pengaruh konsentrasi pepton (2,5% atau 5%), konsentrasi inokulum (0,1%, 0,5% atau 1%), serta masa inkubasi (0 – 96 jam, interval 12 jam) terhadap aktivitas lipolitik kapang *Rhizopus microsporus* var *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 telah dikaji dalam penelitian ini. Fermentasi dilakukan pada medium basal Samad dan aktivitas lipolitik terhadap substrat minyak zaitun diukur secara titrasi menggunakan 0,05 M NaOH. Aktivitas lipolitik dinyatakan dalam satuan unit/ml dan satu unit aktivitas lipase didefinisikan sebagai 1 μ mol asam lemak yang dibebaskan per menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas lipolitik optimal diperoleh dari perlakuan dengan konsentrasi inokulum 1% pada konsentrasi pepton 5% dan masa inkubasi 72 jam (3,19 U/ml).

Abstract

The lipolytic activity of *Rhizopus microsporus* var *rhizopodiformis* isolat UICC No. 6. A study was carried out to examine the effect of peptone concentration (2,5% or 5%), inoculum concentration (0,1%, 0,5% or 1%) and incubation period (0 – 96 hours, interval 12 hours) on the lipolytic activity of *Rhizopus microsporus* var *rhizopodiformis* isolat UICC No. 6. Fermentation was done using the basal medium from Samad and the lipolytic activity on olive oil substrate was measured employing titration method with 0,05M NaOH. Lipolytic activity is expressed as unit/ml and one unit is defined as 1 μ mol fatty acid liberated per minute. Results show that optimum lipolytic activity was obtained from 1 % inoculum, 5% peptone after 72 hours incubation period.

Keywords: lipolytic, Rhizopus, inoculum, incubation

1. Pendahuluan

Enzim dibutuhkan oleh berbagai industri sebagai biokatalis. Lebih dari setengah jumlah enzim yang digunakan dalam industri berasal dari fungi [1]. Salah satu fungi yang banyak dimanfaatkan oleh manusia adalah *Rhizopus* spp. [2] dan dalam skala industri telah dimanfaatkan untuk produksi lipase [3].

Keanekaragaman fungi di Indonesia mencapai 13,3% dari seluruh fungi yang ada di dunia sehingga selain harus dilestarikan juga harus dipelajari dan dimanfaatkan untuk kepentingan manusia [4].

Mengingat peranan fungi yang besar dalam bidang industri dan keanekaragamannya yang cukup tinggi di Indonesia, maka *University of Culture Collection* (UICC) berusaha mengoleksi kapang *Rhizopus* dari berbagai sampel tempe dan non-tempe [5]. Kapang tersebut masih harus diteliti lebih lanjut, salah satunya adalah tentang aktivitas lipolitik *Rhizopus*.

Penelitian bertujuan untuk mengkaji pengaruh konsentrasi pepton (2,5% atau 5%) serta konsentrasi inokulum (0,1%, 0,5% atau 1%) selama masa inkubasi 0 – 96 jam, (interval 12 jam) terhadap aktivitas lipolitik kapang *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC 125 no. 6.

2. Eksperimental

Mikroorganisme yang digunakan pada tahap skrining adalah *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 (tempe benguk, Yogyakarta), UICC no. 13 (*Air Handling* Unit-Manggala, Jakarta) serta UICC no. 33 (daun waru, Menado). Isolat yang akan diskriming tersebut dipelihara dalam medium PDA (*Potato Dextrose Agar*).

Skrining dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada medium cair mengandung pepton 5%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,05%, KH_2PO_4 0,1% dan $NaNO_3$ 0,1%. Isolat yang menunjukkan aktivitas lipolitik tertinggi digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Pengaruh konsentrasi pepton terhadap aktivitas enzim dari isolat terpilih dilakukan secara *batch culture*. Sebanyak 0,1% suspensi spora (25×10^6 spora/ml) diinokulasikan ke dalam 60 ml medium basal [6] dengan konsentrasi pepton 2,5% atau 5%.

Penelitian pengaruh konsentrasi inokulum terhadap aktivitas enzim dilakukan pada medium basal yang ditambahkan dengan 5% pepton dan diinokulasi dengan 0,1%, 0,5%, dan 1% suspensi spora.

Fermentasi dilakukan dengan pengocokan (100 rpm) dan masa inkubasi selama 96 jam (interval 12 jam). Aktivitas lipolitik diukur dengan titrasi menggunakan 0,05 M NaOH dengan indikator phenolphtalein. Sebagai substrat adalah minyak zaitun (Bertolli Lucca), berdasarkan metoda [6]. Sebagai kontrol digunakan medium yang tidak diinokulasi dengan suspensi spora.

Sebagai data pelengkap, biomassa kapang dan pH medium juga diukur pada waktu yang bersamaan dengan waktu pengukuran aktivitas enzim.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil skrining terhadap 3 isolat *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* menunjukkan bahwa isolat UICC no 6 memiliki aktivitas tertinggi (Tabel 1). Oleh karena itu, untuk penelitian selanjutnya digunakan isolat *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC no. 6.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata nilai aktivitas lipolitik yang tinggi pada pepton 2,5% diperoleh pada jam ke 36 yaitu 1,0944 U/ml dan jam ke 72 yaitu 1,3815 U/ml (Tabel 2 dan Gambar 1).

Tabel 1. Data skrining aktivitas lipolitik *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC no. 6,13,dan33(72 jam)

| Ulangan | Aktivitas Lipolitik | | |
|------------|---------------------|---------------|---------------|
| | Isolat no. 6 | Isolat no. 13 | Isolat no. 33 |
| 1 | 0.67 | 0.08 | 0.08 |
| 2 | 0.17 | 0.17 | 0.25 |
| 3 | 0.58 | 0.08 | 0.33 |
| 4 | 1.25 | -0.05 | 0.78 |
| 5 | 3.67 | 0.12 | 1.28 |
| 6 | 1.08 | 0.03 | 0.45 |
| Σx | 7.42 | 0.43 | 3.17 |

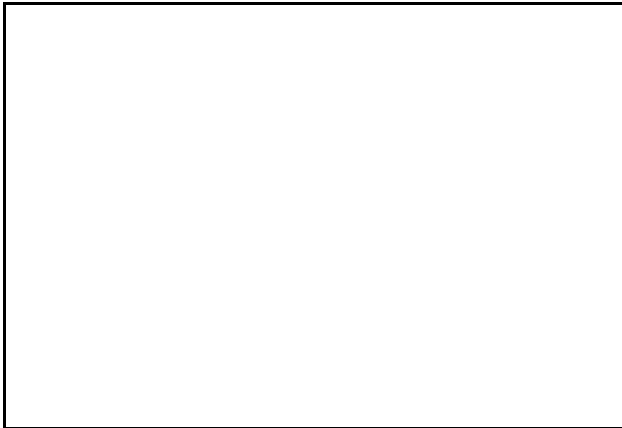
Tabel 2. Data rerata aktivitas lipolitik (U/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi pepton 2,5% dan 5%

| Jam | Aktivitas Lipolitik | |
|-----|---------------------|-----------|
| | pepton 2.5% | pepton 5% |
| 0 | 0.2241 | 0.5704 |
| 12 | 0.5389 | 0.8389 |
| 24 | 1.0574 | 1.4685 |
| 36 | 1.0944 | 2.0146 |
| 42 | 0.9741 | 1.6822 |
| 48 | 0.8629 | 1.5611 |
| 60 | 1.0296 | 2.7833 |
| 72 | 1.3815 | 2.9778 |
| 84 | 1.2426 | 4.1444 |

Gambar 1. Rerata aktivitas lipolitik (U/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi pepton 2,5% dan 5%

Tabel 3. Data rerata biomassa kapang (mg/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi pepton 2,5% dan 5%

| Jam | Biomassa Kapang | |
|-----|-----------------|-----------|
| | pepton 2.5% | pepton 5% |
| 0 | 0.328 | 0.490 |
| 12 | 0.538 | 0.793 |
| 24 | 2.341 | 3.574 |
| 36 | 3.424 | 6.399 |
| 42 | 3.324 | 5.917 |
| 48 | 3.524 | 5.713 |
| 60 | 3.344 | 6.341 |
| 72 | 3.074 | 4.479 |
| 84 | 2.574 | 4.703 |



Gambar 2. Rerata biomassa kapang (mg/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi pepton 2,5% dan 5%

Namun demikian bila dilihat data biomassa sel (Tabel 3 dan Gambar 2), maka akan tampak bahwa terjadi penurunan biomassa pada jam ke 72 yang menandakan sel mengalami lisis. Pengamatan menunjukkan bahwa sel pelet kapang mengalami fragmentasi membentuk hifa yang tidak teratur. Oleh karena itu, tingginya aktivitas lipolitik pada jam ke 72 diduga disebabkan karena adanya aktivitas enzim intraselular. Fellow [7] menyatakan bahwa enzim intraselular hanya dilepaskan ke dalam medium pada saat sel mengalami lisis.

Pada konsentrasi pepton 5% akan terlihat bahwa rerata aktivitas lipolitik tertinggi diperoleh pada jam ke 84 yaitu sebesar 4,1444 U/ml, dan kemudian pada jam ke 60 yaitu 2,7883 U/ml (Tabel 2 dan Gambar 1). Namun tingginya nilai aktivitas pada jam ke 84 tersebut diduga pula akibat adanya enzim intraselular saat sel mengalami lisis. Hal ini tercermin dari berat biomassa sel yang mengalami penurunan (Tabel 3 dan Gambar 2).

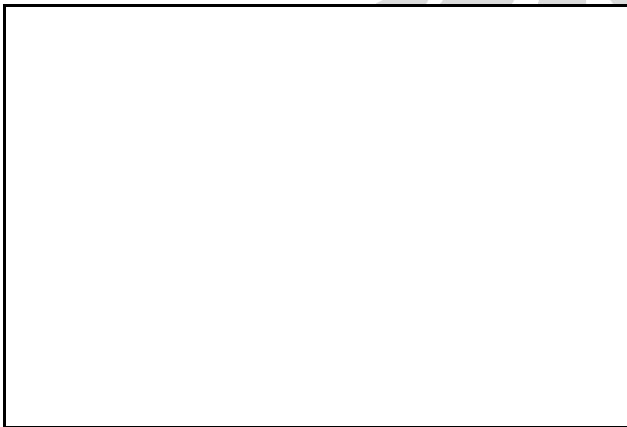
Analisis statistik menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata antara aktivitas lipolitik pada konsentrasi pepton 2,5% jam ke-36 dengan konsentrasi pepton 5% jam ke-60. Hal tersebut menyimpulkan bahwa konsentrasi pepton 5% adalah konsentrasi yang baik untuk aktivitas lipolitik ekstraselular pada kondisi penelitian yang dilakukan.

Data penelitian pengaruh konsentrasi inokulum terhadap aktivitas lipolitik menunjukkan bahwa pada konsentrasi inokulum 0,5% rerata aktivitas lipolitik tertinggi diperoleh pada jam ke-60 yaitu sebesar 2,65 U/ml, dan pada konsentrasi inokulum 1% terjadi pada jam ke-72 yaitu 3,19 U/ml (Tabel 4 dan Gambar 3).

Biomassa sel setelah jam tersebut menunjukkan relatif konstan (Tabel 5 dan Gambar 4) yang menandakan sel berada pada fase stasioner. Namun pada saat yang sama, aktivitas lipolitik kapang mengalami penurunan (Tabel 4 dan Gambar 3).

Tabel 4. Data rerata aktivitas lipolitik (U/ml) *Rh. Microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi inokulum 0,1%, 0,5% dan 1%

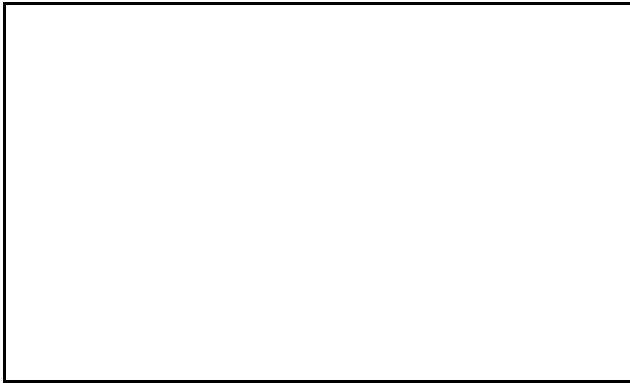
| Jam | Aktivitas Lipolitik | | |
|-----|---------------------|------------------|------------------|
| | Inokulum 0,1% | Inokulum 0,5% | Inokulum 1,0% |
| 0 | 0.60 | 0.04 | 0.18 |
| 12 | 0.89 | 0.15 | 0.21 |
| 24 | 1.20 | 0.42 | 0.57 |
| 36 | 1.88 | 1.11 | 1.26 |
| 42 | 1.72 | 1.67 | 1.33 |
| 48 | 1.76 | 1.50 | 1.34 |
| 60 | 2.65 | 2.65 | 2.30 |
| 72 | 2.89 | 1.54 | 3.19 |
| 84 | 3.87 | 1.70 | 1.97 |



Gambar 3. Rerata aktivitas lipolitik (U/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi inokulum 0,1%, 0,5% dan 1%

Tabel 5. Data rerata biomassa kapang (mg/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi inokulum 0,1%, 0,5% dan 1%

| Jam | Biomassa Kapang | | |
|-----|------------------|------------------|------------------|
| | Inokulum 0,1% | Inokulum 0,5% | Inokulum 1,0% |
| 0 | 0.47 | 0.88 | 0.92 |
| 12 | 0.73 | 2.26 | 3.07 |
| 24 | 2.96 | 5.59 | 4.91 |
| 36 | 5.99 | 6.25 | 5.12 |
| 42 | 5.70 | 6.17 | 5.69 |
| 48 | 5.54 | 5.14 | 4.82 |
| 60 | 5.62 | 7.02 | 6.56 |
| 72 | 4.35 | 6.24 | 5.98 |
| 84 | 3.32 | 7.35 | 6.38 |



Gambar 4. Rerata biomassa kapang (mg/ml) *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi inokulum 0,1%, 0,5% dan 1%

Tabel 6. Data pH medium fermentasi *Rh. microsporus* var. *rhizopodiformis* isolat UICC no. 6 pada konsentrasi inokulum 0,1%, 0,5% dan 1%

| Jam | pH medium | | |
|-----|---------------|---------------|---------------|
| | Inokulum 0,1% | Inokulum 0,5% | Inokulum 1,0% |
| 0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 |
| 12 | 6.0 | 6.0 | 6.0 |
| 24 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| 36 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| 42 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| 48 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| 60 | 7.5 | 7.5 | 8.0 |
| 72 | 8.0 | 8.0 | 8.5 |
| 84 | 8.0 | 8.5 | 8.5 |

Penurunan aktivitas mungkin diduga disebabkan karena kapang memasuki fase stasioner. Dugaan tersebut sejalan dengan pernyataan Nahas [8] yang menyebutkan bahwa aktivitas enzim akan menurun pada saat kapang memasuki fase stasioner. Selain itu, penurunan aktivitas lipolitik diduga disebabkan oleh adanya kenaikan pH hingga 8,5 (Tabel 6).

Lazar & Schroder [9] dan Gao & Breuil [10] menyatakan bahwa pH optimum aktivitas lipolitik kapang *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* berkisar 5,0 – 7,0, dan di atas pH tersebut akan mengalami denaturasi.

Kenaikan pH medium selama fermentasi dapat dipahami karena medium banyak mengandung pepton. Pepton dalam medium tersebut selain sebagai sumber N, juga berfungsi sebagai sumber C. Pemanfaatan pepton oleh kapang akan menyebabkan pepton mengalami deaminasi sehingga pH akhir medium cenderung meningkat [11].

Analisis statistik aktivitas lipolitik menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata antara aktivitas lipolitik pada konsentrasi inokulum 0,1% jam ke-36 dengan inokulum 0,5% jam ke-60 dan inokulum 1% pada jam ke-72.

4. Kesimpulan

Penelitian menyimpulkan bahwa *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis* UICC no 6 memiliki aktivitas lipolitik ekstraselular tertinggi pada konsentrasi pepton 5% dan pada masa inkubasi 72 jam.

Daftar Acuan

- [1] M.F. Chaplin, C. Bucke, *Enzyme technology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1990.
- [2] I. Gandjar, *Indonesian Food and Nutrition Progress* 2 (1995) 51.
- [3] W. Crueger, A. Crueger, *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*, Science Tech. Inc., Madison, 1984.
- [4] M.A. Rifai, UNESCO Regional Workshop on Culture Collection of microorganisms in Southeast Asia, PAU Pangan & Gizi UGM, Yogyakarta, 1995.
- [5] I. Santoso, UNESCO Regional Workshop on Culture Collection of microorganisms in Southeast Asia, PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta, 1995, p.1.
- [6] M.Y.A. Samad, A.B. Salleh, C.N.A. Razak, K. Ampon, W. M. Z. Yunus, M. Basri, *World J. of Microbiol & Biotech.* 6 (1990) 390.
- [7] P.J. Fellow, *Food Processing Technology*, Ellis Horwood, New York (1990), p. 505.
- [8] E. Nahas. *J. Gen. Microbiol.* 134 (1988) 227.
- [9] G. Lazar, F.R. Schroder. In : G. Winkerman (Ed.), *Microbial Degradation of Natural Products*, VCH, Weinheim (1992) 267.
- [10] Y. Gao, C. Breuil. *J. of Microbiol. & Biotech.* 11 (1990) 638.
- [11] C.L. Cooney, In : H.J. Rehm, & G. Reed (Eds.). *Biotechnology 1*, Verlag Chemie, Wienheim (1981) p. 73.

