
TEKNOLOGI IMOBILISASI SEL MIKROORGANISME PADA PRODUKSI ENZIM LIPASE

Indah Riwayati^{*)}, Indah Hartati, Laeli Kurniasari

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNWAHAS

Jl. Menoreh Tengah X/22 Sampangan, Semarang

^{*)} E-mail: riway79@yahoo.com

Abstrak

Enzim lipase merupakan biokatalis yang berperan dalam berbagai transformasi kimia diantaranya hidrolisis, esterifikasi, transesterifikasi dan metanolisis. Aplikasi dalam industri sebagian besar sebagai katalis reaksi hidrolisa. Mikroba penghasil lipase meliputi kelas fungi, yeast dan bakteri. Penggunaan metode immobilisasi sel mikroba dapat meningkatkan produktivitas, memudahkan pemurnian produk serta kemudahan dalam mengontrol kestabilan sel. Sel yang diimmobilisasi dapat diaplikasikan sebagai biokatalisator dalam unit reaktor konversi. Walaupun mempunyai banyak kelebihan, dalam aplikasi teknologi masih perlu investigasi lebih lanjut, terutama untuk data-data proses scale up pada bioreaktor.

Kata kunci: Immobilisasi sel, Mikroorganisme, lipase

PENDAHULUAN

Enzim merupakan salah satu komoditas yang penting di dalam industri. Mayoritas enzim industrial dihasilkan oleh mikroorganisme melalui fermentasi. Penggunaan enzim sebagian besar sebagai biokatalis dalam transformasi kimia. Saat ini, ada sekitar 400 jenis enzim yang telah diketahui dan sekitar 200 yang digunakan secara komersial (Sharma, dkk., 2001). Menurut data dari *Euromonitor International, Company Report, January 2009*, volume produksi enzim dunia terus naik sejak tahun 2002. Kenaikan ini disebabkan oleh peran enzim untuk mengefisienkan proses, meningkatkan yield serta menurunkan biaya produksi. Selain itu penggunaan enzim dalam pangan fungsional turut meningkatkan volume enzim yang diproduksi. Eropa memproduksi sekitar 60% dari total enzim yang sebagian besar adalah enzim hidrolitik seperti protease dan karbohidrase (amilase dan selulase) termasuk lipase. Produksi lipase hanya sekitar 21 % dari total volume enzim yang diproduksi dunia pada tahun 2008. Penggunaan enzim lipase terbesar dalam pembuatan deterjen.

Lipase merupakan enzim yang mempunyai peran dalam reaksi hidrolisa dan transesterifikasi. Enzim ini berfungsi sebagai katalis pada hidrolisa trigliserida serta sintesa ester dari gliserol dan asam-asam lemak rantai panjang. Disamping itu enzim lipase juga berperan sebagai biokatalis dalam reaksi alkoholisis, acidolisis, esterifikasi dan aminolisis (Gunasekaran dan Das, 2005).

Enzim dapat dihasilkan dari beberapa mikroba seperti bakteri, jamur, yeast dan juga pankreas makhluk hidup seperti manusia serta babi. Jamur dikenal secara luas sebagai penghasil lipase terbaik. *Aspergillus niger* merupakan salah satu fungi yang banyak diteliti untuk menghasilkan lipase (Faloni, dkk., 2006). Metode produksi lipase yang banyak dilakukan dengan *solid state* dan *submerged fermentation*.

Fermentasi jamur dengan menggunakan metode diatas mempunyai beberapa kekurangan diantaranya kenaikan viskositas pada fase pertumbuhan mikroba menyebabkan kurangnya pasokan oksigen untuk sel jamur. Hal ini menyebabkan pertumbuhan sel dapat terhenti sehingga fermentasi hanya dapat dilakukan dengan proses batch. Penggunaan sel mikroba yang diimmobilisasi dalam fermentasi dapat meningkatkan produktivitas karena dapat dilakukan secara kontinyu tidak terpengaruh dengan kenaikan viskositas, disamping itu juga mempermudah pemisahan produk, kemudahan dalam mengontrol proses serta kestabilan sel lebih baik dibandingkan sel bebas (Alshehri dan Mostafa, 2006).

Enzim lipase dan manfaatnya

Lipase disebut juga triasilgliserol hidrolase (E.C.3.1.1.3), merupakan enzim yang dapat menjadi biokatalis pada reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi gliserol dan asam lemak. Enzim

lipase membutuhkan substrat khusus. Kekhususan ini menjadi faktor pertimbangan utama dalam analisa dan aplikasinya. Berdasarkan jenis substrat, lipase digolongkan menjadi beberapa jenis yaitu kekhususan pada asam lemak, posisi, alkohol, asilgliserol, stereo dan kiral.

Lipase dengan kekhususan asam lemak akan terpengaruh aktivitasnya oleh panjang rantai karbon dan jumlah ikatan rangkap dalam substrat. Lipase posisi mempunyai kekhususan aktivitas pada posisi 1 dan 3 asilgliserol. Lipase alkohol merupakan jenis yang dapat bekerja pada lingkungan dengan kandungan solven organik seperti alkohol atau senyawa fungsional yang lain. Lipase asilgliserol mempunyai aktivitas berbeda jika substrat berbeda (triasilgliserol, diasilgliserol atau monoasilgliserol). Lipase stereo merupakan enzim dengan kemampuan membedakan posisi Sn-1 dan Sn-3 pada triasilgliserol. Jenis yang terakhir ini sangat penting untuk membuat isomer kiral murni yang dipergunakan sebagai intermediet obat (Long, 2009).

Enzim lipase merupakan salah satu enzim yang banyak dipergunakan dalam industri. Penggunaan enzim dalam industri serta fungsinya dapat dilihat seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Contoh Aplikasi Enzim Lipase pada Berbagai Industri (Gunasekaran and Das, 2005)

Industri	Fungsi	Produk	Jenis Reaksi
Bakery	Meningkatkan aroma, rasa (kualitas) dan umur simpan produk.	Kue kering	Hidrolisis
Brewing	Meningkatkan aroma, mempercepat reaksi dengan menghilangkan lemak.	Minuman ringan beralkohol	Hidrolisis
Kosmetik	Menghilangkan lemak.	Kosmetik umum (pelembab, emulsifier).	Sintesis
Dairy	Hidrolisa lemak susu, pematangan keju, modifikasi lemak mentega	Flavoring agent untuk produk harian seperti susu, keju dan mentega.	Hidrolisa
Detergen	Menghilangkan noda minyak dan lemak pada kain	Detergen untuk mencuci dan kebersihan rumah.	Hidrolisa
Lemak dan Minyak	Hidrolisa lemak dan minyak, transesterifikasi minyak alam	Asam lemak, digliserida, monogliserida. Reagen untuk analisa lemak Biodiesel Produk ikan dan daging	Hidrolisis dan transesterifikasi
Bahan Bakar	Mengubah minyak sayur menjadi ester	Biopolimer	Transesterifikasi
Pengolahan daging dan ikan	Memperbaiki rasa dan menghilangkan kelebihan lemak		Hidrolisis
Polimer	Katalis sintesa polimer		Sintesis

Mikroorganisme Penghasil enzim lipase

Beberapa mikroorganisme penghasil enzim lipase berasal dari kelas fungi (*Rizhopus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Geothricum sp.*, *Mucor sp.*, *Thricordema reseei*, *Fusarium sp.* dan *Rizhomucor sp.*), yeast (*Candida sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Pichia sp.*, *Saccharomyces crataegenesis*, *Torulospora globosa* dan *Trichosporon asteroid*) dan bakteri (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.* dan *Staphylococcus sp.*) (Treichel dkk., 2010). Berikut ini review beberapa penelitian yang telah dilakukan dengan berbagai jenis mikroorganisme.

Fermentasi lipase pada media padat (solid state fermentation SSF) dari *Rhizopus homothallicus* dengan penambahan urea, minyak zaitun dan oligo-elemen menghasilkan enzim

dengan aktivitas maksimal sebesar 826 U/g DM setelah inkubasi selama 12 jam (Rodriquez, dkk., 2006). Investigasi *Trichoderma reesei* dengan *submerged fermentation* menghasilkan enzim lipase maksimum sebesar 4,23 U/ml dalam media yang mengandung minyak zaitun 5 %, diinkubasikan dengan orbital shaker pada 150 rpm suhu 30⁰ C . Sedangkan aktivitas enzim lipase optimum pada kondisi pH 5 dan suhu 50⁰ C (Rajesh, dkk., 2010). *Trichoderma viridae* menghasilkan lipase ekstraselular dengan aktivitas maksimum sebesar 7,3 U/ml dan sebesar 320 U/g miselium dari enzim intraselularnya setelah fermentasi selama 48 jam dalam *shake flask* pada suhu 30⁰ C (Kashmiri dkk., 2006). *Aspergillus niger* menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas sebesar 42,22 U/ml dengan jumlah mikroorganisme 50% dari jumlah substrat (Maryanty, dkk., 2010). Produksi lipase dari *Aspergillus niger* dengan *solid state fermentation* menghasilkan enzim dengan aktivitas lebih tinggi dibandingkan jika menggunakan *submerged fermentation* (Faloni, dkk., 2006). Sumber nutrisi juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase yang dihasilkan dari *Aspergillus niger*. Sumber karbon seperti fruktosa dan sukrosa akan menginduksi aktivitas enzim, sedangkan pati, laktosa dan CMC menghambat aktivitas enzim. Sumber nitrogen seperti kasein dan pepton akan meningkatkan produksi enzim. Sumber belerang seperti kalsium sulfat dan besi (II) sulfat serta antibiotik (ampicillin, tetrasiklin dan norfloxasin) akan menurunkan produksi enzim. Sedangkan sumber vitamin (riboflavin, asam folat dan vitamin C) akan menstimulasi produksi enzim lipase pada *Aspergillus niger* (Kakde dan Chavan, 2011).

Produksi enzim lipase dari yeast *Yarrowia lipolytica* W29 dipengaruhi oleh tekanan. Percobaan dilakukan pada reaktor batch bertekanan 4 bar dan 8 bar. Pertumbuhan sel yeast tidak terganggu dengan adanya tekanan. Peningkatan kecepatan transfer oksigen dari gas ke medium kultur sebagai akibat tekanan mempertinggi aktivitas enzim lipase menjadi 533,5 U/L pada 8 bar dari 96,9 U/L pada tekanan atmosferik (Lopes, dkk., 2008). Penambahan minyak zaitun pada media fermentasi mempengaruhi aktivitas enzim lipase dari *Candida Lipolytica*. Medium fermentasi dengan rasio kandungan glukosa: minyak zaitun= 4:1 menghasilkan aktivitas enzim lipase tertinggi yang dihasilkan yaitu sebesar 1,087 U/ml (Permatasari, 1994).

Enzim lipase dari *Bacillus subtilis* dari substrat bungkil kelapa dengan menggunakan metode SSF menghasilkan aktivitas enzim tertinggi pada kandungan air awal sebesar 70% dan pH 8 (Chaturvedi, dkk., 2010; Singh, dkk., 2010). Fermentasi *Staphylococcus epidermis* menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas optimum 8,1 U setelah 72 jam pada 20⁰ C dan pH 7 (Joseph, dkk., 2006). *Penicillium chrysogenum* menghasilkan enzim lipase setelah 72 jam pada suhu 28⁰ C menggunakan substrat (Almond+kedelai+bunga matahari) dan metode SSF. Enzim yang dihasilkan mempunyai aktivitas maksimum sebesar 64,77 U/ml (Iftikhar, dkk., 2011).

Imobilisasi Sel Mikroba Penghasil Lipase

Metode imobilisasi sel dikembangkan dari imobilisasi enzim. Proses fermentasi konvensional untuk menghasilkan enzim merupakan proses eksploitasi sel mikroorganisme dalam medium selama proses. Dalam proses ini ada beberapa batasan yang dihadapi diantaranya densitas sel rendah, terbatasnya nutrisi dan proses *batch* yang membutuhkan waktu lama untuk penyesuaian. Fermentasi dengan sel mikroba yang diimobilisasi dapat mengatasi batasan-batasan tersebut. Keuntungan yang diperoleh dengan teknologi ini adalah produktivitas yang lebih tinggi karena densitas sel tinggi, kemudahan dalam isolasi sel dan pemurnian produk, fermentasi dapat dilakukan secara kontinyu dan dapat menstimulasi pembentukan metabolit sekunder serta meningkatkan eksresi metabolit intraseluler (Ramakrishna dan Prakasham, 1999). Ada beberapa metode imobilisasi yang dipergunakan dalam teknologi ini yaitu adsorpsi, ikatan kovalen, *cross-linking*, *entrapment* dan encapsulasi. Metode imobilisasi sel dengan *entrapment* paling banyak diteliti. Metode ini dilakukan dengan cara menjebak sel mikroorganisme di dalam matrik polimer.

Banyak studi yang telah dilakukan untuk mempelajari pengaruh berbagai jenis metode imobilisasi terhadap aktivitas enzim lipase yang dihasilkan. Berikut ini beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk mengevaluasi berbagai jenis metode tersebut.

Aktivitas enzim lipase maksimum sebesar 4320 U/L diperoleh dari *Aspergillus niger* (ANT 90) yang diimobilisasi dengan menggunakan *bead* alginat 3% dan waktu curing 60 menit (Ellaiah, dkk., 2001). Imobilisasi sel *Ralstonia pickettii* terbaik dengan menggunakan matrik poliakrilamida 15% menghasilkan aktivitas retensi 66% (25 U/ml per menit) (Hemachander, dkk., 2001).

Lipase yang diproduksi oleh *Rhizopus arrhizus* dari miselium yang diimobilisasi mempunyai aktivitas maksimum sebesar 315 u/mL pada 26.5 °C, 130 rpm dalam flask dengan kandungan media (%): tepung kedelai 4.0 (w/v), minyak kelapa 1.0 (v/v), MgSO₄ 0.1 (w/v), K₂HPO₄ 0.5 (w/v), (NH₄)₂SO₄ 0.2 (w/v), setelah 96 jam (Yang, dkk., 2004). *Candida rugosa* yang diimobilisasi dengan kalsium alginat menghasilkan aktivitas enzim lipase maksimum 1794 U/ml dengan *packed bed bioreactor* serta penambahan gum arab dan asam kaprilat (Benjamin and Pandey, 1998).

Untuk meningkatkan produksi enzim lipase, bukan hanya mikroorganisme galur murni yang diimobilisasi tetapi juga yang telah rekayasa secara genetik.

Penggunaan sel yang diimobilisasi sebagai biokatalis dalam berbagai transformasi kimia telah banyak diinvestigasi. Dalam hal ini sel mikroorganisme penghasil enzim yang diimobilisasi digunakan sebagai biokatalis pada unit konversi reaksi seperti hidrolisis, esterifikasi, transesterifikasi, metanolisis serta reaksi lain yang dapat dikatalis oleh enzim lipase. Aplikasi nyata cara ini dalam produksi biodiesel dan asam organik secara enzimatik (Chen dan Wang, 1997)

KESIMPULAN

Imobilisasi sel untuk menghasilkan enzim lipase maupun untuk biokatalis pada tranformasi kimia merupakan teknologi yang mempunyai banyak kelebihan. Untuk aplikasi dalam industri masih diperlukan banyak penelitian terutama proses scale-up karena kebanyakan data yang ada masih dalam skala sangat kecil.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-shehri, A., M. and Mostafa, Y., S., 2006, Citric Acid production from Date Syrup using Immobilized Cell of *Aspergillus niger*, *Biotechnology*, ISSN 1682-296X, Vol. 5 (4), pp. 461-465
- Benjamin, S., and Pandey, A., 1998, Enhancement of lipase production during repeated batch culture using immobilized *Candida rugosa*, *Process Biochemistry*, Vol. 32, Issue 5, 437-440
- Chaturvedi, M., Singh, M., Rishi, C., M. and Rahul, K., 2010, Isolation of Lipase Producing Bacteria from Oil Contaminated Soil for the Production of Lipase by Solid State Fermentation Using Coconut Oil Cake, *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, ISSN 0973-2691, Vol. 6 No. 4, 585-594
- Chen, J.,P. And Wang, J., B., 1997, Wax ester synthesis by lipase-catalyzed esterification with fungal cells immobilized on cellulose biomass support particles, *Enzym and Microbial technology*, Vol. 20, issue 8, 615-622
- Ellaiah, P., Prabhakar, T., Ramakrishna, B., Thaeer Taleb, A. And Adinarayana, K., 2001, Production of Lipase by Immonilized Cells of *Aspergillus niger*, *Process Biochemistry*, Vol. 39, Issue 5, 525-528
- Faloni, G., Armas, J., C., Mendoza, J., C., D., and Hernandez, J., L., M., 2006, Production of Extracellular Lipase from *aspergillus niger* by Solid-state Fermentation, *Food Technology, Biotechnology*, ISSN 1330-9862, vol. 44 (2), pp. 235-240
- Gunasekaran, V. and Das, D., 2005, Lipase Fermentation: Progress and prospects, *Indian Journal of Biotechnology*, Vol. 4 Oktober, pp. 437-445
- Hemachander, C., Bose, N. and Puvanakrishnan, R., 2001, Whole cell imobilization of *Ralstonia pickettii* for lipase production, *Process Biochemistry*, Vol. 36, Issue 7, 629-633
- Iftikhar, T., Niaz, M., Un Nisa, Z., Thariq, A., Khalid, M., N., and Jabeen, R., 2011, Optimization of Cultural Conditions for the Biosynthesis of Lipases by *Penicillium chrysogenum* (MBL 22) Through Solid Fermentation, *Pak. J. Botany*, 43 (4), 2201-2206
- Joseph, B., Ramteke, P., W. And Kumar, P., A., 2006, Studies on the Enhanced Production of Extracellular Lipase by *Staphylococcus epidermidis*, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 52, 315-320
- Kakde, R., B. And Chavan, A., M., 2011, Effect of Carbon, Nitrogen, Sulphur, Phosphorus, Antibiotic and Vitamin Sources on Hydrolytic Enzym Production by Storage Fungi, *Recent Research in Science and Technology*, ISSN 2076-5061, 20-28

-
- Kashmiri, M., A., Adnan, A. And Butt, B., W., 2006, Production, Purification and Partial Characterization of Lipase from *Trichoderma viridae*, African Journal of Biotechnology Vol. 5 (10), pp. 878-882
- Long, K., 2009, Unlocking the Miracle of Lipases, a Research Inaugural Lecture (Syarahan Perdana Penyelidikan), MARDI Serdang
- Lopes, M., Gomes, N., Goncalves, C., Coelho, M., A., Z., Mota, M. and Belo, I., 2008, *Yarrowia Lipolytica* Lipase Production Enhanced by Increased Air Pressure, Letters in Applied Microbiology, ISSN 0266-8254, 46, 255-260
- Maryanty, Y., Pristianti, H., dan Ruliawati, P., 2010, Produksi Crude Lipase dari *Aspergillus niger* pada Substart Onggok Menggunakan metode Fermentasi Fasa Padat, Seminar Rekayasa Kimia dan Proses, ISSN 1411-4216, B-12-1
- Permatasari, T., 1994, Kajian Pengaruh Jenis Media dan penambahan Minyak Zaitun sebagai Induser pada produksi Enzim Lipase oleh *Candida lipolytica*, Skripsi Fakultas Teknik Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- Rajesh, E., M., Arthe, R., Rajendran, R., Balakumar, C., Pradeepa, N. and Anitha, S., 2010, Investigation of Lipase Production by *Trichoderma reseei* and Optimization of Production Parameters, EJEAFChe, ISSN 1579-4377, 9 (7), 1177-1189
- Ramakrishna, S., V., and Prakasham, R., S., 1999, Microbial Fermentations with Immobilized Cell, Current Science, Vol. 77, No. 1, 87-100
- Rodriguez, J., A., Mateos, J., C., Nungaray, J., Gonzalez, V., Bhagnagar, T., Roussos, S., Cordova, J., and Baratti, J., 2006, Improving Lipase Production by Nutrient Source Modification Using *Rhizopus homothallicus* Cultured in Solid state Fermentation, Process Biochemistry, 41, 2264-2269
- Sharma, R., Chisti, Y., and Banerjee, C., 2001, Production, Purification, Characterization and Applications of Lipases, Biotechnology Advances, 19, pp. 627-662
- Singh, M., Saurav, K., Srivasta, N. And Kannabiran, K., 2010, Lipase Production by *Bacillus subtilis* OCR-4 in Solid State Fermentation Using Ground Nut Oil Cakes as Substrate, Journal of Biological Science, 2 (4), ISSN: 2041-0778, 241-245
- Treichel, H., Oleivera, D., Mazzuti, M., A., Luccio, M., D., Oleivera, J., V., 2010, A Review on Microbial Lipases Production, Food Bioproses Technology, Vol. 3, 182-196
- Yang, X., Wang, B., Cui, F. And Tan, T., 2004, Production of lipase by repeated batch fermentation with immobilized *Rhizopus arrhizus*, Process Biochemistry, Vol. 40, issue 6, 2095-2103