

Evaluasi Daya Hidup dan Daya Kerja Kapang Lipolitik *Aspergillus niger* pada Limbah Pencucian Ikan

R. Glady Putri Andhita CSMA dan N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: kuswytasari@bio.its.ac.id

Abstrak—Enzim lipolitik merupakan enzim yang memiliki peranan penting dalam bioteknologi modern. Enzim lipolitik banyak dihasilkan dari mikroorganisme, salah satunya adalah kapang *Aspergillus niger*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja kapang Lipolitik *Aspergillus niger* pada medium minyak goreng bekas dan air pencucian ikan pada periode tertentu. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi uji viabilitas, pengukuran biomassa, pengukuran aktivitas enzim, serta pengukuran jumlah degradasi lipid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mampu mempertahankan viabilitasnya selama 9 minggu. Aktivitas lipolitik dan degradasi lipid tertinggi yaitu sebesar 0,12U/mL dan 91%.

Kata Kunci— *Aspergillus niger*, enzim, kapang, lipolitik.

I. PENDAHULUAN

BERBAPA jenis kapang diketahui mampu menghasilkan enzim lipolitik dan telah digunakan dalam skala industri. Lipolitik atau lipase digunakan dalam pembuatan detergen, sintesis biosurfaktan, pembuatan minyak, peternakan, pertanian, kosmetik, dan industri obat-obatan. Lipase diproduksi mikroorganisme untuk mengkatalis lipid sebagai sumber karbonnya. Lipase berfungsi dalam hidrolisis lemak, mono-, di-, dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol [1]. Enzim ini juga digunakan dalam hidrolisis triasilgliserol (TAG) menghasilkan diasilgliserol (DAG) dan asam lemak bebas [2].

Lipid adalah molekul yang terdiri dari rantai panjang hidrokarbon dengan ujung gugus karboksil (COOH). Adanya rantai panjang hidrokarbon ini membuat lipid bersifat nonpolar [3]. Lipid dibagi menjadi delapan kategori yaitu asam lemak, gliserolipid, gliserophospholipid, spingolipid, sakarolipid, poliketida, lipid sterol, dan lipid prenol [4].

Aspergillus niger merupakan salah satu sumber penghasil enzim lipolitik. *Aspergillus niger* merupakan mikroba jenis kapang yang dapat tumbuh cepat dan tidak membahayakan karena tidak menghasilkan mikotoksin. Selain itu,

penggunaannya mudah karena banyak digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan beberapa enzim seperti amilase, pektinase, amilo-glukosidase dan selulase. *Aspergillus niger* memiliki daya amilolitik dan proteolitik yang cukup baik, serta dapat menghasilkan enzim fitase ekstraselluler. Hasil fermentasinya dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (PST) dan media biakannya sebagai sumber energi potensial. *Aspergillus niger* merupakan mikroba yang 80% kebutuhan substratnya dipenuhi oleh makromolekul yang memiliki rantai karbon. Beberapa jenis kapang diketahui tumbuh pada habitat yang mengandung minyak, misalnya tandan kelapa sawit [5].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* sebagai agen penghasil enzim lipolitik pada medium limbah air pencucian ikan.

II. METODOLOGI

A. Peremajaan Isolat Kapang

Isolat *Aspergillus niger* LM 1002 didapatkan dari koleksi kultur murni Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS. Subkultur dilakukan ke dalam media agar miring PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang telah disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan 1,5 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari.

B. Preparasi Inokulum dan Enumerasi Spora Isolat

Kultur yang berusia 5 hari dalam medium PDA (*Potato dextrose Agar*), ditambahkan 10 ml aquades steril ke dalam kultur. Kemudian tabung divortex untuk memisahkan gumpalan spora dan mendapatkan suspensi yang homogen. Jumlah spora dihitung dengan menggunakan *Haemocytometer Neubauer* untuk mendapatkan suspensi spora yang mengandung 10^6 spora/ml yang akan digunakan sebagai inokulum [6].

C. Pembuatan Starter

Sebanyak 10% suspensi spora (10^6 spora/ml) diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi medium basal lipase sebanyak 15 ml. Medium basal terdiri dari 0,3% pepton; 0,02% KH_2PO_4 ; 0,005% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,005% KCL dan 0,1% minyak zaitun: glukosa (0,05:0,05), pH 6,6 dan ditambahkan 10 mL aquades dan disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C tekanan 1,5 atm selama 15 menit[7]. Kemudian diinkubasi menggunakan *shaker inkubator* selama 3 hari pada suhu ruang, dengan kecepatan 120 rpm.

D. Degradasi Lipid dari Limbah Organik oleh *Aspergillus niger*

Medium produksi yang digunakan berasal dari limbah organik. Limbah organik yang digunakan adalah limbah pencucian ikan. limbah organik diukur derajat keasaman (pH). Untuk limbah pencucian ikan terdiri dari 105 mL air pencucian ikan ditambahkan 30 mL medium basal dan 15 mL starter. Kemudian medium di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C tekanan ,5 atm. medium limbah organik diinkubasi selama 7 hari pada suhu 40°C [8]. Kontrol merupakan medium limbah organik yang tidak diberi perlakuan penambahan isolat *Aspergillus niger*.

E. Pembuatan Kurva Standar Asam Oleat

Kurva standar asam oleat dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi asam oleat. Konsentrasi yang dibutuhkan adalah antara 3,5; 7; 10,5; 14 dan 17,5 ($\times 10^{-3}\text{M}$). Variasi konsentrasi larutan tersebut dibuat dengan menggunakan larutan standar asam oleat 0,07 M, larutan tersebut diambil sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 mL lalu diencerkan dengan etanol 96% hingga 10 mL. Selanjutnya campuran diambil 2 mL dan ditambahkan reagen tembaga (II) asetat sebanyak 0,5 mL lalu divortex selama 1 menit Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm [9].

F. Uji Daya Hidup

Uji daya hidup dilakukan dengan menentukan viabilitas dan biomassa *Aspergillus niger*. Penentuan viabilitas dengan cara menumbuhkan 1 ml isolat dari medium produksi ke dalam medium PDA pada cawan petri. Penentuan biomassa dilakukan dengan cara medium pada botol produksi disaring dengan menggunakan kertas saring kemudian kertas saring dioven dan ditimbang berat keringnya. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-1,3,5,7,dan minggu ke-9.

G. Uji Daya Kerja

Daya kerja dihitung dengan menentukan aktivitas lipolitik dari *Aspergillus niger* pada medium cair dan analisa degradasi lipid.

Uji Aktivitas Lipolitik

Penentuan aktivitas lipolitik ditentukan dengan menggunakan metode Kwon dan Rhee (Kwon and Rhee,

1986). Enzim lipolitik yang telah diproduksi pada medium limbah dipisahkan filtrat dan supernatannya dengan sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Filtrat diasumsikan sebagai enzim kasar. Penentuan aktivitas lipolitik dilakukan pada minggu ke-0, ke-2, ke-4, ke-6, dan ke-8. Substrat yang digunakan dalam metode ini adalah minyak zaitun (Le Riche,PT Ishma mediterranea: Al;Jazair) sebanyak 1,5 mL kemudian ditambahkan dengan 1 mL buffer fosfat pH 7 dan 1 mL larutan enzim kasar. Campuran ini selanjutnya diinkubasi pada *shaker inkubator* pada suhu ruang dengan kecepatan pengocokan 120 rpm selama 30 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan 1 mL HCL 6N dan 5 mL reagen etanol 96%. Campuran selanjutnya dikocok kuat dan lapisan atas diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen tembaga (II) asetat dan divortex selama 1 menit. Absorbansi campuran diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm.

Nilai konsentrasi asam oleat yang terbentuk sebagai hasil degradasi lipolitik dapat diketahui dari data absorbansi yang terukur. Nilai konsentrasi asam oleat tersebut kemudian digunakan untuk menentukan nilai aktivitas lipolitik (A_e) dengan rumus sebagai berikut :

$$A_e = \frac{\text{konsentrasi Asam oleat} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{ml}} \right)}{\text{waktu inkubasi (menit)}} \times \frac{\text{volume total campuran (mL)}}{\text{volume enzim (mL)}}$$

Analisa Degradasi Lipid

Analisis kandungan lipid dilakukan dengan mengukur kadar asam lemak bebas berupa asam oleat menggunakan metode kolometri [10]. Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menambahkan 2 mL sampel minyak goreng bekas dan air pencucian ikan dengan 5mL etanol 96%. Campuran selanjutnya dikocok kuat dan lapisan atas diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen tembaga (II) asetat. Absorbansi campuran diukur dengan menggunakan spetrofotometer pada panjang gelombang 715 nm. Hasil absorbansi dihitung konsentrasinya dengan persamaan matematik dari kurva standart asam oleat, sehingga akan didapatkan kadar asam lemak (asam oleat) yang terkandung dalam sampel limbah cair. Nilai degradasi dapat ditentukan dengan rumus :

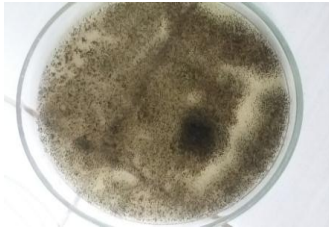
$$\text{Nilai degradasi} = \frac{(\text{konsentrasi akhir} - \text{konsentrasi awal})}{\text{konsentrasi awal}} \times 100\%$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Daya Hidup *Aspergillus niger*

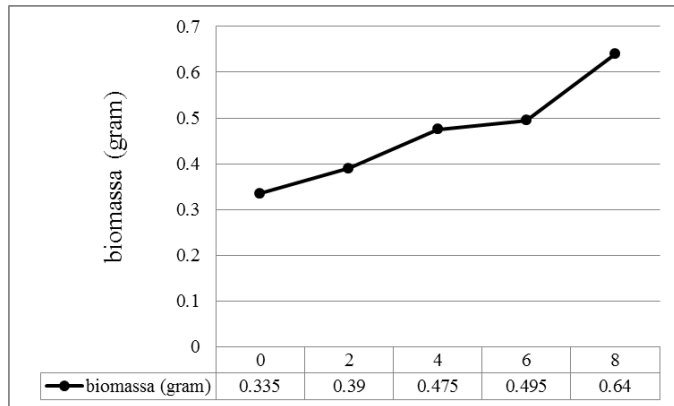
Pengamatan uji daya hidup menunjukkan bahwa *A. niger* tetap dapat tumbuh dan tidak kehilangan viabilitasnya. *A. niger* dapat menggunakan lipid sebagai sumber karbon. Lipid akan digunakan setelah kebutuhan sumber karbon yang berasal dari kelompok karbohidrat telah habis. Beberapa

kapang seperti *A. niger* menghasilkan lipase ekstraseluler dan phospholipase yang menghidrolisis lipid [11].



Gambar. 1. Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada medium PDA.

Pada pengukuran biomassa didapatkan hasil bahwa pertumbuhan *A.niger* mengalami peningkatan selama 9 minggu. Pengukuran biomassa merupakan metode dengan menghitung pertambahan massa sel dari *A.niger* selama 9 minggu. Setiap 2 minggu, sampel pada botol produksi disaring dan dikeringkan lalu ditimbang massanya.

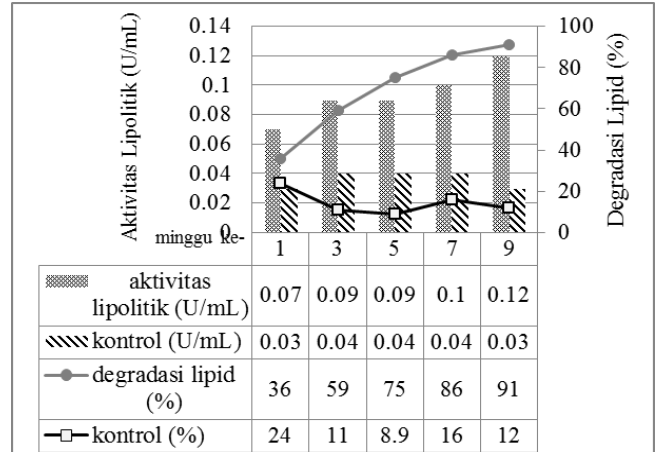


Gambar. 2. Grafik Biomassa *Aspergillus niger*.

Hal ini membuktikan bahwa *A.niger* tidak hanya hidup (uji viabilitas), namun mengalami pertumbuhan pada kedua medium. Tidak hanya itu, kultur *A.niger* juga mampu menggunakan minyak yang ada pada kedua limbah tersebut sebagai sumber energinya, karena pada minggu ke-1 hingga minggu ke-9 mengalami peningkatan pertumbuhan yang tinggi.

B. Uji Daya Kerja

Daya kerja dihitung dengan menentukan aktivitas lipolitik dari *Aspergillus niger* pada medium cair dan analisa degradasi lipid. Air pencucian ikan yang digunakan adalah limbah pencucian bekas ikan Patin yang di dapat dari penjual ikan di pasar tradisional Sidoarjo. Karakteristik limbah pencucian ikan memiliki nilai pH 6 dengan jumlah total asam lemak sebesar 0,123 $\mu\text{mol/mL}$. Hasil aktivitas lipolitik dan degradasi lipid pada limbah pencucian ikan dengan menggunakan isolat *Aspergillus niger* dilakukan dengan metode fermentasi cair dengan masa inkubasi selama 9 minggu. Hasil aktivitas lipolitik dan degradasi lipid ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar. 3. Grafik Aktivitas Lipolitik dan Degradasi Lipid *A. niger* pada Medium Limbah Pencucian Ikan

Berdasarkan grafik di atas, dapat diketahui bahwa selama 9 minggu isolat mengalami peningkatan baik aktivitas maupun degradasi lipid. Pada minggu ke-1, aktivitasnya sebesar 0.078 U/mL dengan jumlah degradasi lipid sebesar 36% dan pada minggu ke-9, aktivitas dan degradasi lipid mencapai nilai tertinggi, yaitu aktivitas lipolitik sebesar 0.12 U/mL dan degradasi lipid sebesar 91%. Pengukuran aktivitas dan degradasi lipid menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 715 nm, dimana panjang gelombang 715 nm merupakan panjang gelombang yang mampu menangkap cahaya dari asam oleat. Dengan adanya proses hidrolisis ini, maka terjadinya peningkatan asam oleat yang dihasilkan berarti terjadi peningkatan aktivitas lipolitik [12].

Pada perlakuan kontrol menunjukkan adanya aktivitas lipase sebesar 0.037 U/mL di minggu ke-1 dan 0.036 U/mL di minggu ke-9 dengan nilai degradasi sebesar 24% di minggu ke-1 dan pada minggu ke-9 menjadi 12%. Perlakuan kontrol merupakan perlakuan tanpa penambahan isolat. Pada minggu ke-1 medium kontrol telah menunjukkan aktivitas dan degradasi lipid dikarenakan sebelumnya medium telah mendapatkan perlakuan inkubasi pada rotary shaker selama 7 hari dengan suhu 40°C.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian Evaluasi Daya Hidup dan Daya Kerja Kapang Lipolitik *Aspergillus niger* pada Medium Cair adalah

1. Isolat *A. niger* tetap dapat mempertahankan viabilitasnya selama 2 bulan.
2. Aktivitas lipolitik dan degradasi lipid meningkat dari minggu ke-1 hingga minggu ke-9. Nilai aktivitas tertinggi yaitu sebesar 0.12 U/mL dan degradasi lipid sebesar 91%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis R. G. Putri Andhita mengucapkan terima kasih kepada Ibu N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si. selaku dosen

pembimbing yang selalu memberikan bimbingan, saran dan dukungan kepada penulis selama penyusunan TA.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] R. A. Putranto., D. Santoso, T. P. Suharyanto, A. Budiani. 2006. Karakterisasi gen penyandi lipase dari kapang *Rhizopus oryzae* dan *Absidia corymbifera*. **Menara Perkebunan**. 74(1). 23-32
- [2] Lehninger and Albert. L., 1990. **Dasar-dasar Biokimia Jilid 1**. Erlangga, Jakarta.
- [3] E. D. Fahy., Cotter, M. Sud, and S. Subramaniam. 2011. *Lipid Classification, Structures and Tools*. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1811(11) : 637-647.
- [4] K. Kavanagh. 2005. *Fungi Biology and Application*. The Atrium, Southern Gate, Chicester England :Jhon Willey & Sons Ltd.
- [5] M. W. Mirza., A. Q. and Chughtai, M. I. D. 1980. Lipase induction in *Mucor hiemalis*. *Applied Enviromental Microbiology* 40, 257-263.
- [6] M. M. D . Maia., A. Heasley, M. M. Camargo de Morais, E. H. M. Melo, M. A. Morais Jr., W. M. Ledingham, and J. L. L. Filho. 2001. Effect of Culture Conditions on Lipase Production by *Fusarium solani* in Batch Fermentation. *Bioresource Technology*. 76 : 23-27
- [7] O. H . Lowry., N. J., Rosebrough, A. L., Farr, R. J. Randall. 1951.
- [8] M. J. Carlile., S. C. Watkinson, and G. W. Gooday. 2001. *The Fungi 2nd edition*. London:Academic Press