



# ISOLASI MIKROORGANISME POTENSIAL PENGHASIL LIPASE DARI LIMBAH PENGOLAHAN MINYAK KELAPA SAWIT MALINPING

## ISOLATION OF LIPASE POTENTIAL PRODUCING MICROBES FROM MALINPING OIL PALM PROCESSING WASTE

Ika Rahmatul Layly, Erma Widyasti\*, Deden Rosid Waltam, Ayi Mufti, Nita Wiguna, Trismilah

Pusat Teknologi Bioindustri, Deputi bidang TAB, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Gedung 610/611/614 LAPTIAB I Jl. Raya Puspiptek Kota Tangerang Selatan 15314 Banten.

\*Corresponding author: [erma.widyasti@bppt.go.id](mailto:erma.widyasti@bppt.go.id)

Naskah Diterima: 18 Februari 2020; Direvisi: 29 Juni 2020; Disetujui: 31 Agustus 2020

### Abstrak

Lipase adalah kelompok enzim yang mengkatalisis hidrolisis rantai panjang trigliserida, lemak, dan minyak menjadi gliserol dan asam lemak dengan adanya air. Sumber lipase untuk industri kebanyakan berasal dari mikroorganisme. Penggunaan lipase pada industri makin meningkat setiap tahunnya meliputi aplikasinya pada industri makanan, pakan, farmasi, pulp, dan kertas, biodiesel, dan industri tekstil. Dalam usaha mendapatkan isolat potensial penghasil lipase untuk hidrofiliisasi serat poliester, pada penelitian ini dilakukan skrining dan isolasi mikroorganisme yang dapat menghasilkan lipase dari limbah pengolahan minyak kelapa sawit di Malinping, Lebak, Banten. Sebanyak 20 isolat bakteri dan 5 isolat jamur yang diperoleh kemudian diuji aktivitas lipasenya menggunakan metode titrasi. Empat isolat bakteri terpilih (Kondensat, Lumpur-Got, Hasil-Buangan, dan Tangki-Crude-Oil) serta lima isolat jamur (Nut-A, Nut-B, Nut-C, Kernel-B, dan Kernel-C) dikarakterisasi pH dan suhu optimum enzimnya. Hasil karakterisasi pH menunjukkan bahwa isolat bakteri Kondensat, Lumpur-Got, Hasil-Buangan, dan Tangki-Crude-Oil mempunyai aktivitas enzim lipase tertinggi pada pH 6. Suhu optimal aktivitas enzim lipase isolat Lumpur-Got-B, Hasil Buangan-B, dan Tangki-Crude-Oil B pada 40 °C, sedangkan isolat bakteri-Kondensat-B optimal pada suhu 30 °C. Aktivitas lipase kelima isolat jamur optimal pada pH 6. Suhu optimal aktivitas lipase isolat jamur Nut-A adalah 40 °C, sedangkan isolat Nut-B, Nut-C, Kernel-B, dan Kernel-C aktivitasnya optimal pada 50 °C.

**Kata kunci:** Isolasi; Karakterisasi; Limbah; Lipase; Malinping; Mikroorganisme

### Abstract

Lipase are enzymes that catalyzed the hydrolysis of triglyceride, fats and oils into glycerol and fatty acids in the presence of water. Industrial Lipase source mostly derived from microbes. Each year, the lipase utilization in industry increased, such as application for foods, feeds, pharmacys, pulp and papers, biodiesel, and textile industries. On this study, a total of 20 bacteria and 5 fungi lipase potential producer were screened and isolated from oil palm processing waste in Malinping, Lebak, Banten, which then tested for its activity using titration method. Selected isolates then were characterized for its enzyme optimum pH and temperature. The optimum pH for isolate Kondensat, Lumpur-Got, Hasil-Buangan and Crude-Oil-Tank lipases are at pH 6, whilst the optimum temperature of isolates Lumpur-Got B, Hasil-Buangan B and Crude-Oil-Tank B were at 40 °C and bakteri-Kondensat B isolate optimum at 30 °C. The five fungi characterization shown optimum pH at 6 and 50 °C except for isolate Nut-A that optimum at 30 °C.

**Keywords:** Characterization; Isolation; Lipase; Malinping; Microbes; Waste

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v13i2.14699>

## PENDAHULUAN

Enzim dikenal sebagai biokatalis yang sangat berguna untuk berbagai proses bioindustri dan reaksi kimia yang penting dan diperlukan untuk kehidupan. Katalis ini dihasilkan oleh hewan, tumbuhan, dan sumber enzim terbesar dihasilkan dari mikroorganisme, karena sifat dan kemudahannya dapat diproduksi dalam skala besar. Sebagai katalis biologis, enzim sangat efektif terlibat dalam semua proses metabolisme, serta memiliki kemampuan untuk melakukan reaksi kimia yang sangat spesifik. Dalam industri, enzim banyak digunakan untuk industri pangan, pakan, detergen, tekstil, obat-obatan, kosmetik, *laundry* serta untuk aplikasi yang lainnya (Murray, Bender, Botham, Kennely, & Well, 2012; Anbu, Gopinath, Cihan, & Chaulagain, 2013).

Lipase merupakan enzim yang mampu mengkatalis hidrolisis dan sintesis rantai panjang *acylglycerols* (*triacylglycerol acylhydrolases*, EC 3.1.1.3) (Andualema & Gessesse, 2012). Lipase adalah kelompok enzim penting untuk aplikasi dalam bidang bioindustri. Lipase diisolasi dari berbagai tumbuhan, hewan, bakteri, fungi, dan khamir. Enzim lipase yang berasal dari mikroorganisme digunakan untuk industri produk olahan susu, pangan, detergen, tekstil, obat-obatan, kosmetik, biodiesel, agrokimia, dan polimer. Karakteristik lipase adalah mengkatalisis hidrolisis rantai panjang trigliserida. Sebagai enzim lipolitik, sifatnya adalah larut dalam air dan dapat bekerja dalam emulsi minyak dalam air (Jaegar & Eggert, 2002).

Mikroorganisme merupakan sumber lipase yang lebih banyak dimanfaatkan dalam bidang industri, karena dapat berkembang biak dengan cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik, serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim (Prasad & Manjunath, 2012). Indonesia adalah negara megabiodiversitas, yang mempunyai 25% aneka spesies di dunia, termasuk mikroorganismenya, namun potensinya belum dimanfaatkan secara optimal untuk kesejahteraan dan kemandirian bangsa. Bakteri, *yeast*, dan jamur menyimpan

berjuta potensi untuk dimanfaatkan sebagai produser enzim, senyawa aktif atau produk bioteknologi lainnya (*bioprospecting*). Selama ini pemenuhan enzim di Indonesia masih didapatkan dari impor dan potensi mikroorganisme belum optimum dimanfaatkan untuk produksi enzim lipase. Oleh karena itu dilakukan skrining dan isolasi mikroorganisme yang berpotensi sebagai penghasil lipase dari limbah pengolahan minyak kelapa sawit di Kecamatan Malinping, Kabupaten Lebak, Provinsi Banten.

Sampling dilakukan di limbah pengolahan kelapa sawit karena pada minyak sawit cukup dominan gugus *oleic-methyl-ester*-nya, sehingga mikroba yang diperoleh diharapkan mampu menghasilkan lipase yang dapat menghidrolisis gugus ester pula. Sedangkan pemilihan lokasi di Malinping dinilai cukup representatif untuk memperoleh bakteri penghasil lipase dari limbah pengolahan sawit. Lokasi ini juga belum banyak yang mengeksplorasi potensi isolat dari lokasi tersebut, di samping lokasi juga tidak terlalu jauh dari tempat penelitian dilakukan (LAPTIAB, BPPT, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan).

Aplikasi lipase sangat luas, dan lipase mempunyai sifat *high substrat specific*, memotong pada ikatan ester juga trigliserida. Keunikan sifat lipase ini, memiliki peluang yang besar untuk digunakan dalam modifikasi serat poliester, di mana poliester punya banyak ikatan ester, sehingga bisa dipotong dengan lipase poliester yang termodifikasi oleh lipase ini nantinya memiliki karakteristik yang lebih unggul dibanding poliester tanpa *treatment*, dengan diputusnya beberapa ikatan ester dalam poliester ini, sifatnya yang hidrofobik berkurang menjadi lebih hidrofilik, sehingga kain poliester termodifikasi ini nantinya akan lebih mudah menyerap air, sehingga mirip karakteristiknya dengan kain dari bahan kapas (katun), dan diharapkan dapat menyediakan bahan kain alternatif produksi dalam negeri yang dapat mengurangi ketergantungan terhadap kapas, di mana impornya di Indonesia masih sangat tinggi.

Suhu pertumbuhan dan pH mikroba penghasil enzim hidrolase seperti lipase berada pada kisaran pH netral dan mesofilik. Pada penelitian ini optimasi pH lipase lebih ke arah

basa, karena akan digunakan untuk hidrofiliisasi serat polyester yang memerlukan pH ke arah basa. Sedangkan untuk suhu dibuat dari range antara 25–60 °C, karena pada penelitian ini diharapkan penggunaan lipase akan dapat menurunkan biaya produksi dengan kebutuhan kondisi operasi pada suhu yang tidak terlalu tinggi, atau bahkan tanpa pengaturan suhu. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan mikroba potensial penghasil enzim lipase yang nantinya akan diaplikasikan pada proses hidrofiliisasi serat poliester.

## MATERIAL DAN METODE

### Sampling Mikroorganisme di Limbah Pengolahan Kelapa Sawit Malinping, Lebak, Banten

Sampling dilakukan pada 5 tempat dan pada 2 bagian buah kelapa sawit. Kelima titik tempat sampling tersebut, terdiri dari tangki *crude oil* (*crude oil tank*), parit atau got saluran pembuangan limbah minyak, limbah padatan (*sludge*), air kondensat, dan saluran buangan tangki. Bagian buah kelapa sawit yang dijadikan sampel adalah nut dan kernel. Sampel yang didapatkan disimpan pada tabung steril untuk selanjutnya dilakukan isolasi dan skrining

### Isolasi Mikroorganisme Hasil Sampling di Limbah Pengolahan Kelapa Sawit Malinping-Pandeglang Banten

Isolasi dilakukan dengan tahapan awal pengenceran sampel. Sampel dari 5 titik dan 2 bagian buah kelapa sawit diencerkan dengan seri pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  menggunakan akuades steril. Setiap hasil pengenceran, di tuang pada cawan agar yang berisi media *Luria Bertani* (LB) dan *Yeast Nitrogen Base Broth* (YNBB) dengan metode *pour plate*. Selanjutnya semua cawan diinkubasi pada suhu 37 °C.

### Pemurnian Isolat Hasil Isolasi

Isolat yang telah tumbuh pada cawan agar media LB serta YNBB dimurnikan untuk mendapatkan koloni tunggal. Koloni tunggal yang tumbuh diambil untuk dipindahkan pada media LB dan YNBB untuk isolat yang diduga bakteri, dan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk isolat yang diduga jamur. Selanjutnya media LB dan YNBB diinkubasi

pada suhu 37 °C selama semalam, sedangkan media PDA diinkubasi pada suhu 27 °C selama empat hari. Inkubasi di awal diatur pada suhu 37 °C agar banyak mikroorganisme yang dalam 24 jam sudah terlihat pertumbuhannya, namun bila terlihat koloni yang berspora maupun bermiselial, yang diduga merupakan jamur, koloni langsung dipindahkan ke PDA lalu diinkubasi pada suhu moderat untuk jamur, yaitu antara 25–30 °C.

### Produksi Enzim Lipase dari Isolat Bakteri Hasil Pemurnian

Produksi enzim lipase isolat bakteri menggunakan metode Gupta, Gupta, dan Rathi (2004) dengan modifikasi. Media produksi yang digunakan adalah media *Luria Bertani* (LB) dengan komposisi *tryptone* 10 g/L, *yeast extract* 5 g/L, NaCl 10 g/L. Tahapan kerja yang dilakukan adalah sebanyak satu ose isolat mikroorganisme diinokulasikan pada media LB 100 mL dengan ditambahkan inducer minyak zaitun sebanyak 1 mL. Produksi dilakukan di dalam *flask* volume kerja 50 mL pada pH awal 7, suhu 37 °C, agitasi 150 rpm, dengan waktu panen pada jam ke-18. Saat panen, media produksi dipisahkan dari sel dengan sentrifugasi pada kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang merupakan enzim lipase kasar selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas enzim.

### Produksi Enzim Lipase dari Isolat Jamur Hasil Pemurnian

Produksi enzim lipase isolat jamur menggunakan metode Fleuri et al. (2014) dengan modifikasi. Media produksi yang digunakan adalah media *Wheat Bran-Soy bran* (WS bran) dengan komposisi tepung gandum 2% (w/v), tepung kedelai 3% (w/v). Tahapan kerja yang dilakukan adalah dengan memasukkan tiga ose agar yang ditumbuhi jamur pada media WS 100 mL dengan ditambahkan inducer minyak zaitun sebanyak 1%. Produksi dilakukan di dalam *flask* volume kerja 50 mL, suhu 27 °C, agitasi 150 rpm, dengan waktu panen pada jam ke-72. Pada jam ke-72, media produksi diambil secara aseptis dan dilanjutkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang merupakan enzim

lipase kasar selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas enzim.

### Uji Aktivitas Enzim Lipase

Aktivitas enzim lipase diuji menggunakan metode titrasi (Chavan, Chougale, Lakshmikantha, & Satwadi, 2012). Substrat sebanyak 5 mL (25% minyak zaitun, 1,5% *poly vinyl alkohol* (PVA), dan air) ditambah 4 mL *buffer phospat* 0,05 M pH 7,

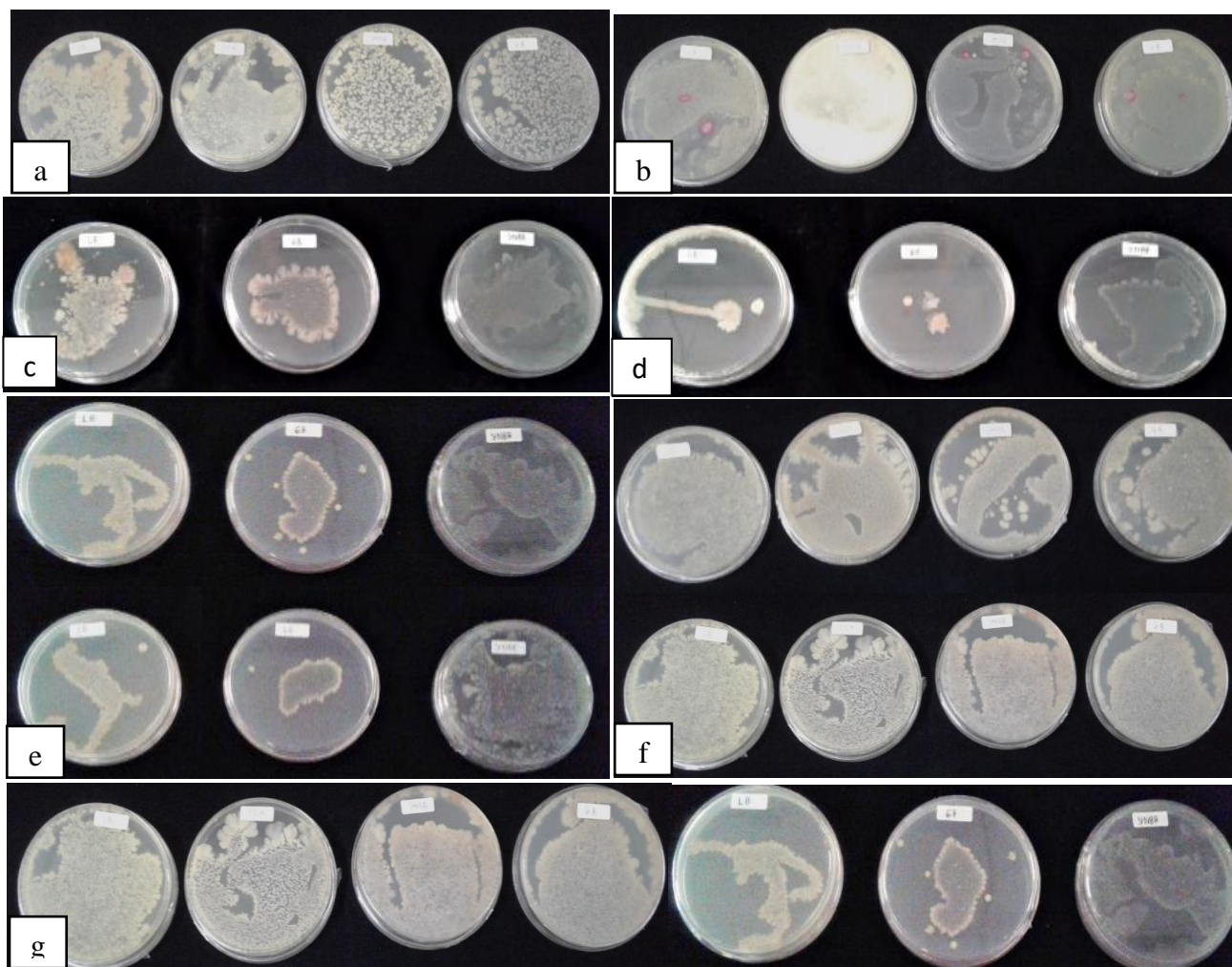
dan 1 mL enzim, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 menit pada agitasi 150 rpm. Setelah 20 menit, ke dalam campuran ditambah 20 mL metanol dan 2 tetes indikator *phenolphthalein* (PP), dan dilakukan titrasi menggunakan NaOH 0,05 M sebagai titran. Satu unit enzim didefinisikan sebagai kemampuan enzim untuk membebaskan 1  $\mu\text{mol}$  *free fatty acid* (asam lemak bebas) dalam setiap menit.



**Gambar 1.** Titik sampling pada limbah pengolahan kelapa sawit Malinping yaitu: tangki minyak kelapa sawit (a), parit atau lumpur got (b), hasil buangan tangki (c), kondensat (d), minyak padatan atau *sludge* (e), kernel, dan nut (f)



**Gambar 2.** Hasil sampling dari limbah pengolahan kelapa sawit Malinping



**Gambar 3.** Mikroorganisme hasil sampling dari Malinping Pandeglang Banten yaitu: mikroorganisme yang diisolasi dari kernel (a), nut (b), lumpur got (c), kondensat (d), hasil buangan (e), limbah padatan (sludge) (f), dan tangki *crude oil* (g)

### Optimasi Suhu dan pH Enzim Lipase Isolat Bakteri dan Jamur yang Berpotensi

Optimasi pH dan suhu enzim lipase dilakukan dengan menguji aktivitas enzim pada suhu dan pH tertentu. Enzim diuji aktivitasnya pada pH 6, 7, 8, 9, 10, 11, dan 12 dan pada suhu 30, 40, 50, dan 60 °C untuk jamur, serta suhu 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 °C untuk isolat bakteri.

### HASIL

#### Sampling Mikroorganisme di Limbah Pengolahan Kelapa Sawit Malinping-Lebak-Banten

Pengambilan sampel dilakukan pada 5 tempat dan 2 bagian buah kelapa sawit. Lokasi sampel dan bagian buah kelapa sawit yang dijadikan sampel (Gambar 1). Hasil sampling ditempatkan pada tabung steril untuk diisolasi dan dimurnikan mendapatkan mikroorganisme pada Gambar 2.

### Isolasi Mikroorganisme Hasil Sampling

Hasil isolasi setelah tumbuh koloni pada media agar dapat dilihat pada Gambar 3. Koloni yang tumbuh, diinokulasikan kembali pada media LB dan YNBB untuk mendapatkan koloni tunggal.

### Pemurnian Mikroorganisme Hasil Sampling

Pada Gambar 4 dapat dilihat koloni bakteri yang telah dimurnikan dengan ditumbuhkan pada media LB. Koloni jamur dimurnikan dengan ditumbuhkan pada media PDA dan didapatkan 5 isolat jamur hasil pemurnian yang diberi nama Jamur Nut-A, Nut-B, Nut-C, Kernel-B dan Kernel-C, seperti dapat dilihat pada Gambar 5.

### Produksi Enzim Lipase dari Isolat Bakteri dan Jamur Hasil Isolasi

Beberapa isolat bakteri hasil pemurnian dari Gambar 4 di tumbuhkan pada media cair

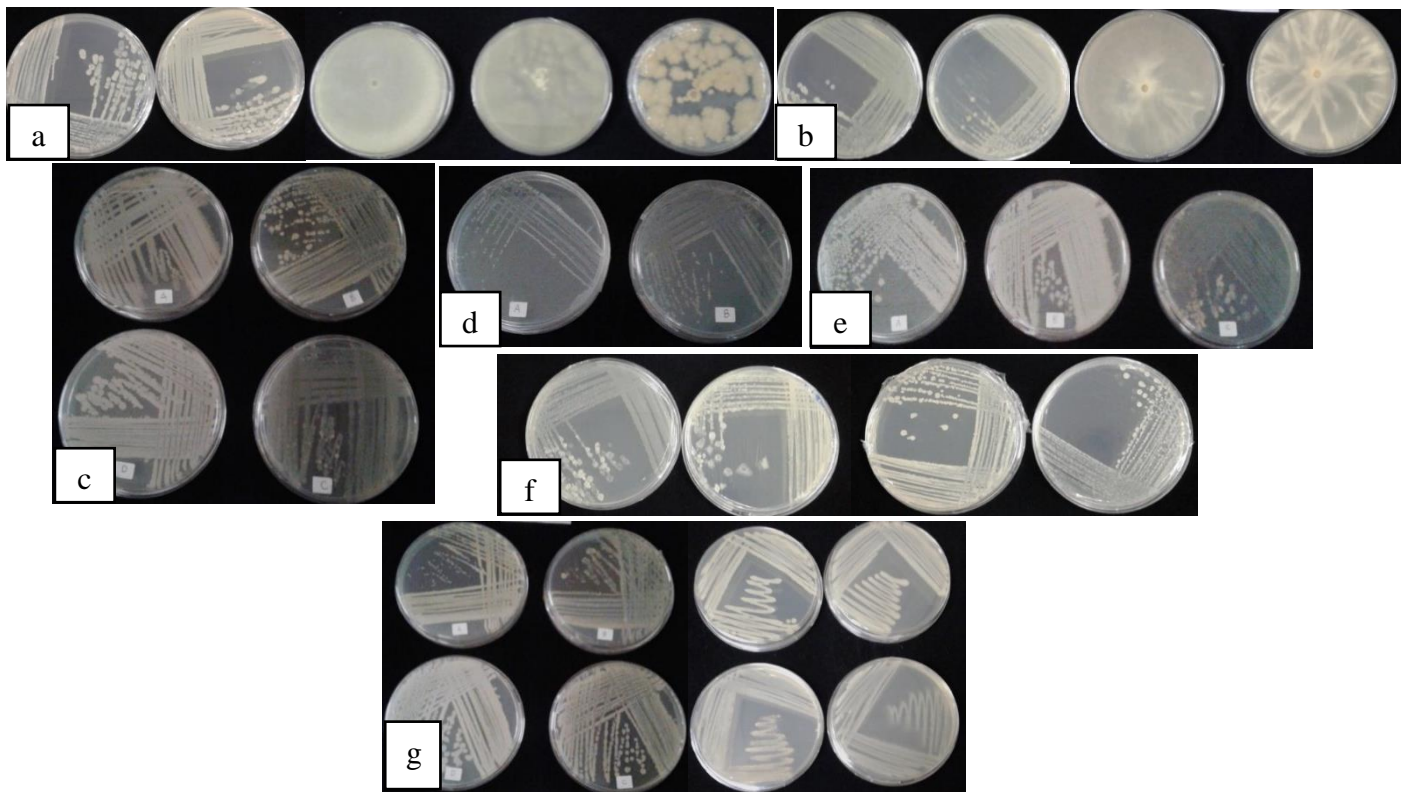
untuk produksi dan pengujian potensi enzim lipasenya. Hasil pengujian aktivitas enzim lipase dari isolat-isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas enzim lipase yang diproduksi dari kelima isolat jamur Nut-A, Nut-B, Nut-C, Kernel-B, dan Kernel-C dapat dilihat pada Tabel 2.

### Optimasi pH dan Suhu Enzim Lipase Bakteri dan Jamur

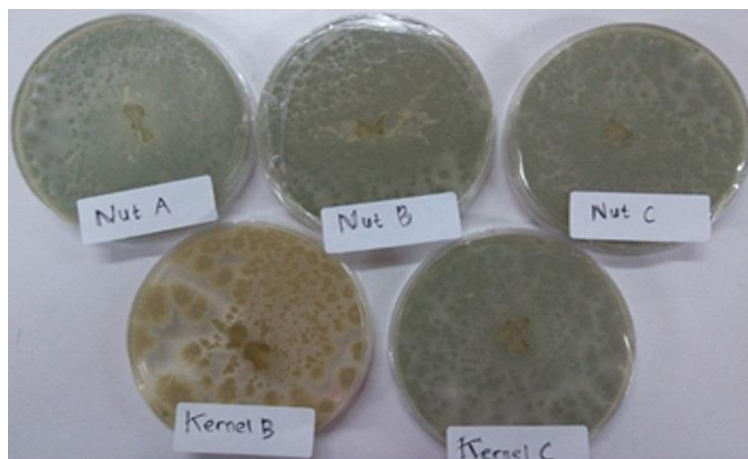
Hasil aktivitas enzim lipase isolat-isolat bakteri dan jamur dari optimasi pH dapat dilihat pada Tabel 3. Untuk lebih jelasnya pola

aktivitas enzim lipase isolat-isolat bakteri hasil optimasi pH ditunjukkan pada Gambar 6 dan pola aktivitas enzim lipase isolat-isolat jamur hasil optimasi pH ditunjukkan pada Gambar 7.

Hasil aktivitas enzim lipase isolat-isolat bakteri dan jamur hasil optimasi suhu dapat dilihat pada Tabel 4. Untuk lebih jelasnya aktivitas enzim lipase isolat-isolat bakteri hasil optimasi suhu ditunjukkan pada Gambar 8 dan pola aktivitas enzim lipase isolat-isolat jamur hasil optimasi suhu ditunjukkan pada Gambar 9.



**Gambar 4.** Isolat bakteri hasil pemurnian yaitu: Isolat yang diisolasi dari kernel (a), nut (b), lumpur got (c), kondensat (d), hasil buangan (e), limbah padatan (*sludge*) (f), dan tangki *crude oil* (g)



**Gambar 5.** Isolat jamur hasil pemurnian, isolasi dari Nut dan Kernel kelapa sawit**Tabel 1.** Aktivitas enzim lipase hasil produksi isolat bakteri di dalam erlenmeyer volume kerja 50 mL pada suhu 37 °C, agitasi 150 rpm, waktu panen pada jam ke 18

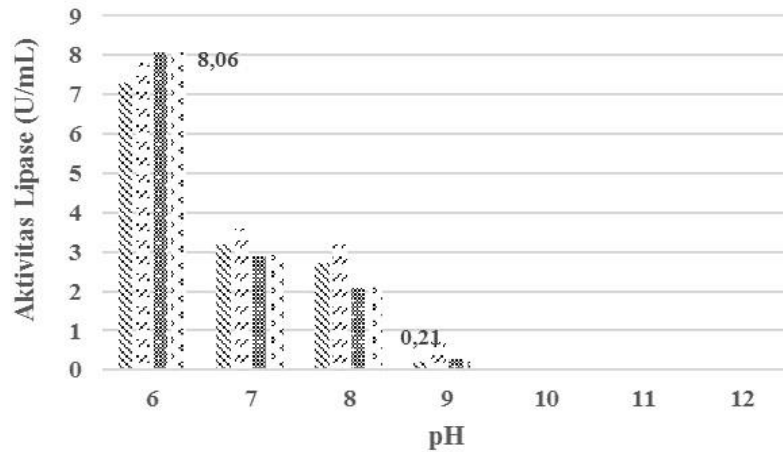
Isolat bakteri	Aktivitas lipase (U/mL)
Tangki <i>crude oil</i> -A	2,297
Tangki <i>crude oil</i> -B	2,703
Tangki <i>crude oil</i> -C	1,875
Tangki <i>crude oil</i> -D	1,875
Tangki <i>crude oil</i> -E	1,531
Tangki <i>crude oil</i> -F	1,781
Tangki <i>crude oil</i> -G	1,563
Kondensat-A	1,891
Kondensat-B	2,484
Hasil buangan-A	2,266
Hasil buangan-B	2,609
Lumpur got-A	1,906
Lumpur got-B	2,516
Lumpur got-C	1,875
Nut-A	1,625
Nut-B	1,625
Nut-C	1,75
Sludge-A	1,688
Sludge-B	1,656
Sludge-C	1,75

**Tabel 2.** Aktivitas enzim lipase hasil produksi isolat jamur, di dalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, pada suhu 27 °C, agitasi 150 rpm, waktu panen pada jam ke 72

Isolat	Aktivitas (U/mL)
Nut A	1,563
Nut B	1,188
Nut C	2,625
Kernel B	1,313
Kernel C	1,438

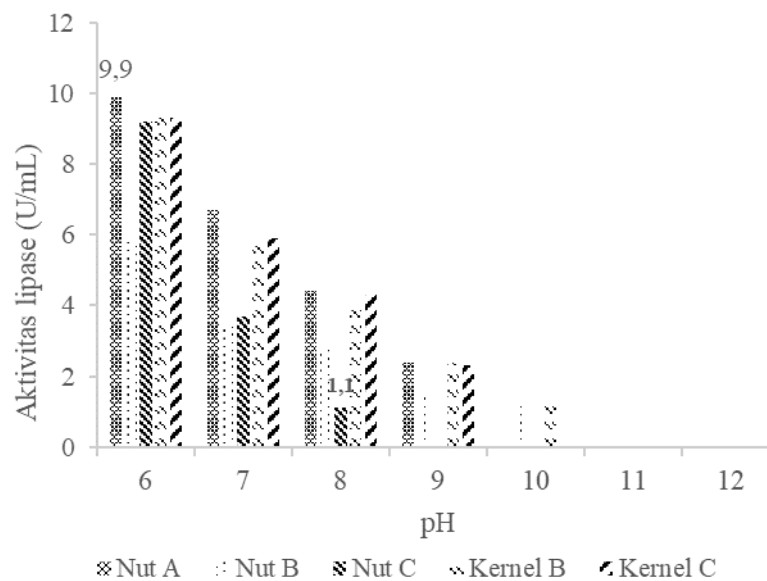
**Tabel 3.** Aktivitas enzim lipase hasil optimasi pH dari isolat-isolat bakteri dan jamur

Isolat bakteri	Aktivitas lipase U/mL							
	pH	6	7	8	9	10	11	12
Tangki <i>crude oil</i> -B		7,29	3,19	2,73	0,21	0	0	0
Kondensat-B		7,81	3,59	3,18	0,71	0	0	0
Hasil buangan-B		8,06	2,89	2,10	0,29	0	0	0
Lumpur got-B		8,06	2,92	2,17	0,23	0	0	0
Isolat jamur		6	7	8	9	10	11	12
Nut A		9,9	6,7	4,4	2,4	0	0	0
Nut B		5,8	3,4	2,8	1,5	1,3	0	0
Nut C		9,2	3,7	1,1	0	0	0	0
Kernel B		9,3	5,9	4,1	2,4	1,2	0	0
Kernel C		9,3	5,9	4,3	2,3	0	0	0



◇ Tangki Crude oil-B · Kondensat-B ✱ Hasil buangan-B ◊ Lumpur Got-B

**Gambar 6.** Aktivitas lipase (U/mL) isolat-isolat bakteri vs pH, fermentasi didalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, T = 37 °C, pH awal bervariasi, pH awal bervariasi, agitasi 150 rpm dan t = 18 jam



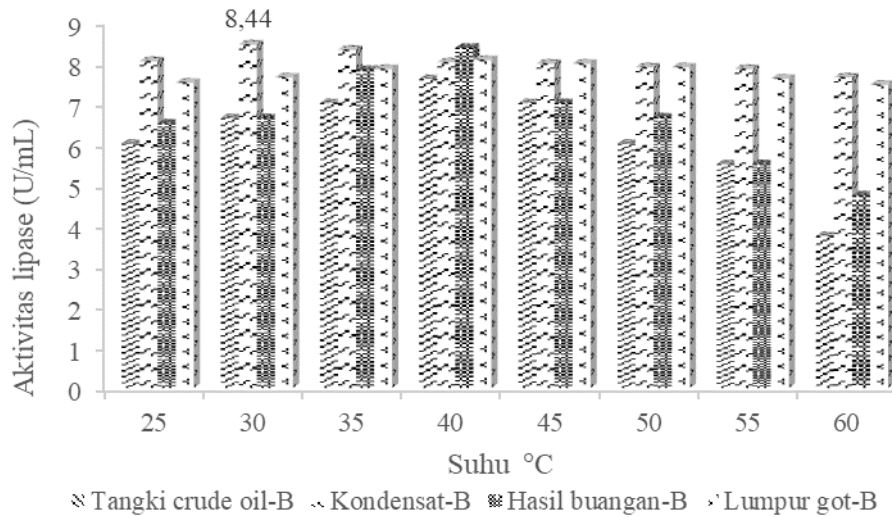
✱ Nut A · Nut B ✱ Nut C ◊ Kernel B ◊ Kernel C

**Gambar 7.** Aktivitas lipase (U/mL) isolat-isolat jamur vs pH, fermentasi didalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, T = 27 °C, pH awal bervariasi, agitasi 150 rpm dan t = 72 jam

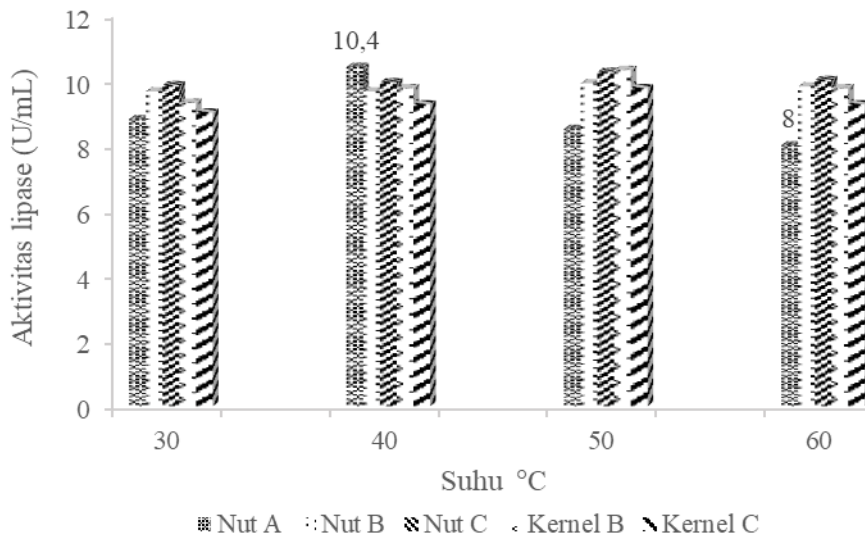
**Tabel 4.** Aktivitas enzim lipase hasil optimasi suhu (25–60 °C) dari isolat-isolat bakteri dan jamur

Suhu (°C)	Aktivitas lipase U/mL							
	25	30	35	40	45	50	55	60
Isolat bakteri								
Tangki <i>crude oil</i> -B	6	6,63	7	7,59	7	6	5,5	3,73
Kondensat-B	8,03	8,44	8,31	8,00	7,97	7,88	7,84	7,63
Hasil buangan-B	6,5	6,63	7,81	8,36	7	6,65	5,5	4,73
Lumpur got-B	7,5	7,63	7,84	8,06	7,97	7,88	7,6	7,45
Isolat jamur								
Nut A		8,8		10,4		8,50		8,00
Nut B		9,65		9,65		9,9		9,80
Nut C		9,84		9,93		10,25		10,00
Kernel B		9,3		9,75		10,31		9,75
Kernel C		9,00		9,25		9,75		9,25





**Gambar 8.** Aktivitas lipase (U/mL) isolat-isolat bakteri vs suhu, fermentasi di dalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, T bervariasi 25–60 °C, agitasi 150 rpm dan t = 18 jam



**Gambar 9.** Aktivitas lipase (U/mL) isolat-isolat jamur vs suhu, fermentasi di dalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, T bervariasi 30–60 °C, agitasi 150 rpm dan t = 72 jam

## PEMBAHASAN

### Sampling Mikroorganisme di Limbah Pengolahan Kelapa Sawit Malinping-Lebak-Banten

Sampling untuk mencari mikroorganisme penghasil enzim lipase dilakukan pada limbah pengolahan minyak kelapa sawit, di Desa Malinping, Kota Pandeglang, Provinsi Banten. Di lokasi limbah pengolahan minyak kelapa sawit ini diduga banyak mikroorganisme yang tumbuh dengan memanfaatkan minyak sebagai media tumbuh, sehingga dari hasil sampling diharapkan akan didapatkan banyak mikroorganisme potensial penghasil enzim lipase. Seperti dikutip dari Lee et al. (2015) di mana salah satu sekresi ekstraseluler yang

paling umum dihasilkan oleh mikroba yang menghuni tanah yang kaya minyak adalah lipase. Minyak sawit sendiri kaya akan asam oleat, yaitu sekitar 47,7 % (Derawi et al., 2014) memberikan begitu banyak ikatan ester yang dapat dihidrolisis salah satunya oleh lipase, sehingga meningkatkan peluang pula untuk dapat mengisolasi mikroba penghasil lipase penghidrolisis ikatan ester tersebut, yang merupakan target penelitian ini.

Pengambilan sampel dilakukan pada 5 titik lokasi yang diduga mengandung banyak mikroba dilihat dari banyaknya substrat untuk media tumbuh mikroba berupa limbah minyak sawit baik cair maupun padat, ataupun yang sudah tercampur menjadi lumpur. Pengambilan

sampel dilakukan pula pada 2 bagian buah kelapa sawit untuk mengisolasi *yeast* dan jamur dengan asumsi kedua mikroba ini menyukai kondisi yang lebih aerobik dan merupakan mikroflora normal pada permukaan buah sawit. Lima titik lokasi pengambilan sampel tersebut, yaitu pada tangki minyak kelapa sawit belum diolah (tangki *crude oil*), parit atau lumpur got, minyak padatan atau *sludge*, hasil buangan tangka, dan kondensat minyak seperti dapat dilihat pada Gambar 1.

### Skrining dan Isolasi Mikroorganisme Hasil Sampling

Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa dari 7 titik sampling yang diisolasi dari kernel, nut, lumpur got, kondensat, hasil buangan, limbah padatan (*sludge*), dan tangki *crude oil* masing-masing tumbuh sebanyak 4 isolat, 4 isolat, 3 isolat, 3 isolat, 6 isolat, 8 isolat, dan 7 isolat berdasarkan pengamatan pada media agar LB dan YNBB didapatkan sebaran mikroorganisme yang serupa. Dari hasil pengamatan morfologi koloni yang tumbuh pada media LB dan YNBB, didapatkan bahwa koloni yang tumbuh adalah koloni bakteri dan jamur. Koloni yang nampak membentuk spora dan miselia dan diduga sebagai jamur kemudian dipindahkan ke media PDA untuk dimurnikan lebih lanjut dan diinkubasi pada suhu moderat untuk jamur, yaitu antara 25–30 °C. Hasil skrining dari tiga sampling *site* dengan jumlah isolat potensial lipase tertinggi, yaitu Hasil Buangan, Limbah Padatan (*Sludge*) dan Tangki *Crude Oil* kemungkinan karena ketiga tempat ini jauh lebih kondusif untuk tumbuh dan berkembangnya berbagai jenis mikroorganisme yang dapat memanfaatkan sisa-sisa pengolahan kelapa sawit. Seperti pada Hasil Buangan yang diisolasi dari hasil buangan tangki seperti terlihat pada Gambar 1, dengan kerak minyak padat tebal yang menempel di sekeliling sisi tempat pembuangan yang menyediakan substrat yang kaya untuk para produsen lipase ini. Begitu pula sampling *site* limbah padatan (*sludge*) yang langsung kontak dengan tanah yang merupakan sumber berbagai jenis mikroba. Dengan penambahan substrat limbah pengolahan kelapa sawit, ditambah inokulum dari berbagai jenis mikroorganisme penghuni area tanah di sekitarnya, potensi terpendam

mikroorganisme-mikroorganisme ini pun terinduksi untuk menghasilkan lipase yang dibutuhkan untuk menguraikan substrat limbah kaya minyak sawit tersebut. Begitu pula yang terjadi pada hasil sampling dari tangki *crude oil* yang jelas kaya akan minyak sawit langsung yang merupakan salah satu substrat tumbuh para mikroorganisme produsen lipase.

### Pemurnian Mikroorganisme Hasil Sampling

Pemurnian terhadap koloni-koloni bakteri pada media LB membutuhkan usaha yang lebih karena substrat yang kaya nutrisi pada beberapa titik sampling sehingga begitu banyak mikroba yang tumbuh, dan didapatkan sebanyak total 30 isolat yang berhasil dimurnikan dari tujuh titik sampling (Gambar 4), Pemurnian dilakukan menggunakan teknik gores kuadran dan koloni tunggal yang terbentuk dipindahkan ke media plate LB-*olive oil* baru. Ke-30 isolat tersebut kemudian diskriminasi kembali produksi lipasenya untuk memilih 4 isolat bakteri terbaik. Sedangkan pemurnian terhadap koloni-koloni jamur yang tumbuh pada media PDA berhasil mendapatkan 5 isolat jamur yang diberi nama Jamur Nut-A, Nut-B, Nut-C, Kernel-B, dan Kernel-C seperti dapat dilihat pada Gambar 5.

### Produksi Enzim Lipase dari Isolat Bakteri dan Jamur Hasil Isolasi

Besarnya aktivitas dan produksi lipase dari satu mikroorganisme bergantung pada kemampuan mikroorganisme tersebut dalam menghasilkan lipase yang dimilikinya (produktivitas), tergantung pula pada jenis lipase yang dimiliki (tipe lipase dan karakteristiknya), dan keadaan lingkungan serta media yang digunakan pada saat produksi enzim.

Dari hasil pemurnian bakteri dipilih 20 isolat bakteri, selanjutnya bakteri-bakteri tersebut dilihat potensinya sebagai mikroba penghasil enzim lipase. Produksi lipase dilakukan dalam media *Luria Bertani* (LB) menggunakan erlenmeyer volume kerja 50 mL pada suhu 37 °C, agitasi 150 rpm, waktu fermentasi 18 jam.

Pada Tabel 1 dapat dilihat aktivitas enzim hasil produksi dari 20 isolat bakteri hasil pemurnian. Nilai aktivitas lipase bakteri dari Tangki-*Crude-Oil* E adalah paling rendah, yaitu 1,531 U/mL sedangkan aktivitas paling

tinggi adalah 2,703 U/mL yang dihasilkan oleh isolat dari Tangki-*Crude-Oil* B.

Hasil produksi lipase ke-20 isolat bakteri (belum diidentifikasi) ini tidak jauh beda dengan yang dilaporkan oleh Suci, Arbianti, dan Hermansyah (2017) lipase *Bacillus cereus* isolat dari *waste cooking oil* dengan *submerged fermentation*, waktu 84 jam, suhu 30 °C diperoleh aktivitas lipase 4,96 U/mL. Dilaporkan juga oleh Lee et al. (2015) yang mengisolasi *Bacillus* spp. Penghasil lipase dari habitat terkontaminasi minyak dan mengukur aktivitasnya berdasarkan lipolitik tes menggunakan *Tween Agar* dan *Phenol-Red Agar*.

Kelima isolat jamur Nut-A, Nut-B, Nut-C, Kernel-B, dan Kernel-C hasil pemurnian dilihat potensinya sebagai mikroba penghasil enzim lipase. Produksi lipase dilakukan dengan media tepung gandum 2% (w/v), tepung kedelai 3% (w/v), dan inducer minyak zaitun 1% menggunakan erlenmeyer volume kerja 50 mL pada suhu 27 °C, agitasi 150 rpm, waktu fermentasi 72 jam. Hasil fermentasi memberikan nilai aktivitas lipase terendah sebesar 1,313 U/mL oleh isolat Kapang Nut-B dan aktivitas tertinggi 2,625 U/mL oleh isolat Kapang Nut-C seperti dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil aktivitas lipase tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Rihani, Tichati, dan Soumati (2018) yang mengisolasi dari limbah pabrik minyak diperoleh aktivitas lipase 3,9 U/mL, di dalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, suhu 30 °C, agitasi 150 rpm, selama 4 hari (96 jam). Dilaporkan oleh Kotogán, Németh, Vágvölgyi, Papp, dan Takó (2014) produksi lipase *M. echinosphaera*, lipase *Umbelopsis autotrophica*, lipase *Mucor corticolus* SZMC 12031 selama 7 hari (168 jam) dengan inducer minyak zaitun memberikan aktivitas masing-masing adalah 1,8 U/mL, 2,8 U/mL, dan 9,6 U/mL.

### Optimasi pH Produksi Enzim Lipase Bakteri dan Lipase Jamur

Kecepatan reaksi enzim dapat dipengaruhi oleh ion H, karena enzim dapat mengionisasi ion H<sup>+</sup> pada gugus karboksil, amino, dan gugus lainnya (Indriawan, 2018). Produksi lipase dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu sumber nutrisi, faktor

lingkungan, dan jenis mikroorganisme. Faktor tersebut dapat diatur untuk mendapatkan kondisi optimum dalam menghasilkan enzim. Peningkatan kemampuan mikroorganisme selain dengan menggunakan kloning dan optimasi media, pH, dan suhu dapat juga dilakukan dengan menggunakan bahan kimia (Tapia, Anschau, Coradini, Franco, & Deckmann, 2012). Untuk optimasi pH, dipilih empat isolat bakteri yang mempunyai aktivitas paling tinggi. Isolat-isolat tersebut adalah isolat Tangki-*Crude-Oil* B, Isolat Lumpur-Got B, Isolat Hasil-Buangan B, dan Isolat Kondensat B dengan nilai aktivitas lipase pada uji produksi awal berturut turut adalah 2,703; 2,609; 2,516; dan 2,484 U/mL. Hasil optimasi pH pada keempat isolat bakteri menunjukkan bahwa keempat isolat bakteri mempunyai aktivitas yang paling tinggi di pH 6. Seiring dengan kenaikan pH, aktivitas enzim lipase mengalami penurunan hingga pada pH 10 tidak ada aktivitas enzim. Tabel 3 menunjukkan nilai aktivitas lipase pada ke-4 isolat bakteri, yaitu isolat Hasil-Buangan B, isolat Lumpur-Got B, isolat Kondensat B dan isolat Tangki-*Crude-Oil* B lebih tinggi dua kali pada pH 6, masing-masing adalah 8,06; 8,06; 7,81, dan 7,29 U/mL, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 6.

Nilai pH juga dipengaruhi oleh jenis bakteri dan kondisi proses yang digunakan. Dilaporkan oleh Aisyah (2017) bahwa lipase *Bacillus halodurans* CM1 yang diproduksi di dalam erlenmeyer volume kerja 50 mL, agitasi 200 rpm, suhu 50 °C, pH optimum 7 untuk produksi lipase memberikan aktivitas 3,38 U/mL. Sedangkan pada lipase *Bacillus licheniformis* F11.4 mempunyai pH optimum 8 untuk produksi lipase, inducer minyak zaitun (0,05%), dan CPO (0,5%) pada suhu 37 °C dan agitasi 150 rpm, aktivitas enzim 1,152 U/mL (Tirtarasa, 2015).

Optimasi pH untuk isolat jamur Nut-A, Kernel-B, Kernel-C, Nut-C, dan Nut-B, memberikan aktivitas lipase 3 sampai 6 kali lipat pada pH 6 dibandingkan sebelum optimasi. Aktivitas enzim pada pH 6 berturut turut sebesar 9,9; 9,3; 9,3; 9,2; dan 5,8 U/mL seperti dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil optimasi pH isolat bakteri, yaitu aktivitas enzim lipase yang tertinggi dihasilkan pada pH 6 seperti

ditunjukkan pada Gambar 7. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan semakin naik pH medianya maka aktivitas lipase semakin turun dan hilang. Artinya makin basa kondisi tumbuh. Mikrobanya, produksi lipasanya makin menurun. Kondisi optimum yang sama tercatat di dalam tesis Indriawan (2018) bahwa pH 6 adalah kondisi yang optimum untuk *Aspergillus fumigatus* memproduksi lipasanya. Hal ini didukung pula oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Falony, Armas, Mendoza, dan Hernandez (2006) serta Crueger dan Crueger (1993) terhadap lipase *Aspergillus niger*.

Optimasi pH ini diarahkan ke kondisi basa, karena salah satu target penelitian ini adalah untuk mendapatkan lipase potensial untuk aplikasi pada proses modifikasi serat polyester dalam menghasilkan serat polyester yang lebih hidrofilik. Pemrosesan poliester sendiri dilakukan lebih banyak pada pH alkali, sehingga dibutuhkan enzim yang aktif bekerja pada pH alkali ataupun yang tahan di pH alkali. Namun optimasi yang dilakukan pada penelitian ini memang baru tahapan optimasi produksi. Masih perlu dilakukan tahapan karakterisasi pH pada enzim lipasanya sendiri.

Hasil yang tidak jauh berbeda dengan hasil optimasi pH isolat bakteri, yaitu aktivitas enzim lipase yang tertinggi dihasilkan pada pH 6, untuk lebih jelasnya ditunjukkan pada Gambar 7 semakin naik pH nya aktivitas lipase semakin turun dan hilang. Seperti dipaparkan di dalam tesis Indriawan (2018) bahwa pH 6 adalah yang optimum untuk *Aspergillus fumigatus* didukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Falony et al. (2006) serta Crueger dan Crueger (1993) terhadap lipase *Aspergillus niger*.

### Optimasi Suhu Enzim Lipase Bakteri dan Lipase Jamur

Enzim peka terhadap suhu. Suhu memiliki pengaruh yang signifikan terhadap energi kinetik molekul enzim dan substrat, sehingga dapat menyebabkan tumbukan antara enzim dengan substrat. Menurut Septiningrum dan Moeis (2009), kenaikan suhu akan berkorelasi positif dengan kenaikan aktivitas enzim sebelum mencapai suhu optimum, sedangkan pada suhu di atas suhu optimum maka aktivitas enzim akan turun dengan cepat.

Optimasi suhu terhadap aktivitas lipase dari isolat bakteri Tangki-*Crude-Oil* B, isolat Kondensat B, isolat Lumpur-Got B, dan isolat Hasil-Buangan (*Sludge*) B dilakukan pada variasi suhu 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 °C. Tabel 4 menunjukkan bahwa isolat bakteri Kondensat B mempunyai aktivitas paling tinggi pada suhu 30 °C, yaitu 8,44 U/mL dan pada suhu 35 °C, yaitu 8,31 U/mL. Semakin tinggi suhu, aktivitas enzim lipase semakin menurun. Isolat Tangki-*Crude-Oil* B, isolat Hasil-Buangan B, dan isolat Lumpur-Got B mempunyai aktivitas lipase tertinggi pada suhu 40 °C, masing-masing adalah 7,59; 8,36 dan 8,06 U/mL. Gambar 8 menunjukkan keempat isolat bakteri aktivitas lipasanya menurun ketika tidak berada pada suhu optimumnya. Penelitian Tirtarasa (2015) mencatat suhu optimum lipase *Bacillus licheniformis* F11.4 pada 37 °C dengan aktivitas lipase 1,1523 U/mL. Sedangkan menurut Aisyah (2017), lipase yang dihasilkan *Bacillus halodurans* CM1 aktivitas tertingginya didapat pada suhu 50 °C sebesar 3,63 U/mL.

Optimasi suhu pada isolat jamur dilakukan dengan mengukur aktivitas enzim lipase jamur pada pH optimumnya, yakni pH 6 dengan variasi suhu mulai dari 30, 40, 50, dan 60 °C. Hasil pengukuran aktivitas lipase menunjukkan bahwa suhu optimum isolat jamur Nut A adalah 40 °C, sedang untuk isolat Nut B, Nut C, Kernel B, dan Kernel C optimum pada suhu 50 °C, berturut turut tercatat aktivitasnya sebesar 9,90; 10,25; 10,31, dan 9,75 U/mL yang ditunjukkan pada Tabel 4 dan Gambar 9. Studi lain mencatat suhu 45 °C merupakan suhu optimum untuk aktivitas lipase *Aspergillus japonicus* LAB01 dan aktivitas lipase menurun pada suhu 50 °C (Souza et al., 2014). Rajan dan Nair (2011) juga melaporkan bahwa *Aspergillus fumigatus* MTCC 9657 memiliki aktivitas lipase tertinggi pada suhu 30 °C. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap mikroba memiliki karakteristik lipase yang berbeda.

Dari beberapa data referensi yang telah disebutkan, juga data dari penelitian ini, dapat dilihat kenaikan suhu akan diikuti dengan kenaikan aktivitas enzim sebelum mencapai suhu optimum. Sedangkan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu optimum, aktivitas enzim akan turun dengan cepat. Hal ini disebabkan

terjadinya perubahan konformasi pada struktur protein enzim atau substrat sehingga gugus reaktifnya mengalami hambatan dalam memasuki sisi aktif enzim (Meryandini, Widhyastuti, & Lestari, 2008).

### SIMPULAN DAN SARAN

Hasil skrining dari limbah kelapa sawit pada 7 titik sampling dan setelah tahapan isolasi dan pemurnian, didapatkan yg berpotensi untuk produksi lipase ada 20 isolat bakteri dan 5 isolat jamur. Kemudian dipilih 4 isolat bakteri terbaik dan 5 isolat jamur utk dilakukan optimasi pH dan suhu produksi lipasena. Dari hasil optimasi, pH 6 adalah pH optimum utk produksi lipase baik bakteri maupun jamur. Suhu 30 °C adalah suhu optimum untuk produksi lipase dari isolat bakteri Kondensat-B. Sedangkan isolat jamur Nut-A suhu optimumnya 40 °C. Untuk isolat jamur Nut-B, Nut-C, Kernel-B, dan Kernel-C suhu optimumnya adalah 50 °C.

Selanjutnya untuk dapat diaplikasikan pada proses hidrofiliisasi serat poliester, lipase dari isolat bakteri dan isolat jamur hasil dari penelitian ini perlu dikarakterisasi lebih lanjut terutama aplikasinya terhadap serat poliester. Isolat dengan lipase yang potensial untuk aplikasi hidrofiliisasi kemudian perlu dioptimasi media produksi dan kondisi fermentasinya.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dilakukan menggunakan dana INSINAS dari RISTEK DIKTI, tahun 2019.

### DAFTAR PUSTAKA

Aisyah, A. (2017). Optimasi produksi dan karakterisasi lipase *Bacillus halodurans* CM1 (Tesis master). Program Pascasarjana Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

Anbu, P., Gopinath, S. C. B., Cihan, A. C., & Chaulagain, B. P. (2013). Microbial enzymes and their applications in industries and medicine. *BioMedical Research International*, 2013, 1-2.

Andualema, B., & Gessesse, A. (2012). Microbial lipases and their industrial

applications: Review. *Biotechnology*, 11(3), 100-118.

- Chavan, A., Chougale, D., Lakshmikantha, R. Y., & Satwadi, P. R. (2012). Mutational study of *Bacillus* species for production, purification and characterisation of lipase. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 2(4), 545-551.
- Crueger, W., & Crueger, A. (1993). *Biotechnology: Industrial Microbiology Manual*. Zaragoza, Spain: Acribia S.A.
- Derawi, D., Abdullah, B. M., Huri, H. Z., Yusop, R. M., Salimon, J., Hairunisa, N., & Shalih, N. (2014). Palm olein as renewable raw materials for industrial and pharmaceutical products applications: Chemical characterization and physicochemical properties studies. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2014, 1-5.
- Falony, G., Armas, J. C., Mendoza, J. C. D., & Hernandez, J. L. M. (2006). Production of extracellular lipase from *Aspergillus niger* by solid-state fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 235-240.
- Fleuri, L. F., de Oliveira, M. R., de Lara Campos Arcuri, M., Capoville, B. L., Pereira, M. S., Delgado, C. H. O., & Novelli, P. K. (2014). Production of fungal lipases using wheat bran and soybean bran and incorporation of sugarcane bagasse as a co-substrate in solid-state fermentation. *Food Sciences Biotechnology*, 23(4), 1199-1205. doi: 10.1007/s10068-014-0164-7.
- Gupta, R., Gupta, N., Rathi, P. (2004). Bacterial lipases: An overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2004(64), 763-781. doi: 10.1007/s00253-004-1568-8.
- Indriawan, A. (2018). Pemanfaatan lipase untuk transesterifikasi ester asam lemak oleh isolat kapang limbah kernel dan nut kelapa sawit (*Elaeis Gueneensis* Jacq.) (Tesis master). Program Pascasarjana Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu

- Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Jaegar, K. E., & Eggert, T. (2002). Lipase for biotechnology. *Current Option in Biotechnology*, 2002(13), 390-397.
- Kotogán, A., Németh, B., Vágvölgyi, C., Papp, T., & Takó, M. (2014). Screening for extracellular lipase enzymes with transesterification capacity in *Mucoromycotina* strains. *Food Technology Biotechnology*, 52(1), 73-82.
- Lee, L. P., Karbul, H. M., Citartan, M., Gopinath, S. C. B., Lakshmipriya, T., Tang, T-H. (2015). Lipase-secreting *Bacillus* species in an oil-contaminated habitat: Promising strains to alleviate oil pollution. *BioMed Research International*, Hindawi Publishing Corporation, 2015, 1-9.
- Meryandini, A., Widhyastuti, N., & Lestari, Y. (2008). Pemurnian dan karakterisasi xilanase *Streptomyces* sp. SKK1-8. *Makara Sains*, 2(12), 55-60.
- Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennely, P. J., & Well, P. A. (2012). *Biokimia harper edisi 29*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Prasad, M. P., & Manjunath, K. (2012). Effect of media and process parameters in the enhancement of extracellular lipase production by bacterial isolates from industrial effluents. *International Journal of Microbiology Research*, 4(8), 308-311.
- Rajan, A., & Nair, A. J. (2011). A comparative study on alkaline lipase production by a newly isolated *Aspergillus fumigatus* MTCC 9657 in submerged and solid-state fermentation using economically and industrially feasible substrate. *Turkish Journal of Biology*, 35(5), 569-574.
- Rihani, A., Tichati, L., & Soumati, B. (2018). Isolation and identification of lipase-producing fungi from local olive oil manufacture in East of Algeria. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering*, 19(1), 13-22.
- Septiningrum, K., & Moeis, M. R. (2009). Isolasi dan karakterisasi xilanase dari *Bacillus circulans*. *Buletin Selulosa*, 44(1), 31-40.
- Souza, L. T. A., Oliveira, J. S., dos Santos, V. L., Regis, W. C. B., Santoro, M. M., & Resende, R. R. (2014). Lypolitic potential of *Aspergillus japonicus* LAB01: Production, partial purification, and characterisation of an extracellular lipase. *Biomedical Reaserach International*, 2014, 1-11.
- Suci, M., Arbianti, R., & Hermansyah, H. (2017, October 3-4). *Lipase production from Bacillus subtilis with submerged fermentation using waste cooking oil*. Paper presented at IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2<sup>nd</sup> International Tropical Renewable Energy Conference (i-TREC), Bali, Indonesia. Retrieved from <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/105/1/012126#:~:text=Culture%20of%20Bacillus%20subtilis%20was,%C2%BC%20for%2084h%20fermentation>.
- Tapia, E. V., Anschau, A., Coradini, A. L. V., Franco, T. T., & Deckmann, A. C. (2012). Optimization of lipid production by the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* by random mutagenesis coupled to cerulenin screening. *AMB Express Journal (Applied Microbiology and Biotechnology)*, 2(64), 1-8. doi: 10.1186/2191-0855-2-64.
- Tirtarasa, T. P. (2015). Optimasi produksi enzim lipase dari *Bacillus licheniformis* F11.4 pada media produksi campuran tepung ikan, minyak zaitun dan *crude palm oil* (Skripsi sarjana). Fakultas Farmasi, Peminatan Farmasi Sains dan Teknologi, Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia.