

Agustus 2007

JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS MULAWARMAN

Penelitian

Kajian Ketahanan Surfaktan Metil Sulfonat (MES) sebagai *Oil Well Stimulation Agent* terhadap Aktivitas Bakteri di Lingkungan Minyak Bumi (*Study on the Resistance of Methyl Sulphonate (MES) as an Oil Well Stimulating Agent from the Activity of Bacteria on Petroleum Environment*) **Khaswar Syamsu, Ani Suryani, Erliza Hambali, Tatit K. Bunasor, Arya Andhika**

Kombinasi Perendaman dalam Natrium Hidroksida dan Aplikasi Kitin Deasetilase terhadap Kitin Kulit Udang untuk Menghasilkan Kitosan dengan Berat Molekul Rendah (*Combination of Soaking in Sodium Hydroxide and Chitin Deacetylase Application on Shrimp Chitin in Producing Low Molecular Weight Chitosan*) **Aswita Emmawati, Betty Sri Laksmi Jenie, Yusro Nuri Fawzya**

Isolasi Jamur Penghasil Lipase dari Tanah, Tempe, dan Ragi Tempe (*Isolation of Lipase-Producing Molds from Soil, Tempeh, and Tempeh "Ragi"*) **Yuliani, Chusnul Hidayat, Supriyadi**

A Sialidase from horse Liver was Co-Purified with β -Galactosidase and Carboxypeptidase A (Sialidase Hati Kuda terdapat sebagai Enzim Kompleks dengan β -Galaktosidase dan Carboxypeptidase A) **Krishna Purnawan Candra**

Keuntungan Proses *Wet Degumming* Dibanding *Dry Degumming* pada Pemurnian Minyak Sawit Kasar (*Advantage of Wet Degumming Compared to Dry Degumming Process in Crude Palm Oil Purification*) **Deny Sumarna**

Produksi *Planlet* dari Embrio Somatik Kacang Tanah (*Planlets Production Derived from Peanut Somatic Embryos*) **Ellok Dwi Sulichantini**

JTP

JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN

PENERBIT

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian
Universitas Mulawarman
Jl. Tanah Grogot Kampus Gunung Kelua
Samarinda

PELINDUNG

Juremi Gani

PENANGGUNG JAWAB

Alexander Mirza

KETUA EDITOR

Krishna Purnawan Candra (THP-UNMUL Samarinda)

EDITOR

Dahrulsyah (TPG-IPB Bogor)
Meika Syahbana Roesli (TIN-IPB Bogor)
Muhammad Nurroufiq (BPTP-Samarinda)
Neni Suswatini (THP-UNMUL Samarinda)
Sulistyo Prabowo (THP-UNMUL Samarinda)
Hudaida Syahrumsyah (THP-UNMUL Samarinda)

EDITOR PELAKSANA

Hadi Suprpto
Sukmiyati Agustin, Anton Rahmadi

ALAMAT REDAKSI

Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Mulawarman
Jalan Tanah Grogot Kampus Gunung Kelua
Samarinda 75123
Telp 0541-749159
e-mail: JTP_unmul@yahoo.com

JURNAL TEKNOLOGI PERTANIAN

UNIVERSITAS MULAWARMAN

Volume 3 Nomor 1
Agustus 2007

Halaman

Penelitian

- Kajian Ketahanan Surfaktan Metil Sulfonat (MES) sebagai *Oil Well Stimulation Agent* terhadap Aktivitas Bakteri di Lingkungan Minyak Bumi (*Study on the Resistance of Methyl Sulphonate (MES) as an Oil Well Stimulating Agent from the Activity of Bacteria on Petroleum Environment*) **Khaswar Syamsu, Ani Suryani, Erliza Hambali, Tatit K. Bunasor, Arya Andhika**..... 1
- Kombinasi Perendaman dalam Natrium Hidroksida dan Aplikasi Kitin Deasetilase terhadap Kitin Kulit Udang untuk Menghasilkan Kitosan dengan Berat Molekul Rendah (*Combination of Soaking in Sodium Hydroxide and Chitin Deacetylase Application on Shrimp Chitin in Producing Low Molecular Weight Chitosan*) **Aswita Emmawati, Betty Sri Laksmi Jenie, Yusro Nuri Fawzya** 12
- Isolasi Jamur Penghasil Lipase dari Tanah, Tempe, dan Ragi Tempe (*Isolation of Lipase-Producing Molds from Soil, Tempeh, and Tempeh "Ragi"*) **Yuliani, Chusnul Hidayat, Supriyadi**..... 19
- A Sialidase from horse Liver was Co-Purified with β -Galactosidase and Carboxypeptidase A* (Sialidase Hati Kuda terdapat sebagai Enzim Kompleks dengan β -Galaktosidase dan Carboxypeptidase A) **Krishna Purnawan Candra**..... 27
- Keuntungan Proses *Wet Degumming* Dibanding *Dry Degumming* pada Pemurnian Minyak Sawit Kasar (*Advantage of Wet Degumming Compared to Dry Degumming Process in Crude Palm Oil Purification*) **Deny Sumarna** 37
- Produksi *Planlet* dari Embrio Somatik Kacang Tanah (*Planlets Production Derived from Peanut Somatic Embryos*) **Ellok Dwi Sulichantini**..... 43

ISOLASI JAMUR PENGHASIL LIPASE DARI TANAH, TEMPE, DAN RAGI TEMPE

Isolation of Lipase-Producing Molds from Soil, Tempeh, and Tempeh "Ragi"

Yuliani¹, Chusnul Hidayat², Supriyadi²

1) Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman
Jl. Tanah Grogot, Samarinda 75123, 2) Program Studi Teknologi Pangan dan Hasil
Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Jl. Socio Justicia
Bulaksumur, Yogyakarta

Received 4 March 2007 accepted 1 June 2007

ABSTRACT

Structured lipid has attracted and gets a lot of attention in food technology and nutrition in the last decade. The main reaction in the synthesis of structured lipid is transesterification catalyzed by lipase. Up till now, an industrial application of structured lipid is limited due to the high price of commercial lipase. Application of microbial lipases dominates the synthetic process of structured lipid. However, there are only few reports about indigenous microbial lipase from Indonesia, so it is interesting to explore microbial lipase from any potential source of Indonesia. The objectives of this research were to isolate potential lipase-producing molds from Indonesia and to study optimum condition for their hydrolytic activity. Nine potential lipase-producing molds were found from different genus i.e. *Rhizopus*, *Penicilium*, *Aspergillus*, and *Mucor*. Among those isolates, *Rhizopus oligosporus*, which was isolated from tempeh *ragi*, produced the highest hydrolytic activity of lipase. This isolate could grow well in the temperature range of 30-40 °C, but not at 50 °C. The hydrolytic activity of lipase from *Rhizopus oligosporus* was optimum at pH 7.0 and 50 °C.

Keywords: Lipase producing molds, *Rhizopus oligosporus*, Tempeh *ragi*

PENDAHULUAN

Akhir-akhir ini produk baru berupa lipid terstruktur, terutama lipid terstruktur spesifik, memperoleh perhatian yang besar dibidang teknologi pangan dan gizi. Reaksi utama dalam sintesis lipid terstruktur adalah transesterifikasi atau sering disebut inter-esterifikasi. Modifikasi lipid yang menghasilkan lipid terstruktur dilakukan melalui reaksi yang dikatalisis oleh lipase (Yesiloglu dan Kilic, 2004). Metoda modifikasi lipid ini telah dilaporkan pada banyak publikasi dalam satu dekade terakhir. Namun demikian hasil penelitian yang berhasil diaplikasikan dalam industri masih sangat sedikit. Salah satu alasannya adalah harga lipase komersial yang mahal (Xu et al., 2002).

Lipase (triasilgliserol hidrolase EC 3.1.1.3 mengkatalisis hidrolisa ikatan ester dari triasilgliserol dan pada kondisi tertentu dapat mensintesis ikatan ester melalui transesterifikasi (Kohno et al., 1994). Lipase

dihasilkan oleh hewan (Thirstrup et al., 1993), tumbuh-tumbuhan (Mohamed et al., 2000; Abigor et al., 2002) dan mikrobia (Dalmau et al., 2000; Ruiz et al., 2001; Baral dan Fox, 1997). Lipase mikrobia mempunyai potensi yang besar untuk digunakan secara komersial karena stabilitas, selektivitas dan spesifisitas yang tinggi terhadap substrat (Cardenas et al., 2001), disamping itu produksinya memerlukan waktu yang singkat dan aktivitasnya dapat ditingkatkan melalui penggunaan kondisi pertumbuhan yang tepat, serta tidak memerlukan lahan produksi yang luas. Diantara mikrobia penghasil lipase, jamur mendapat perhatian yang sangat besar karena merupakan penghasil lipase ekstraseluler potensial. Lipase ekstraseluler jamur biasanya diproduksi melalui proses fermentasi dalam media cair yang memungkinkan perolehan (*recovery*) yang cukup besar dan mudah dilakukan (Lima et al., 2003).

Penggunaan lipase dari mikrobial mendominasi proses pembuatan lipid terstruktur misalnya lipase dari *Rhizomucor miehei* (Rao *et al.*, 2002), *Candida antarctica* (Shimada *et al.*, 2001), *Aspergillus niger*, *Rhizopus javanicus*, *Rhizopus niveus*, *Alcaligenes sp.*, *Pseudomonas*, *Candida rugosa* (Lai *et al.*, 2000), dan *Thermomyces lanuginosa* (Tones *et al.*, 2002). Dari mikrobial potensial tersebut belum banyak laporan tentang penggunaan lipase yang berasal dari mikrobial yang banyak tumbuh pada produk pertanian kaya lipid yang berasal dari Indonesia seperti *Rhizopus oligosporus* (jamur tempe), dan *Neurospora sitophila* (jamur oncom). Untuk itu eksplorasi lipase dari sumber asli Indonesia yang murah serta proses yang efisien perlu dilakukan di Indonesia.

Pada laporan ini diuraikan tentang isolasi jamur penghasil lipase dari berbagai sumber asal Indonesia seperti tanah, tempe, dan ragi tempe. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan jamur potensial penghasil lipase ekstraseluler asal Indonesia.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan sumber jamur, yaitu tempe dan ragi tempe, masing-masing diperoleh dari produsen tempe di Yogyakarta, sedangkan tanah merupakan tanah humus yang ada disekitar kota Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan semuanya *analytical grade*. Pepton, ekstrak khamir, dan agar yang digunakan adalah produk dari Oxoid, sedangkan reagen-reagen kimia seperti sodium hidroksida, indikator metil red, minyak zaitun, etanol, asam oleat, isooktan, tris-hydroxy methane, asam khlorida, sodium nitrat, tributirin, kalsium khlorida, khloramfenikol, asam asetat glasial, sodium asetat, kupri-asetat, piridin, glukosa, sodium hidrogen fosfat, dan sodium dihidrogen fosfat yang digunakan adalah produk dari Merck.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari alat-alat gelas seperti erlenmeyer, gelas piala, tabung reaksi, labu ukur, gelas ukur, petridish dan pipet ukur serta alat-alat non gelas seperti *stomacher*, mikropipet, UV-Vis spektrofotometer, pH meter, *autoclave*, penangas

air, *magnetic stirer*, *shaker incubator*, *shaker water bath*, oven dan refrigerator.

Prosedur Penelitian

Isolasi jamur penghasil lipase

Isolasi jamur penghasil lipase dilakukan sesuai metode yang diuraikan oleh Pitt dan Hocking (1997). Sampel yang digunakan sebagai sumber jamur untuk isolasi jamur penghasil lipase adalah tanah, tempe, dan ragi tempe. Sampel tempe diperoleh dengan cara mencacah beberapa potong permukaan tempe. Isolasi dilakukan dengan cara mencampur 10 gram sampel dengan 90 mL larutan fisiologis NaCl 0,85 % dalam plastik steril, selanjutnya dikocok kuat dengan *stomacher* selama 2 menit dan dibiarkan selama 3 menit agar sampel mengendap tetapi spora jamur masih terlarut (larutan spora).

Larutan spora diencerkan dengan cara melarutkan 1 mL larutan spora ke dalam 9 mL larutan NaCl 0,85 % secara aseptis (pengenceran 10^{-2}). Selanjutnya dibuat pengenceran sampai 10^{-6} . Masing-masing larutan hasil pengenceran sebanyak 0,1 mL *dipating* pada media isolasi dalam cawan petri menggunakan metode sebar (*spread plate*). Untuk tiap pengenceran dilakukan duplo.

Media isolasi yang digunakan adalah media padat PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung tributirin 1 % (Sharma *et al.*, 2001). Komposisi PDA adalah 200 g kentang, 20 g glukosa, 12 g agar dan 0,1 g khloramfenikol, 1 L aquadest, pH 6,0. Media yang telah disebar larutan spora diinkubasi selama 2-10 hari pada suhu ruang dan suhu 40 °C. Metode seleksi dilakukan berdasarkan ada tidaknya zona jernih (*halo*) pada sekeliling koloni jamur. Koloni jamur yang memproduksi lipase adalah koloni yang terdapat zona jernih di sekelilingnya. Koloni yang sama tetapi tumbuh pada suhu yang berbeda dipilih salah satu yang mempunyai perbandingan diameter zona jernih dan diameter koloni yang paling besar. Selanjutnya dilakukan pemurnian terhadap isolat penghasil lipase dengan cara menanam kembali pada media seleksi yang baru. Isolat hasil pemurnian selanjutnya ditanam pada media agar miring PDA pada suhu 4 °C

Seleksi Isolat Jamur Penghasil Lipase Paling Potensial

Untuk menentukan kemampuan katalitik lipase isolat jamur yang diperoleh pada tahap isolasi di media padat, dilakukan penentuan aktivitas hidrolitik masing-masing isolat secara kuantitatif. Pada tahap ini dilakukan produksi lipase ekstrasellular kasar masing-masing isolat, dengan cara menumbuhkannya pada media basal secara *liquid state fermentation* dan kemudian terhadap filtratnya dilakukan uji aktivitas hidrolitik. Selain itu dilakukan pula uji kadar protein terlarut. Media basal yang digunakan merupakan modifikasi dari media untuk produksi lipase dari *Rhizopus oryzae* (Salleh *et al.*, 1993) yaitu pepton 10,0 g, ekstrak khamir 1 g, NaNO₃ 1,0 g, minyak zaitun 2 %, KH₂PO₄ 1,0 g, MgSO₄·7H₂O 0,5 g untuk 1 L media dengan pH awal media adalah 6,0, yang padanya ditambahkan minyak zaitun 2 %.

Penentuan aktivitas hidrolitik isolat jamur secara kuantitatif dilakukan dengan memperhatikan kondisi lingkungan ujinya, yaitu pH dan suhu, agar dapat diketahui aktivitas hidrolitik optimum masing-masing isolat. Tingkat keasaman dengan selang dari 4 hingga 10 digunakan untuk mengetahui pH uji lipase masing-masing isolat yang memberikan aktivitas hidrolitik tertinggi.

Kondisi pH yang memberikan aktivitas hidrolitik lipase optimum dari masing-masing isolat tersebut kemudian dikombinasikan dengan suhu uji dengan selang dari 20-60 °C (20, 30, 40, 50 dan 60 °C). Aktivitas hidrolitik lipase diuji dengan menggunakan substrat alami (minyak zaitun) sesuai dengan metode yang disarankan oleh Marseno *et al.* (1998). Uji aktivitas hidrolitik lipase dilakukan dalam campuran reaksi 1,0 mL buffer (buffer natrium asetat 0,1 M untuk pH 4 dan 5; buffer natrium fosfat 0,1 M untuk pH 6, dan 7; buffer tris-HCl 0,1 M untuk pH 8, 9, dan 10), 1,0 mL larutan enzim, dan 4 mL substrat (60 % (v/v) minyak zaitun dalam isooktan), diemulsikan dengan vorteks sampai homogen. Konsentrasi buffer akhir pada fase polarnya adalah 0,1 M. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 30°C, selama 20 menit dengan goyangan 150 goyangan per menit. Reaksi dihentikan dengan menginkubasikannya pada es selama 5 menit. Untuk

uji ini dilakukan kontrol dengan cara mengganti larutan enzim dengan aquadest. Asam lemak yang dibebaskan dalam reaksi tersebut diukur dengan cara mengambil 3,0 mL fase non polar dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1,0 mL isooktan dan 800 µL 5 % (w/v) kupri-asetat piridin pH 6,0. Larutan 5 % (w/v) kupri-asetat piridin dibuat dengan cara melarutkan 5 gram kupri-asetat dalam 80 mL aquadest, kemudian ditambahkan piridin hingga pH 6,0, selanjutnya ditambah aquadest lagi hingga volume mencapai 100 mL. Setelah didiamkan 10 menit untuk mengembangkan warnanya kemudian absorbansinya diukur dengan spektrofotometer pada 707 nm. Kadar asam lemak yang terdapat pada sampel kemudian ditentukan melalui kurva standar yang dibuat dengan asam oleat sebagai asam lemak bebasnya. Satu unit (U) aktivitas hidrolitik lipase didefinisikan sebagai aktivitas enzim dalam menghasilkan 1 µmol produk (asam lemak yang dibebaskan) per menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Jamur Penghasil Lipase

Isolasi jamur penghasil lipase dari tempe, ragi tempe dan tanah menghasilkan 9 isolat potensial penghasil lipase (Tabel 1). Media isolasi yang digunakan adalah media seleksi PDA yang mengandung tributirin 1 % (Cardenas *et al.*, 2001). Isolat jamur potensial penghasil lipase dipilih berdasarkan adanya zona jernih disekitar koloni. Untuk isolat yang mempunyai penampakan koloni yang sama (diduga sebagai isolat yang sama) tetapi suhu inkubasinya berbeda, dipilih isolat yang memiliki perbandingan diameter zona jernih dan diameter koloni yang terbesar.

Isolat jamur yang diisolasi dari tempe (kode isolat TM2), menunjukkan pertumbuhan yang optimum pada suhu 40 °C, sedangkan 8 isolat lainnya tumbuh optimum pada suhu ruang. Zona jernih yang ditunjukkan oleh 9 isolat jamur tersebut dapat dideteksi dengan baik setelah dilakukan inkubasi dengan lama yang berbeda. Isolat jamur dari tanah menunjukkan lama inkubasi yang sangat bervariasi yaitu 3-10 hari.

Tabel 1. Incubation time and temperature as well as clear zone diameter of mold from tempeh, soil, and “ragi” tempeh

Isolate code	Source of isolate	Incubation time (days)	Incubation temperature	Diameter (cm)	
				Colony	Clear zone
TM2	Tempeh	3	40 °C	2.40	2.60
RG1	“Ragi” tempeh	3	Room temp.	1.10	1.40
RG2	“Ragi” tempeh	3	Room temp.	1.30	1.80
TH1	Soil	10	Room temp.	2.10	2.50
TH2	Soil	3	Room temp.	3.90	4.20
TH3	Soil	3	Room temp.	1.30	1.90
TH4	Soil	4	Room temp.	3.30	3.60
TH5	Soil	3	Room temp.	2.30	2.40
TH6	Soil	8	Room temp.	1.10	1.50

Note: Media used for this isolation was PDA + 100 ppm chloramphenicol + 1 % tributirin, pH 6,0

Aktivitas lipase ke-9 isolat jamur potensial penghasil lipase ditentukan dengan menguji aktivitas hidrolitik lipase pada filtrat hasil fermentasinya dalam media cair (*liquid state fermentation*). Media yang digunakan adalah media basal yang mengandung minyak zaitun 2 %. Isolasi diinkubasi pada suhu 30 °C selama 4 hari, dengan kecepatan goyangan 150 goyangan per menit. Aktivitas lipase dari kultur cair tersebut kemudian diuji aktivitas hidrolitiknya pada suhu 30 °C, tanpa menggunakan buffer uji (pH kultur cair saat panen ± 7,0).

Terdapat tiga isolat yang menunjukkan aktivitas hidrolitik yang sangat potensial (diatas 0,5 U/mL), yaitu isolat RG2, TH4, dan TH5. Tabel 2 menunjukkan hubungan antara diameter zona jernih dan aktivitas hidrolitik lipase dari filtrat yang diperoleh melalui *liquid state fermentation*. Dari data pada Tabel 2 tersebut terlihat bahwa isolat yang mempunyai perbandingan diameter zona jernih terhadap diameter koloni yang besar belum tentu menunjukkan aktivitas hidrolitik lipase secara kuantitatif yang besar pula.

Table 2. Correspondence between hydrolytic activity of lipase detected qualitatively on solid media and quantitatively in liquid media filtrate

Isolate Code	Lipase hydrolytic activity of filtrate from cultured liquid media (U/mL) ¹⁾	Ratio of clear zone diameter to colony diameter ²⁾
TM2	0.17	1.08
RG1	0.39	1.27
RG2	0.78	1.38
TH1	0.34	1.19
TH2	0.24	1.08
TH3	0.28	1.46
TH4	0.72	1.09
TH5	0.60	1.04
TH6	0.08	1.36

Notes: 1) Isolate was cultured in basal media for 4 days with shaken by 150 rpm. Activity test was conducted using olive oil as substrate at pH 7,0 and temperature of 30 °C for 20 min.; 2) Media used for this isolation is PDA + 100 ppm chloramphenicol + 1 % tributirin, pH 6.0 with incubation time as stated in Table 1.

Aktivitas enzim optimum dipengaruhi oleh kondisi uji / lingkungannya seperti pH dan suhu (Weete, 2002), oleh karena itu data pada Tabel 2 belum dapat digunakan untuk mengetahui isolat paling potensial dari ke-9 isolat yang diperoleh tersebut. Untuk menentukan isolat penghasil lipase paling potensial maka dilakukan seleksi isolat jamur penghasil lipase paling potensial diantara ke-9 isolat potensial terpilih.

Seleksi Isolat Jamur Penghasil Lipase Paling Potensial

Pada tahap ini dilakukan seleksi isolat jamur penghasil lipase yang paling potensial dari 9 isolat terpilih. Isolat yang memiliki aktivitas hidrolitik tertinggi dipilih sebagai isolat penghasil lipase paling potensial. Untuk mempelajari hal ini, maka sangat

penting mengetahui kondisi lingkungan yang dapat menghasilkan aktivitas optimum bagi suatu enzim yang diteliti. Hal ini penting agar aktivitas enzim dapat dengan mudah dan tepat dipelajari, disamping akan dapat mengetahui apakah suatu isolat kemungkinan menghasilkan beberapa isoenzim.

Pada penelitian ini terlebih dahulu dipelajari kondisi lingkungan, dalam hal ini pH dan suhu uji yang dapat menghasilkan aktivitas optimum untuk tiap-tiap isolat jamur yang telah diperoleh. Dengan menggunakan filtrat yang diperoleh dari isolat yang ditumbuhkan secara *liquid state fermentation* pada 100 mL media basal pada 30 °C selama 4 hari, aktivitas enzim masing-masing isolat diuji dengan pH buffer uji yang berbeda dari pH 4 hingga 10 (Gambar 1).

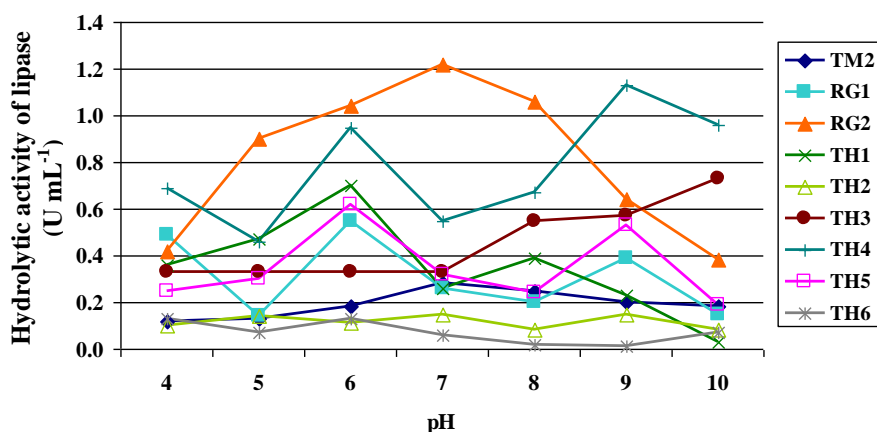


Figure 1. Lipase hydrolytic activity of potential mold producing lipase isolate at variety of pH buffer. Buffer acetate was for pH 4 and 5, buffer sodium phosphate for pH 6 and 7, and buffer Tris-HCl for pH 8, 9, and 10. Test was conducted at 30 °C for 20 min.

Dari data pada Gambar 1, diduga bahwa beberapa isolat menghasilkan isoenzim lipase yang ditunjukkan dengan terdeteksinya beberapa puncak aktivitas pada selang pH uji 4-10. Isolat RG1 diduga mempunyai tiga buah isoenzim lipase, sedangkan isolat TH2, TH4, TH5, dan TH6 masing-masing mempunyai dua buah isoenzim lipase. Kemungkinan ini masih perlu dibuktikan dengan menguji sifat dari lipase masing-masing isolat tersebut seperti titik isoelektrik atau berat molekulnya. Adanya jenis jamur yang menghasilkan isoenzim lipase dilaporkan oleh beberapa peneliti antara lain *Geotrichum* sp. (Asahara et al., 1993) yang menghasilkan dua buah

isoenzim lipase, *Humicola lanuginosa* (Morinaga et al., 1986), dan *Rizhopus niveus* (Kohn et al., 1994), begitu pula dengan khamir *Candida rugosa* (de la Casa et al., 2002). Isolat TH4 dan TH3 memperlihatkan aktivitas yang optimum masing-masing pada pH 9 dan 10 pada suhu 30 °C, kemungkinan ke-2 isolat ini termasuk golongan lipase alkali.

Setelah diperoleh data pH uji yang menunjukkan aktivitas optimum lipase dari masing-masing isolat, kemudian dipelajari suhu uji dengan kisaran 20-60 °C dengan kondisi uji pada pH optimum (hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2).

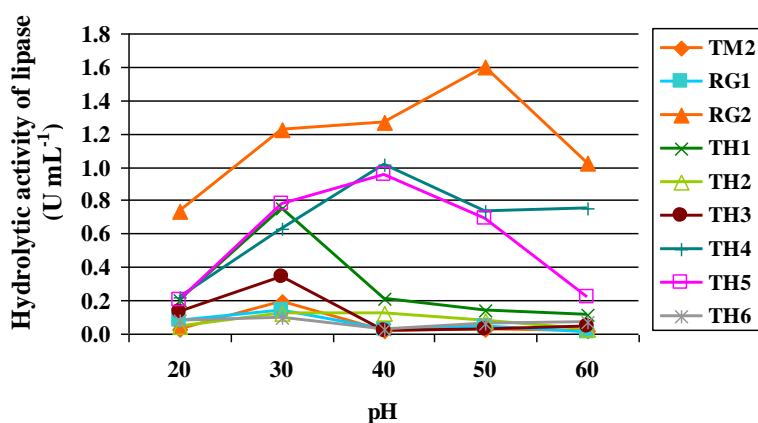


Figure 2. Lipase hydrolytic activity of potential mold producing lipase at variety of temperatures. Test was conducted for 20 menit, at pH 6,0 for RG1, TH1, TH4, TH5, TH6, at pH 7 for TM2, RG2, TH2, and at pH 10 for TH3.

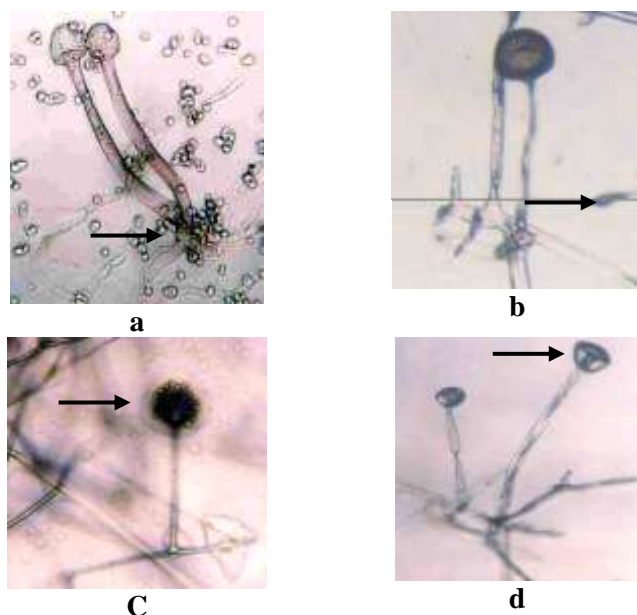


Figure 3. Morphology of RG2 isolate identified as *Rhizopus oligosporus*. a) rhyzoid, b) clamydospora, c) sporangium (complete), d) columella (free spora)

Dari data pada Gambar 2, isolat RG2 mempunyai aktivitas hidrolitik lipase yang tertinggi yaitu 1,60 U/mL dengan kondisi uji pada suhu 50 °C, pH 7,0. Dua isolat lain yang cukup potensial adalah isolat TH4 dan TH5 yang mempunyai aktivitas hidrolitik masing-masing ± 1 U/mL pada pH 6,0 dan suhu 40 °C. Lipase dari RG2 mempunyai aktivitas yang cukup stabil pada selang suhu 20-60 °C, sehingga dapat dikatakan bahwa lipase dari isolat ini termasuk lipase

termostabil. Morfologi isolat RG2 disajikan pada Gambar 3.

Kecuali lipase dari jamur termofilik *Humicola lanuginosa* sampai saat ini masih jarang dilaporkan tentang lipase termostabil dari jamur, walaupun beberapa jenis bakteri seperti *Bacillus* sp., *Bacillus coagulans*, *Bacillus Stearothermophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Geotrichum* sp., *Aeromionas sabria* (Sharma et al., 2001) telah dilaporkan menghasilkan lipase termostabil.

Berdasarkan hasil identifikasi yang dilakukan, ke-9 isolat jamur yang diperoleh termasuk kedalam 4 genus jamur yang berbeda antara lain *Aspergillus* (TM2, TH1, TH5, TH6), *Mucor* (TH2, TH3, TH4), *Penicillium* (RG1), dan *Rhizopus* (RG2). Isolat jamur penghasil lipase terpilih yang berasal dari tanah adalah *Aspergillus* dan *Mucor*, isolat jamur dari tempe adalah *Aspergillus*, sedangkan isolat dari ragi tempe adalah *Penicillium* dan *Rhizopus*. Hal ini sesuai dengan Sharma et al. (2001) yang menyebutkan bahwa jamur dari genus *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus* dan *Mucor* termasuk mikroorganisme penghasil lipase. Tempe adalah pangan produk fermentasi biji kedelai. Jenis kapang yang memegang peranan utama dalam fermentasi biji kedelai adalah *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, dan *Rhizopus stolonifer* (Sarwono, 2002). Dalam penelitian ini ditemukan jamur dari genus *Penicillium* dan *Aspergillus*, baik pada tempe maupun ragi tempe. Tidak jelas apakah kedua jenis jamur tersebut hanya sebagai kontaminan atau berperan dalam proses fermentasi biji kedelai. Dari hasil identifikasi, diketahui bahwa isolat RG2 tergolong kedalam spesies *Rhizopus oligosporus*. Laporan tentang lipase dari *Rhizopus oligosporus* masih sangat jarang, walaupun telah banyak dilaporkan jamur penghasil lipase untuk genus yang sama seperti *Rhizopus niveus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus nigricans*, *Rhizopus nodosus*, *Rhizopus microsporus*, *Rhizopus chinensis*, dan *Rhizopus japonicus* (Sharma et al., 2001).

KESIMPULAN

Jamur potensial penghasil lipase ekstraseluler dari sumber tempe, ragi tempe dan tanah berasal dari genus *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Mucor*, dengan isolat paling potensial adalah isolat RG2 yang diidentifikasi sebagai *Rhizopus oligosporus*. Lipase ekstraseluler isolat jamur RG2 mempunyai aktivitas hidrolitik tertinggi pada pH 7,0, suhu 50 °C

DAFTAR PUSTAKA

- Abigor RD, Uadia PO, Foglia TA, Hass MJ, Scott K, Savary BJ (2002) Partial purification and properties of lipase from germinating seeds of *Jatropha curcas* L. *JAOCs* 79(11): 1123-1126.
- Asahara T, Matori M, Ikemoto M, Ota Y (1993) Production of two types of lipases with opposite positional specificity by *Geotrichum* sp. FO401B. *Biosci Biotech Biochem* 57(3): 390-394.
- Baral A, Fox PF (1997) Isolation and characterization of an extracellular lipase from *Pseudomonas tolaasii*. *Food Chemistry* 38(1-2): 33-38.
- Cardenas F, de Castro MS, Sanchez-Montero JM, Sinistera JV, Valmaseda M, Elson SW, Alvarez E (2001) Novel microbial lipases: catalytic activity in reactions in organic media. *Enzyme and Microbial Technology* 28: 145-154.
- Dalmau E, Montesinos JL, Lotti M, Casas C (2000) Effect of different carbon sources on lipase production by *Candida rugosa*. *Enzyme and Microbial Technology* 26: 657-663.
- De la Casa RM, Guisan JM, Sanchez-Montero JM, Sinistera JV (2002) Modification of the activities of two different lipases from *Candida rugosa* with dextrans. *Enzyme and Microbial Technology* 30: 30-40.
- Gunstone FD (1996) Fatty acid and lipid chemistry. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Harrigan WF, McCance ME (1976) Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press, New York.
- Kohno M, Kugiyama W, Hashimoto Y, Morita Y (1994) Purification, characterization, and Crystallization of two types of lipase from *Rhizopus niveus*. *Biosci.Biotech.Biochem.* 58(6): 1007-1012.

- Lai OM, Ghazali HM, Cho F, Chong CL (2000) Enzymatic transesterification of palm stearin: anhydrous milk fat mixtures using 1,3-specific and non-specific lipases. *Food Chemistry* 70: 221-225.
- Lima VMG, Krieger N, Sarquis MIM, Mitchel DA, Ramos LP, Fontana JD (2003) Effect of nitrogen and carbon sources on lipase production by *Penicillium aurantiogriseum*. *Food Technol. Biotechnol.* 41(2): 105-110.
- Marseno DW, Indrati R, Ohta Y (1998). A simplified method for determination of free fatty acids for soluble and immobilized lipase assay. *Indonesian Food and Nutrition Progress* 5(2): 79-83.
- Mohamed MA, Mohamed TM, Mohamed SA, Fahmy AS (2000) Distribution of lipases in the *Gramineae*. Partial purification and characterization of esterase from *Avena fatua*. *Bioresource Technology* 73: 227-234.
- Morinaga T, Kanda S, Nomi R (1986) Lipase production of a new thermophilic fungus, *Humicola lanuginosa* var. *catenulata*. *J. Ferment. Technol.* 64(5): 451-453.
- Pitt JL, Hocking AD (1997) Fungi and food spoilage. Edisi ke-2. Blackie Academic & Professional, Cambridge.
- Rao R, Divakar S, Lokesh R (2002) Placket-Burman design for determining the preference of *Rhizomucor mihei* lipase for fatty acid in acidolysis reactions with coconut oil. *JAOCS* 79(6):555-560.
- Ruiz B, Farres A, Langley E, Masso F, Sanchez S (2001) Purification and characterization of an extracellular lipase from *Penicillium candidum*. *Lipids* 36(3):283-289.
- Shimada Y, Watanabe Y, Sugihara A, Baba T, Ooguri T, Moriyama S, Terai T, Tominaga Y (2001) Ethyl esterification of docosahexaenoic acid in an organic solvent-free system with immobilized *Candida antarctica* lipase. *Journal of bioscience and bioengineering.* 92(1):19-23.
- Salleh AB, Musani R, Basri M, Ampon K, Yunus WMZ, Razak CNA (1993) Extra- and intracellular lipases from a thermophilic *Rhizopus oryzae* and factors affecting their production. *Can. J. Microbiol.* 39:978-981.
- Sarwono B (2002) Membuat tempe dan oncom. Edisi ke-21. PT Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC (2001) Production, purification, characterization, and application of lipases. *Biotechnology Advances* 19: 627-662.
- Speck ML (ed) (1984) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Edisi ke-2. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Thirstrup K, Carriere F, Hjorth S, Rasmussen PB, Woldike H, Nielsen PF, Thim L (1993) One-step purification and characterization of human pancreatic lipase expressed in insect cells. *FEBS* 327 (1): 79-84.
- Torres CF, Munir F, Blanco RM, Otero C, Hill Jr CG (2000) Catalytic transesterification of corn oil and tristearin using immobilized lipases from *Thermomyces lanuginosa*. *JAOCS* 79(8): 775-781.
- Weete JD (2002) Microbial lipases. *Dalam: Food Lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology.* Akoh C, Min DB (eds). Marcel Dekker, New York. Hal. 813-831.
- Xu X, Porsgaard T, Zhang H, Adler-Nissen J, Hoy CE (2002) Production of structured lipids in packed-bed reactor with *Thermomyces lanuginosa* lipase. *JAOCS*, 79(6): 561-565.
- Yesiloglu Y, Kilic I (2004) Lipase-catalyzed esterification of glycerol and oleic acid. *JAOCS* 81(3): 281-284.

PEDOMAN PENULISAN

Jurnal Teknologi Pertanian

Universitas Mulawarman

Pengiriman

Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Mulawarman menerima naskah berupa artikel hasil penelitian dan ulasan balik (*review*) yang belum pernah dipublikasikan pada majalah/jurnal lain. Penulis diminta mengirimkan tiga eksemplar naskah asli beserta *softcopy* dalam disket yang ditulis dengan program *Microsoft Word*. Naskah dan disket dikirimkan kepada:

Editor Jurnal Teknologi Pertanian

d. a. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian
Universitas Mulawarman
Jalan Pasir Belengkong
Samarinda 75123

Format

Umum. Naskah diketik dua spasi pada kertas A4 dengan tepi atas dan kiri 3 centimeter, kanan dan bawah 2 centimeter menggunakan huruf *Times New Roman 12 point*, maksimum 12 halaman. Setiap halaman diberi nomor secara berurutan. Ulasan balik ditulis sebagai naskah sinambung tanpa subjudul Bahan dan Metode, Hasil dan Pembahasan. Selanjutnya susunan naskah dibuat sebagai berikut :

Judul. Pada halaman judul tuliskan judul, nama setiap penulis, nama dan alamat institusi masing-masing penulis, dan catatan kaki yang berisi nama, alamat, nomor telepon dan faks serta alamat E-mail jika ada dari *corresponding author*. Jika naskah ditulis dalam bahasa Indonesia tuliskan judul dalam bahasa Indonesia diikuti judul dalam bahasa Inggris.

Abstrak. Abstrak ditulis dalam bahasa Inggris dengan judul "ABSTRACT" maksimum 250 kata. Kata kunci dengan judul "Key word" ditulis dalam bahasa Inggris di bawah abstrak.

Pendahuluan. Berisi latar belakang dan tujuan.

Bahan dan Metode. Berisi informasi teknis sehingga percobaan dapat diulangi dengan teknik yang dikemukakan. Metode diuraikan secara lengkap jika metode yang digunakan adalah metode baru.

Hasil. Berisi hanya hasil-hasil penelitian baik yang disajikan dalam bentuk tubuh tulisan, tabel, maupun gambar. Foto dicetak hitam-putih pada kertas licin berukuran setengah kartu pos.

Pembahasan. Berisi interpretasi dari hasil penelitian yang diperoleh dan dikaitkan dengan hasil-hasil penelitian yang pernah dilaporkan (publikasi).

Ucapan Terima Kasih. Digunakan untuk menyebutkan sumber dana penelitian dan untuk memberikan penghargaan kepada beberapa institusi atau orang yang membantu dalam pelaksanaan penelitian dan atau penulisan laporan.

Daftar Pustaka. Daftar Pustaka ditulis memakai sistem nama tahun dan disusun secara abjad. Beberapa contoh penulisan sumber acuan:

Jurnal

Wang SS, Chiang WC, Zhao BL, Zheng X, Kim IH (1991) Experimental analysis and computer simulation of starch-water interaction. *J Food Sci* 56: 121-129.

Buku

Charley H, Weaver C (1998) *Food a Scientific Approach*. Prentice-Hall Inc USA

Bab dalam Buku

Gordon J, Davis E (1998) Water migration and food storage stability. Dalam: *Food Storage Stability*. Taub I, Singh R. (eds.), CRC Press LLC.

Abstrak

Rusmana I, Hadioetomo RS (1991) *Bacillus thuringiensis* Berl. dari peternakan ulat sutera dan toksisitasnya. Abstrak Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor 2-3 Des 1991 hA-26.

Prosiding

Prabowo S, Zuheid N, Haryadi (2002) Aroma nasi: Perubahan setelah disimpan dalam wadah dengan suhu terkendali. Dalam: *Prosiding Seminar Nasional PATPI*. Malang 30-31 Juli 2002 hA48.

Skripsi/Tesis/Disertasi

Meliana B (1985) Pengaruh rasio udang dan tapioka terhadap sifat-sifat kerupuk udang. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian UGM Yogyakarta.

Informasi dari Internet

Hansen L (1999) Non-target effects of Bt corn pollen on the Monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae). <http://www.ent.iastate.edu/entsoc/ncb99/pr og/abs/D81.html> [21 Agu 1999].

Bagi yang naskahnya dimuat, penulis dikenakan biaya Rp 75.000,00 (tujuh puluh lima ribu rupiah).

Hal lain yang belum termasuk dalam petunjuk penulisan ini dapat ditanyakan langsung kepada REDAKSI JTP