

## RINGKASAN

## SKRINING BAKTERI PENGHASIL LIPASE TERMOSTABIL DARI REAKTOR PADA PABRIK MINYAK GORENG

Sri Sumarsih

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Airlangga Surabaya  
Kampus C Unair Jl. Mulyorejo Surabaya 60115

Lipase merupakan salah satu biokatalisator yang penting dalam sintesis organik dan berbagai industri, yang mengkatalis berbagai reaksi penting baik dalam media air maupun bukan air. Hal ini terutama disebabkan karena kemampuannya dalam mengkatalis reaksi dengan berbagai substrat, stabilitasnya tinggi terhadap temperatur yang ekstrim, pH dan pelarut organik, dan juga kemo-, regio- dan enantio-selektivitasnya. Di antara lipase dari sumber tanaman, hewan dan mikroba, lipase dari sumber mikroba merupakan enzim yang paling banyak digunakan. Hal ini disebabkan karena mikroba lebih mudah dikultivasi dan lipase dapat mengkatalis berbagai reaksi hidrolisis dan sintesis senyawa ester. Lipase digunakan dalam berbagai bidang bioteknologi, misalnya industri makanan dan minuman, detergen, obat-obatan, agrokimia, tekstil, kosmetik dan oleokimia. Mikroorganisme merupakan sumber enzim termostabil yang baik karena biodiversitasnya luas dan memungkinkan untuk manipulasi genetik. Dengan semakin luasnya aplikasi lipase maka diperlukan pencarian mikroorganisme baru yang berpotensi sebagai sumber lipase dengan sifat-sifat yang diinginkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri termofil dan bakteri penghasil lipase termostabil dari lokasi di sekitar reaktor pada pabrik minyak goreng.

Sampel diambil dari lokasi di sekitar reaktor bersuhu sekitar 65<sup>0</sup>C pada salah satu pabrik minyak goreng. Pembiakan dan isolasi bakteri termofil dilakukan dengan menginkubasi sampel di dalam medium cair yang mengandung minyak goreng pada suhu 55<sup>0</sup>C dan dilakukan pemindahan kultur secara berturut-turut. Selanjutnya suspensi yang diperoleh diinokulasikan pada medium agar pada cawan petri dan diinkubasi pada suhu 55<sup>0</sup>C selama 18 jam. Penapisan bakteri termofil penghasil lipase dilakukan dengan menginokulasikan kultur bakteri termofil sebagai spot kecil pada medium agar yang mengandung minyak goreng dan rhodamin-B (*rhodamine-B agar plate*) dan diinkubasi pada suhu 55<sup>0</sup>C selama 48 jam. Munculnya halo *orange fluorescent* merupakan indikasi terhadap bakteri penghasil lipase. Kultivasi bakteri dilakukan dengan pengocokan 175 rpm pada suhu 55<sup>0</sup>C selama 9 jam dan 16 jam. Medium kultur disentrifugasi pada 7.000 rpm suhu 4<sup>0</sup>C

selama 20 menit. Supernatan adalah enzim ekstraseluler, kemudian ditentukan aktivitasnya terhadap substrat *p*-nitrofenil palmitat. Sebanyak 300 µl ekstrak kasar enzim (supernatan) dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf 1,5 ml yang berisi 700 µl larutan *p*-NPP 0,503 mM dalam buffer fosfat pH 7,0. Campuran diinkubasi pada 60<sup>0</sup> C selama 30 menit. *p*-Nitrofenol yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda = 410$  nm. Satu unit (U) aktivitas enzim lipase didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang menghasilkan 1 µmol produk per jam. Analisis data dilakukan secara statistik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari lokasi di sekitar reaktor yang bersuhu sekitar 65<sup>0</sup>C, dapat diisolasi bakteri termofil yang mampu tumbuh pada suhu 55<sup>0</sup>C. Dari > 100 isolat bakteri termofil yang diperoleh, dapat diperoleh 14 isolat bakteri termofil penghasil lipase. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa waktu kultivasi dan isolat bakteri berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan. Pada hampir semua isolat bakteri, kultivasi selama 16 jam menghasilkan enzim dengan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultivasi selama 9 jam. Enzim yang dihasilkan oleh isolat 4, 11 dan 12 memperlihatkan aktivitas yang lebih tinggi, berturut-turut 0,3181 (U/ml), 0,3161 (U/ml) dan 0,3186 (U/ml). Pada penelitian ini, uji aktivitas enzim dilakukan pada suhu 60<sup>0</sup>C, sehingga dapat dikatakan bahwa enzim yang dihasilkan oleh isolat-isolat bakteri mempunyai aktivitas pada suhu yang relatif tinggi. Namun, belum diuji stabilitasnya pada suhu tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang optimasi waktu kultivasi dan uji stabilitas sehingga dapat diketahui isolat bakteri yang menghasilkan enzim dengan aktivitas dan termostabilitas yang paling tinggi.

---

Dibiayai oleh : DIPA PNBP Universitas Airlangga  
Nomor S.K. Rektor : 4683/ J03/ PP/ 2005  
Tanggal : 4 Juli 2005

## SUMMARY

**SCREENING OF BACTERIA THAT PRODUCE THERMOSTABLE LIPASE  
FROM AROUND THE REACTOR OF PALM OIL INDUSTRY**

Sri Sumarsih

Department of Chemistry, Faculty of Mathematic and Natural Sciences Airlangga University  
Kampus C Unair Jl. Mulyorejo Surabaya 60115

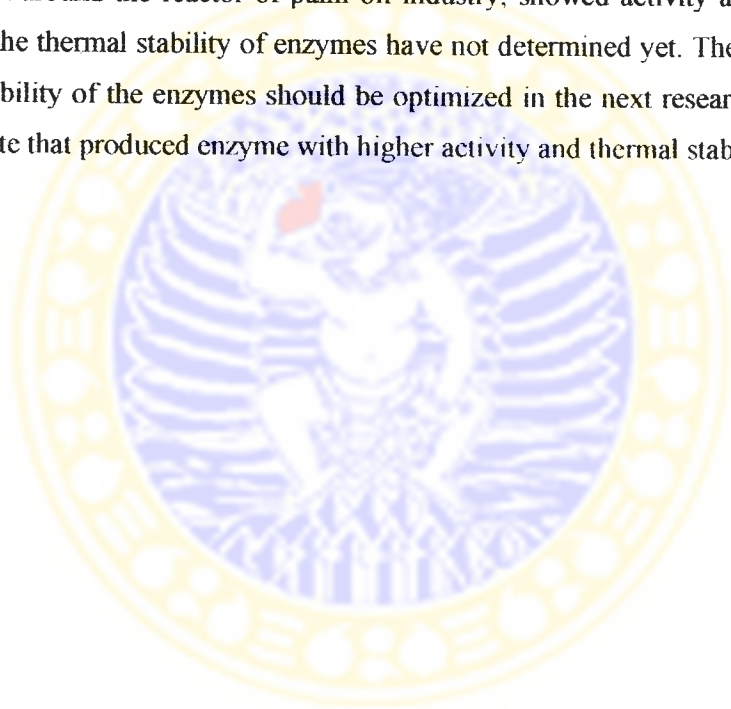
Lipase is one of important biocatalyst in organic synthesis and industries, which catalyze many important reactions, in both aqueous and non-aqueous media. This is primary due to their ability to utilize a wide spectrum of substrates, high stability towards extremes of temperature, pH and organic solvents, and chemo-, region- and enantio-selectivity. Among lipases of plant, animal and microbial origin, it is the microbial lipases that find immense application. This is because microbes can be easily cultivated and their lipases can catalyze a wide variety of hydrolytic and synthetic reactions. Lipases find use in a variety of biotechnological fields such as food and dairy, detergent, pharmaceutical, agrochemical, textile, cosmetic and oleochemical industries. Microorganisms represent an excellent source of thermostable enzymes owing to their broad biochemical diversity and susceptibility of genetic manipulation. So owing to their vast and varied applications, newer microbes are to be screened for production of lipases with desirable properties.

This research aims to isolate the thermophilic bacteria and lipolytic bacteria from the location around the reactor of palm oil industry.

The sample was collected from around the reactor 65<sup>0</sup>C of a palm oil refining industry. Cultivation and isolation of thermophilic bacteria was performed by incubation of the sample in the medium contained of fried oil. Then, the suspension was inoculated on to agar plate and incubated at temperature of 55<sup>0</sup> C for 18 hours. The screening of lipolytic bacteria was treated by inoculation the culture as small spot on to agar plate contained of fried oil and rhodamine-B (*rhodamine-B agar plate*) and incubated at temperature of 55<sup>0</sup> C for 48 hours. Appearing of halo orange fluorescent indicated that the bacteria were lipase producers. Cultivation of bacteria were performed with shaking 175 rpm at temperature of 55<sup>0</sup>C for 9 hours and 16 hours. The culture media were centrifuged at 7.000 rpm and temperature of 4<sup>0</sup>C for 20 minutes. The supernatant was extracellular enzyme, then the activities treated toward *p*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP) as a substrate. 300 µl of the crude extract (supernatan) was added to 700 µl solution of 0,503 mM *p*-NPP in phosphate buffer pH 7.0. This mixture was incubated at 60<sup>0</sup> C for 30 minutes. The production of *p*-nitrophenol

was measured using spectrophotometer UV-Vis at  $\lambda = 410$  nm. One unit (U) of lipase activity was defined as the amount of enzyme that produced  $\mu\text{mol}$  of product per hour.

The result of this research showed that from location around the reactor  $65^{\circ}\text{C}$  of palm oil industry, could be isolated thermophilic bacteria that grew at temperature of  $55^{\circ}\text{C}$ . Among more than 100 isolates, there were 14 isolates thermophilic bacteria were lipase producers. The statistic analyzed showed that the incubation time and isolate bacteria affected enzyme production. Allmost of bacteria isolated in this research, showed that 16 hours cultivation produced enzyme with higher activity than 9 hours cultivation. The enzymes produced by isolate 4, 11 and 12 showed higher activity, the activities were 0,3181 U/ml; 0,3161 U/ml and 0,3186 U/ml, respectively. In this research, the activity assay were performed at temperature of  $60^{\circ}\text{C}$ , so can be concluded that enzymes produced by bacteria isolated from the location around the reactor of palm oil industry, showed activity at higher temperature. However, the thermal stability of enzymes have not determined yet. The cultivation time and thermal stability of the enzymes should be optimized in the next research, for determination of the isolate that produced enzyme with higher activity and thermal stability.



---

Founded by : DIPA PNBP Airlangga University  
Nomor of Contract : 4683/ J03/ PP/ 2005  
Date : Juli 4<sup>th</sup>, 2005