

OPTIMASI KONDISI PURIFIKASI PARSIAL LIPASE *Aspergillus niger* 6516 SOLID STATE FERMENTATION (SSF) PADA MEDIUM BUNGKIL JARAK SEBAGAI SUMBER BELAJAR PENGANTAR MIKROBIOLOGI

MAULINA NURIKASARI

Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Metro
E-mail: molly_gommez@yahoo.co.id

Abstract: *Extracellular lipase is an enzyme that catalyzes the hydrolysis reaction of triglycerides into free fatty acids and glycerol and synthesis reaction of esters. Lipase can be produced by microbes include bacteria, fungi and yeasts. Lipase by Aspergillus niger 6516 produced in the medium of Jatropha cake using solid-state fermentation has a different character of the lipase produced by other microorganisms. The aims of this research were to determine the optimum condition partially purified lipase by Aspergillus niger 6516. The methods of this research were conducted in 2 steps: (1) production of lipase, (2) partial purification using ion exchange chromatography, (3) SDS-PAGE. The results of this research showed that partial purification lipase by Aspergillus niger 6516 using anion exchange chromatography esterification activity of 45.58 U/ml with specific activity of 421.97 U/mg adsorbed at pH 8 and 0.5 M NaCl elution. Partially purified lipase by Aspergillus niger 6516 was 86.11% yield and purification factor 12,12 and a molecular mass of Lipase by Aspergillus niger at 19 kDa estimated by SDS-PAGE. Found of this research can be explained for the development study of microbiology concept and practical contribution about procedure research simple design. Students understand about technique and condition of partial purification.*

Kata kunci: Lipase, *Aspergillus niger*, Solid-State Fermentation, Purifikasi, SDS-PAGE

Penggunaan enzim dalam bioteknologi modern semakin berkembang secara cepat. Banyak industri-industri yang telah memanfaatkan kerja enzim, meliputi industri pangan dan non pangan. Salah satu jenis enzim yang mempunyai peran penting dalam bidang bioteknologi adalah lipase. Enzim ini memiliki sifat khusus dapat memecahkan ikatan ester antara asam lemak dan gliserol. Selain itu, lipase mempunyai kemampuan mengkatalis reaksi organik baik dalam media air maupun dalam media non air (Sumarsih, 2002).

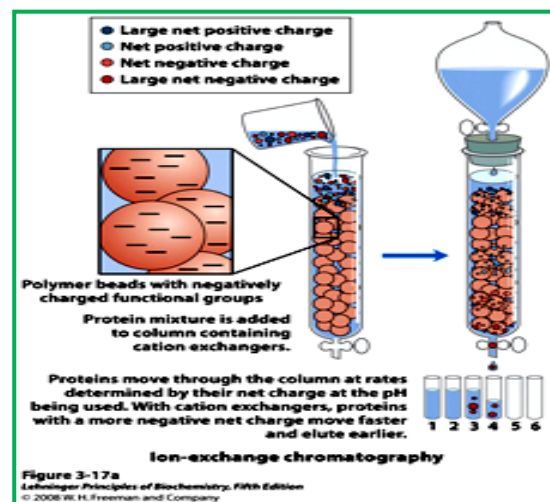
Sampai saat ini pemenuhan kebutuhan lipase di Indonesia belum bisa terpenuhi dan harus impor dari produsen luar negeri dengan harga sekitar Rp. 25.000.000/kg (Kao Corporation). Karena

harga enzim yang cukup tinggi inilah maka perlu dilakukan penelitian tentang produksi lipase dengan biaya murah (*low-cost*), dengan mengembangkan medium produksi yang murah dan efisien, serta menggunakan sumber mikrobia *indigenous* yang potensial menghasilkan lipase.

Lipase (EC 3.1.1.3: triasil gliserol hidrolase) merupakan enzim yang sangat fleksibel, karena lipase tidak hanya dapat mengkatalis reaksi hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol tetapi juga dapat mengkatalis reaksi transesterifikasi maupun esterifikasi (Winarno, 1989). Beberapa reaksi yang dikatalis oleh enzim lipase diantaranya adalah reaksi hidrolisis, alkoholisis, esterifikasi dan interesterifikasi (Dosanjh

dan Kaur, 2002). Sumber lipase berasal dari tanaman, hewan dan mikrobia. Lipase kapang, khususnya *Aspergillus niger* paling banyak digunakan karena untuk produksinya memerlukan waktu yang singkat dan aktivitasnya dapat ditingkatkan dengan kondisi pertumbuhan yang tepat serta tidak memerlukan lahan produksi yang luas. Purifikasi lipase merupakan bagian terpenting dalam rangka karakterisasi enzim. Tujuan dari purifikasi yaitu: 1) memisahkan enzim dari protein lainnya sehingga dapat dianalisa karakternya, 2) mengisolasi enzim dengan max possible yield yang berbanding lurus dengan aktivitas total ekstrak asli. (Palmer, 1991). Beberapa karakter protein kapang yang dijadikan sebagai dasar untuk purifikasi dengan kromatografi meliputi: muatan, hidrofobisitas, afinitas biologisnya terhadap molekul lain, stabilitasnya terhadap lingkungan dan berat molekulnya (Farabee, 2001).

Metode purifikasi yang digunakan yaitu kromatografi *Ion Exchange* menggunakan matrix penukar anion *Amberlite IRA-400*. Teknik pemurnian enzim dengan kromatografi pertukaran ion ditunjukkan dalam Gambar 1. Purifikasi menggunakan kromatografi Ion exchange memiliki beberapa kelebihan antara lain kecepatan pemisahan/pendeteksian, bisa dilakukan pemisahan menggunakan kolom kation atau anion yang sesuai dengan sample, kolom pemisah bisa bertahan pada perubahan yang terjadi pada sampel, tidak akan mempengaruhi kestabilan material penyusun kolom Nelson dan Cox (2008). Purifikasi menggunakan kromatografi Ion Exchange dapat memisahkan molekul protein lipase dari molekul lainnya. Hasil penelitian ini nantinya dapat digunakan sebagai acuan dalam karakterisasi enzim untuk menentukan standart prosedur dalam pemanfaatan enzim lipase untuk kepentingan aplikasi.



Gambar 1. Pemurnian enzim dengan kromatografi pertukaran ion. (Nelson dan Cox, 2008)

Sumber belajar dapat dirumuskan sebagai segala sesuatu yang dapat memberikan kemudahan kepada peserta didik dalam memperoleh sejumlah informasi, pengetahuan, pengalaman, dan keterampilan dalam proses belajar mengajar (Enco Mulyasa, 2005: 177). Salah satu alternatif sumber belajar yang dapat dipakai untuk memperkaya informasi adalah hasil penelitian.

METODE

1. Produksi Crude Lipase

Ekstraseluler Menggunakan SSF

a. Fermentasi Solid State

(Darmasiwi, 2010)

Fermentasi SSF berdasarkan Darmasiwi (2010) yang telah di modifikasi, 50 g bungkil jarak yang telah di-defatting dalam erlenmeyer 1000 mL ditambahkan dengan *olive oil* 2% (v/w), NaNO_3 1% (v/w) dan air 50%. Medium diaduk kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 60 menit. Medium diinokulasi dengan 10 mL suspensi spora fungi (10^7 spora/mL), lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Aktivitas lipase dianalisis aktivitas esterifikasinya.

b. Ekstraksi Crude Lipase

(Darmasiwi, 2010)

Sampel dari hasil fermentasi ditambah dengan 0,1 M buffer asetat pH 6,0 dan fosfat pH 7,0; 8,0; 9,0 (3 mL/g medium). Campuran diaduk menggunakan *waterbath shaker* 100 rpm selama 20 menit pada suhu ruang. Campuran kemudian disaring. Filtrat/supernatan disentrifuge (3000 rpm) suhu 4°C, selama 20 menit untuk memisahkan padatan. Supernatan yang diperoleh merupakan *crude enzyme* disimpan pada suhu -16°C sampai dilakukan analisis aktivitas esterifikasi dan protein terlarut.

2. Purifikasi Lipase Menggunakan Kromatografi Ion Exchange

Purifikasi lipase dilakukan menggunakan metode Kromatografi *Ion Exchange*, berdasarkan Scopes (1997) yang dimodifikasi. Sebanyak 2 g resin (*Anion Exchanger Amberlite IR 400 Cl*) dicuci dengan 0,1M buffer asetat pH 6,0 dan fosfat pH 7,0; 8,0; 9,0 (sebanyak 3x). Resin di equilibrasi dengan 0,1M buffer asetat pH 6,0 dan fosfat pH 7,0; 8,0; 9,0. Sampel (1 ml) dimasukkan dalam kolom dan dilanjutkan dengan pencucian menggunakan buffer asetat pH 6,0 dan fosfat pH 7,0; 8,0; 9,0. Sampel ditampung dalam ependorf. Elusi dilakukan dengan 0,1 M; 0,5 M; 1 M NaCl dalam 0,1 M buffer asetat pH 6,0 dan fosfat pH 7,0; 8,0; 9,0 sebanyak 5 ml ke dalam kolom. Eluen ditampung dalam tabung ependorf. Eluent yang telah tertampung kemudian di uji protein terlarutnya dan aktivitas esterifikasinya.

3. Berat Molekul Lipase

Berat molekul enzim ditentukan berdasarkan kurva standar Rf (rasio

jarak migrasi protein standar dibagi jarak migrasi penanda) dengan log berat molekul protein standar. Protein standar yang digunakan adalah *Wide Range Sigma Marker* (Sigma-Aldrich) dengan berat molekul 18-200 kDa yang terdiri atas *Myosin* (200 kDa), *β -Galactosidase* (116 kDa), *Phosphorylase b* (97 kDa), *Bovine Serum Albumin* (66 kDa), *Glutamic Dehydrogenase* (55 kDa), *Ovalbumin* (45 kDa), *Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase* (36 kDa) dan *Tripsin Inhibitor* (18 kDa).

4. Metode Analisis Kimia

a. Reaksi Esterifikasi

(Darmasiwi, 2010)

Sebanyak 200 μ l enzim (pH 6,0; 7,0; 8,0 dan 9,0) ditambahkan pada 4 mL larutan yang mengandung 0,5 M asam oleat dan 0,5 M metanol dalam isooktan. Perbandingan antara asam oleat dan metanol adalah 1:1 mmol. Selanjutnya enzim diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 40 °C selama 30 menit dengan kecepatan 120 stroke/menit. Reaksi dihentikan dengan meletakkan erlenmeyer pada *icebath* selama 5 menit. Analisis dilanjutkan dengan mengambil 200 μ l lapisan atas, ditambahkan ke dalam campuran 600 μ l isooktan, kemudian mengambil 200 μ l lapisan atas, ditambahkan ke dalam campuran 1800 μ l isooktan dan 400 μ l Cu-asetat piridin (CAP) pH 6,0. Larutan dicampur menggunakan vortex selama 5 detik dan didiamkan selama 10 menit. Larutan ditera absorbansinya pada 715 nm. Unit aktivitas esterifikasi didefinisikan sebagai μ mol pengurangan jumlah substrat asam lemak (asam oleat) dari reaksi esterifikasi per menit.

b. Kadar Protein Terlarut Lowry

(Cooper, 1977)

Dilakukan dengan metode Lowry menggunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai standar.

HASIL

Fermentasi

Produksi lipase dilakukan dengan kondisi optimal pertumbuhan *Aspergillus niger* 6516 yang merupakan hasil optimasi yang telah dilakukan peneliti lain. Lipase *Aspergillus niger* 6516 diproduksi melalui proses *solid-state fermentation* dengan komposisi medium setiap 3 gramnya sebagai berikut: tepung biji jarak 5 gram, kadar air 50% (4,713 ml), sumber karbonnya adalah olive oil (Sigma Aldrich) 2% (0,1 ml), sumber nitrogennya adalah NaNO_3 1% (0,05 ml) dan di inkubasi selama 7 hari. Aktivitas *crude* lipase dan kadar protein terlarut pada pH ekstraksi (6, 7, 8 dan 9) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Fermentasi *crude* lipase *Aspergillus niger* 6516 yang di ekstrak pada berbagai pH (6, 7, 8 dan 9)

	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
Aktivitas Lipase (U/g medium)	553,27	560,19	578,65	575,77
Protein terlarut (mg/ml)	5,54	5,51	5,58	5,56

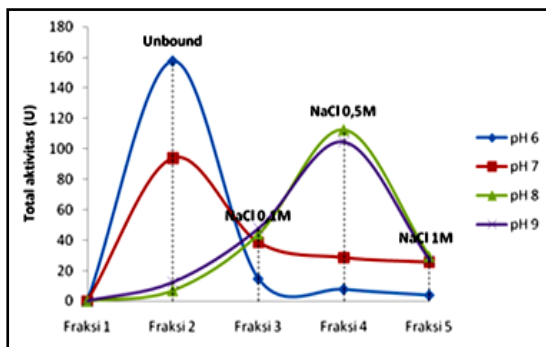
Dari data pada Tabel 1. hasil fermentasi *crude* lipase *Aspergillus niger* 6516 menunjukkan aktivitas lipase tertinggi pada ekstraksi menggunakan buffer fosfat pH 8 sebesar 578,65 U/g medium, dengan protein terlarutnya sebesar 5,58 mg/ml. Aktivitas esterifikasi yang diperoleh lebih tinggi 1,83 kali dibandingkan dengan aktivitas lipase yang

dihasilkan oleh Darmasiwi (2010) sebesar 316,25 U/g medium. Aktivitas lipase yang lebih tinggi dipengaruhi oleh banyaknya volume ekstraksi. Ekstraksi lipase dengan buffer pada penelitian lebih rendah 1,67 kali dibanding Darmasiwi (2010). Hariyadi (1996) mengatakan konsentrasi yang lebih pekat pada substrat akan mendukung terjadinya reaksi esterifikasi dan menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi. *Crude* lipase selanjutnya dipurifikasi menggunakan kromatografi penukar ion.

Purifikasi Lipase Menggunakan *Ion Exchange Chromatography*

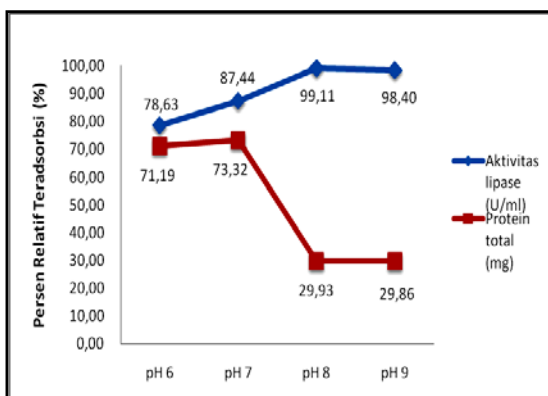
Purifikasi lipase *Aspergillus niger* 6516 dalam penelitian ini menggunakan kromatografi *anion exchange* (basa). Matrik *anion exchange* bermuatan positif. Proses equilibrasi dengan pH adsorpsi akan menyebabkan matrik bermuatan positif mengikat ion bermuatan negatif. Lipase (bermuatan negatif) akan terikat pada matrik dan protein pengotor bermuatan positif akan lolos (unbound). Lipase yang terikat akan terelusi dengan adanya penambahan NaCl.

Frakasi 2 merupakan fraksi unbound (tidak terikat resin), fraksi 3 merupakan fraksi hasil elusi dengan konsentrasi NaCl 0,1M, fraksi 4 merupakan fraksi hasil elusi dengan konsentrasi NaCl 0,5M dan fraksi 5 merupakan fraksi hasil elusi dengan konsentrasi NaCl 1M (Gambar 2). Fraksi 2 pada pH 6 dan 7 memiliki total aktivitas 22 kali lebih tinggi dibandingkan pada pH 8 dan 9. Fraksi 4 pada pH 8 dan 9 memiliki total aktivitas 2,56 kali lebih tinggi dibandingkan fraksi 3 dan 5. Berdasarkan data tersebut dapat diambil kesimpulan lipase *Aspergillus niger* 6516 bermuatan negatif karena lolos pada pH adsorpsi 6 dan 7, tetapi terikat pada pH adsorpsi 8 dan 9.



Gambar 2. Total aktivitas fraksi yang didapat dari hasil kromatografi anion exchange.

Seleksi pH buffer adsorpsi dan elusi dilakukan untuk memilih pH buffer yang mempunyai kemampuan adsorpsi dan elusi tinggi sehingga dapat menghasilkan lipase dengan kemurnian yang tinggi. Buffer yang digunakan untuk adsorpsi adalah buffer fosfat pH 6, 7, 8, 9. Elusi dilakukan tiga tahap menggunakan NaCl dengan konsentrasi 0,1 M (elusi I), 0,5 M (elusi II) dan 1 M (elusi III) dalam buffer fosfat pH 6, 7, 8 dan 9. Pengaruh pH adsorpsi terhadap aktivitas lipase dan protein total dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh pH adsorpsi terhadap aktivitas dan total protein lipase *Aspergillus niger* 6516.

Gambar 3. menunjukkan pH 6, 7, 8 dan 9 dapat mengadsorpsi lipase dan total protein masing-masing sebesar (70,62%, 71,19%; 87,44%, 73,32%; 99,11%, 29,93%; 98,40%, 29,86%). Dari data aktivitas lipase yang teradsorpsi terlihat bahwa pH 8 mampu mengikat lipase dari pada pH 6, 7. Dari data total protein yang teradsorpsi terlihat bahwa pH 8 mampu mengikat protein yang lebih spesifik dari pada pH 6, 7 dan 9. pH adsorpsi > dari pI enzim yang dimurnikan agar dapat mengikat protein yang lebih spesifik, maka dapat disimpulkan pI lipase dari *Aspergillus niger* 6516 adalah 7.

Hasil rekapitulasi dari Tabel 2. menunjukkan elusi II pada pH 8 memiliki aktivitas spesifik (286,97 U/mg) lebih besar 1,17 kali dibandingkan aktivitas spesifik elusi II pada pH 9 (246,32 U/mg), 12,34 kali dibandingkan elusi II pH 6 (23,26 U/mg) dan 12,46 kali dibandingkan elusi II pH 7 (23,03 U/mg). Elusi II pada pH 8 memiliki aktivitas spesifik lebih besar 3,02 kali dibandingkan elusi I pada pH 8 (94,75 U/mg) dan 4,16 kali dibandingkan dengan elusi III pada pH 8 (63,55 U/mg). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lipase yang teradsorpsi pada pH 8 lebih mudah dielusi menggunakan elusi II (0,5M NaCl) dibandingkan dengan elusi I (0,1M NaCl). Semakin tinggi konsentrasi elusi semakin kuat melepaskan lipase yang terikat (Pujiraharti, dkk., 1997). Dengan data yang didapat maka kondisi optimum purifikasi lipase untuk karakterisasinya adalah menggunakan pH 8 untuk pH adsorpsi dengan konsentrasi elusi 0,5M NaCl dalam 0,1M buffer fosfat. Hasil dari purifikasi lipase *Aspergillus niger* 6516 menggunakan kromatografi anion exchange dengan kondisi optimum yang sudah didapatkan terlihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Konsentrasi NaCl dalam masing-masing pH buffer untuk elusi pada proses purifikasi lipase menggunakan kromatografi *anion exchange*.

pH	Tahapan	Akt. Lar. Fermentasi (U/mL)	Total aktivitas (U)	Total Protein (mg)	Aktivitas spesifik (U/mg Protein)
pH 6	• Crude	184,42	184,42	5,45	33,81
	• Elusi I (0,1M)	3,65	14,62	1,18	12,37
	• Elusi II (0,5M)	1,92	7,69	1,18	6,50
	• Elusi (1M)	0,96	3,85	1,19	3,24
pH 7	• Crude	186,73	186,73	5,51	33,86
	• Elusi I (0,1M)	9,62	38,46	1,23	31,25
	• Elusi II (0,5M)	7,12	28,46	1,24	23,03
	• Elusi (1M)	6,35	25,38	1,24	20,47
pH 8	• Crude	192,88	192,88	5,58	34,56
	• Elusi I (0,1M)	10,96	43,85	0,46	94,75
	• Elusi II (0,5M)	28,08	112,31	0,39	286,97
	• Elusi (1M)	7,31	29,23	0,46	63,55
pH 9	• Crude	191,92	191,92	5,56	34,52
	• Elusi I (0,1M)	11,92	47,69	0,47	102,54
	• Elusi II (0,5M)	26,15	104,62	0,42	246,32
	• Elusi (1M)	6,73	26,92	0,47	57,59

Tabel 3. Hasil purifikasi parsial lipase *Aspergillus niger* 65I6 menggunakan kromatografi *anion exchange*

Fraksi	Aktivitas larutan fermentasi (U/mL)	Total aktivitas (U)	Total protein (mg)	Aktivitas spesifik (U/mg Protein)	Yield (%)	Purifikasi faktor
Crude	193,88	193,88	5,57	34,82	100	1
Lipase hasil purifikasi parsial	41,73	166,9	0,39	421,97	86,11	12,12

Tabel 3. menunjukkan bahwa hasil purifikasi parsial lipase *Aspergillus niger* 65I6 menggunakan kromatografi *anion exchange* meningkatkan kemurnian lipase menjadi 12,12 kali, dengan *Yield* sebesar 86,11%.

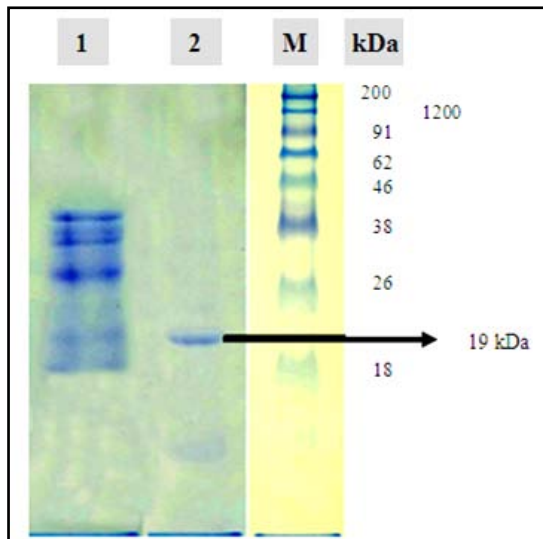
Yield hasil purifikasi parsial lipase *Aspergillus niger* 65I6 ketika dibandingkan dengan lipase yang dihasilkan dari berbagai genus *Aspergillus* memiliki hasil sebagai berikut: lebih besar 1,6 kali dibanding *yield* lipase dari

Aspergillus niger NCIM 1207; 2,53 kali dibanding *yield* lipase dari *Aspergillus niger* F044; 3,06 kali dibanding *yield* lipase dari *Aspergillus niger*; 7,83 kali dibandingkan *yield* lipase dari *Aspergillus oryzae*; 8,16 kali dibanding *yield* lipase dari *Aspergillus niger* (Toida, dkk.,Zheng-Yu, dkk., 2007; 1998; Mhetras dkk., 2008; Malle dkk., 2008).

Purifikasi faktor *Aspergillus niger* yang dilaporkan Torossian dan Bell (1991) lebih tinggi 3,3 kali dibandingkan

dengan *Aspergillus niger* hasil dari penelitian. Purifikasi faktor yang diperoleh pada penelitian lebih besar 1,1 kali dibandingkan purifikasi faktor dari *Aspergillus terreus* (11,01) (Yadav dkk., 1998).

Berat Molekul



Gambar 4. Profil protein *Aspergillus niger* 65I6. M: Marker protein (9-200 kDa), 1: Crude lipase *Aspergillus niger* 65I6., 2: Lipase *Aspergillus niger* 65I6 hasil purifikasi parsial menggunakan kromatografi anion exchange.

Penentuan berat molekul dari lipase *Aspergillus niger* 65I6 dilakukan dengan menggunakan cara analisis SDS-PAGE (15%). Analisis dilakukan terhadap *crude enzyme* maupun enzim murni. Berdasarkan hasil analisis terhadap *crude enzyme* diketahui ada 6 pita protein. Hasil ini membuktikan bahwa *crude enzyme* mengandung campuran protein yang ukurannya berbeda sehingga menghasilkan lebih dari 1 pita. Hasil analisis terhadap parsial lipase menunjukkan adanya 1 pita protein dengan berat molekul 19 kDa (Gambar 4).

Berat molekul lipase parsial *Aspergillus niger* 65I6 yang diperoleh

sama dengan *Aspergillus niger* yang diteliti oleh Hofelmann (1985) yang memiliki berat molekul sebesar 19 kDa. Lipase *Aspergillus niger* F044 dan *Aspergillus carneus* memiliki berat molekul lebih besar (35-40 dan 27 kDa) dibandingkan hasil penelitian (Zheng-Yu, dkk., 2007; Davidson, 1998). Berdasarkan Jaeger dan Reetz (1998) lipase memiliki berat molekul antara 19 – 60 kDa dan termasuk dalam protein monomer.

Implikasi Hasil Penelitian Pada Bidang Pendidikan

Konsep hasil penelitian optimasi kondisi purifikasi parsial lipase *Aspergillus niger* 65I6 SSF pada medium bungkil jarak dapat digunakan untuk acuan sebagai salah satu sumber belajar pada mata kuliah pengantar mikrobiologi bab enzim. Konsep dan data yang didapat dari penelitian dapat digunakan untuk memperkaya materi yang disampaikan kepada peserta didik sehingga dapat meningkatkan pemahaman peserta didik terhadap materi yang disampaikan karena memiliki alternatif sumber belajar yang beragam, tidak terbatas hanya informasi yang ada di buku pegangan yang digunakan.

Sesuai dengan pendapat Enco Mulyasa (2005:183-184) bahwa pendayagunaan sumber belajar sangat penting selain berguna untuk kepentingan akademik dan keterampilan umum dalam kehidupan sehari-hari, sumber belajar juga dapat meningkatkan aktivitas dan kreativitas belajar sehingga dapat mencapai hasil yang optimal melalui proses yang efektif dan efisien.

Semakin banyak jenis sumber belajar yang dimanfaatkan, makin lengkap dan makin sesuai dengan indikator pembelajaran maka pencapaian tujuan pembelajaran dan hasil belajar akan lebih baik (Arief Sadiman.1990:161).

Hasil penelitian ini juga memberikan sumbangan praktis tentang

teknik/proses purifikasi (pemurnian) enzim yang dihasilkan oleh *fungi* (*Aspergillus niger*) menggunakan fermentasi SSF (*Solid State Fermentation*) pada limbah bungkil jarak. Kajian tentang purifikasi sampai saat ini masih sangat kurang dilakukan oleh mahasiswa pendidikan biologi di Universitas Muhammadiyah Metro.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa purifikasi lipase *Aspergillus niger* 65I6 menggunakan kromatografi *Anion Exchange* menghasilkan aktivitas esterifikasi tertinggi 45,58 U/mL dengan aktivitas spesifik sebesar 421,97 U/mg pada pH 8 dan elusi NaCl 0,5 M. Purifikasi parsial lipase *Aspergillus niger* 65I6 menghasilkan yield sebesar 86,11 % dengan purifikasi faktor sebesar 12,12.

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai sumber belajar mikrobiologi dan dapat digunakan sebagai wacana untuk ide menyusun skripsi.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang karakterisasi aktivitas esterifikasi yang ditunjukkan oleh lipase *Aspergillus niger* 65I6 untuk mengetahui karakter enzim lipase bekerja pada kondisi optimum.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang mobilisasi lipase *Aspergillus niger* 65I6 hasil purifikasi parsial untuk meningkatkan stabilitas enzim yang berpengaruh pada lama penyimpanan dan kestabilan enzim saat bekerja.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang metode pembelajaran yang sesuai dan implementasi *lesson study* pada pembelajaran pengantar mikrobiologi menggunakan hasil penelitian purifikasi enzim.

DAFTAR RUJUKAN

- Arief Sukadi Sadiman. 1990. Beberapa Aspek Pengembangan Sumber Belajar. Jakarta: Mediyatama Sarana Perkasa
- Bannon, Cecil D., Craske, John D., and Norman, Lynette M. 1988. Limitation Ambient Temperature Methods for the Methanolysis of Triacylglycerols. *J. Am. Oil. Chem.*, Vol. 65 (2).
- Cooper. 1977. *The Tools of Biochemistry*. Wiley, New York.
- Darmasiwi, sari. 2010. Screening Isolat Lipolitik Indigenus dan Karakterisasi Lipase Yang Dihasilkan Pada *Solid-State Fermentation*. Program Studi Bioteknologi. Universitas Gajahmada, Yogyakarta.
- Dosanjh, N.S., dan Kaur, J. 2002. Immobilization, Stability and esterification Studies of A Lipase From *Bacillus sp.* *Journal Biotechnology and Applied Biochemistry*. Vol. 36. Hlm 7-12. Punjab University. Chandigarh.
- Enco Mulyasa. 2005. Kurikulum Berbasis Kompetensi: Konsep, Karakteristik, dan Implementasi. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.
- Farabee, M.J. 2001. *Enzyme: Organic catalyst*. W.H-Freeman & Co. USA.
- Jaeger, K.E. dan M.T. Reetz. 1998. Microbial lipases form versatile tools for Biotechnology. *Tibtech*. Vol. 16 :396-408.
- Malle Dominggus, Garingan Gina, Peralta Milagros, Revilleza MJ. 2008. Rapid Purification and Partial Characterization of an Extracellular Enantioselective Lipase from *Aspergillus niger*. *Annales Bogorienses n.s.* Vol. 12. No. 1.

- Mhetras, N.D., K.B. Bastawde, dan D.V. Gokhale. 2009. Purification and characterization of acidic lipase from *Aspergillus niger* NCIM 1207. *Biores. Technol.* (100).1486–1490.
- Namboodiri, V. M. H dan Chattopadyaya, R. 2000. Purification and Biochemical characterization of a novel thermostable lipase from *Aspergillus niger*. *Lipids* 35, 495-502.
- Nelson, D.L., Cox, M.M., 2008, *Lehninger Principles of Biochemistry*, W.H. Freeman and Company, New York.
- Palmer, T. 1991. *Understanding enzyme*. Springerlink. New York.
- Saxena RK, Davidson WS, Sheoran A, dkk. 2003. Purification and characterization of an alkaline thermostable lipase from *Aspergillus carneus*. *Process Biochemistry*. 39: 239-247.
- Scopes, R.K. 1997. Protein purification. 3rd edition. *Springer-Verlag*: New York.
- Sugihara A, Shimada Y, Tominaga Y. 1988. Purification and characterization of *Aspergillus niger* lipase. *Agricultural and Biological Chemistry*. 52(6): 1591-1592.
- Sumarsih, S. 2002. *Uji Aktivitas Lipolitik Beberapa Bakteri Hasil Isolasi dari Pelabuhan Tanjung Perak dan Produksi Lipase dari Strain Terpilih*. JIPTUNAIR. Surabaya.
- Toida, J., Y. Arikawa, K. Kondou, M. Fukuzawa, dan J. Sekiguchi. 1998. Purification and characterization of triacylglycerol lipase from *Aspergillus oryzae*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62 (4): 759-763.
- Winarno, F.G. 1989. *Enzim Pangan*. Gramedia Press, Jakarta.
- Yadav, RP., Saxena, RK., Gupta, R., Davidson, S., 1998. Purification and Characterization of a regiospecific lipase from *Aspergillus terreus*. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 28, 243-249.
- Yamada, H.; Adachi, O.; Watanabe, M. dan Sato, N., 1968, Studies on fungal tannase. Part I: Formation, purification and catalytic properties of tannase of *Aspergillus flavus*. *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 32, no. 9, p. 1070-1078.
- Zheng-Yu Shu, Jiang-Ke Yang, Yun-Jun Yan. 2007. Purification and Characterization of a Lipase from *Aspergillus niger* F044. *Chinese Journal Of Biotechnology*, 23(1), 96-100.