



**MODUL BIOINDUSTRI
(IBL 610)**

**MODUL SESI KE-8
INDUSTRI PRODUKSI ENZIM**

DISUSUN OLEH

Dr. Henny Saraswati, S.Si, M.Biomed

Universitas
Esa Unggul

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2020

INDUSTRI PRODUKSI ENZIM

A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

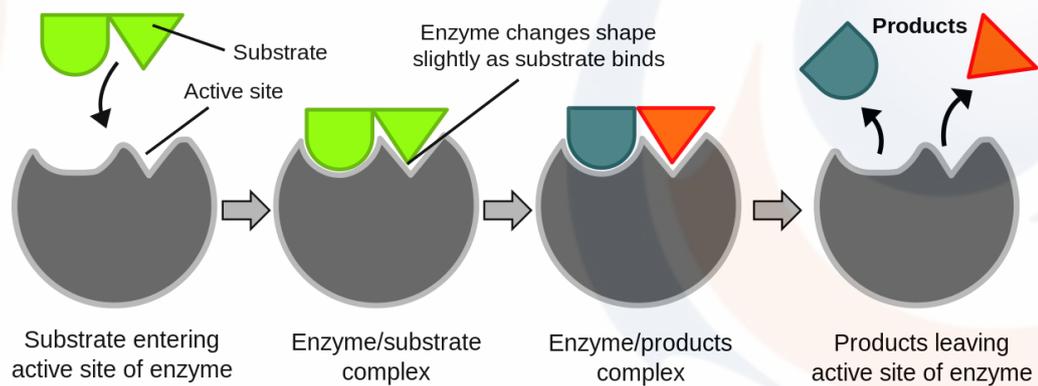
1. Menjelaskan karakteristik enzim.
2. Menyebutkan mikroba penghasil enzim.
3. Menjelaskan teknologi produksi enzim.
4. Menjelaskan mengenai industri produksi enzim.

B. Uraian dan Contoh

Enzim adalah salah satu produk industri yang sangat luas pemakaiannya dari makanan hingga ke industri farmasi. Sebagai primadona produk industri, enzim harus diproduksi dengan skala yang besar. Salah satu cara produksi enzim yaitu dengan menggunakan mikroba. Bagaimanakah caranya? Kita belajar hal itu pada pertemuan kali ini. Sebelum masuk terlalu jauh, kita harus mengetahui terlebih dahulu apa itu enzim.

1. Enzim.

Enzim adalah protein yang terdapat pada sel hidup dan berperan dalam fungsi fisiologis sel. Enzim memiliki sifat katalis, yaitu dapat membantu perubahan kimiawi dari suatu substrat. Oleh karena itu aktivitas enzim tergantung pada proses katalisisnya. Keistimewaan dari enzim adalah meskipun dihasilkan dari sel, namun enzim dapat diisolasi dari sel dan tetap dapat melaksanakan fungsinya dengan baik, meskipun tanpa sel. Selain itu enzim dapat melakukan aktivitas katalitiknya tanpa mengubah strukturnya. Proses katalisis dari enzim dapat mempercepat terjadinya suatu reaksi suatu substrat dan bekerja pada substrat tertentu (sangat spesifik). Bagaimana enzim bisa bekerja sangat spesifik? Hal ini terjadi karena pada enzim terdapat suatu bagian yang mengenali struktur molekul substrat tertentu, sehingga membentuk kompleks yang spesifik. Bagian ini dinamakan daerah aktif (*active site*). Jika telah terjadi ikatan antara enzim dan substrat, maka akan terjadi reaksi hidrolisis yang menghasilkan produk (Gambar 1).



Gambar 1. Enzim memiliki daerah aktif (*active site*) yang spesifik berikatan dengan daerah tertentu pada substrat. Hasil pengikatan ini akan menghasilkan reaksi hidrolisis yang mengubah substrat menjadi produk. (sumber : <https://en.wikibooks.org>)

Kualitas enzim sangat tergantung pada kondisi lingkungan seperti pH dan suhu. Beberapa enzim juga memerlukan bahan tambahan yang disebut ko-faktor untuk aktivitas katalitiknya. Contoh ko-faktor yang berperan antara lain ion-ion metal atau nukleotida.

Terdapat beberapa kelebihan penggunaan enzim dalam memproduksi suatu produk di industri, antara lain :

- Kualitas produk yang baik.
- Produk sampingan yang sedikit.
- Tidak menghasilkan limbah.
- Proses pemurnian produk yang mudah.
- Dapat menggunakan mikroba untuk menghasilkan enzim yang diperlukan.

2. Industri enzim.

Industri enzim berkaitan dengan penggunaan organisme atau produk dari organisme untuk menghasilkan produk industri. Dalam industri enzim, saat ini banyak yang menggunakan mikroba dalam proses produksi enzim. Hal ini dikarenakan adanya beberapa kelebihan penggunaan mikroba dibandingkan dengan metode yang lain, seperti kemudahan dalam memelihara mikroba dan hasil enzim yang baik. Bahkan saat ini penggunaan teknologi rekayasa genetika turut

mempercepat produksi enzim dari mikroba. Sampai saat ini beberapa teknologi terbaru untuk menghasilkan enzim dari mikroba terus dikembangkan, seperti pemilihan strain mikroba unggul dalam menghasilkan enzim dan juga kondisi kultur yang paling optimal

Secara umum enzim telah digunakan sejak beribu-ribu tahun yang lalu, seperti penggunaan enzim dalam proses pembuatan roti, minuman beralkohol dan produksi keju. Kemudian, penggunaan enzim berkembang menjadi ke beberapa bidang industri, seperti obat-obatan/farmasi hingga industri kulit (Tabel 1).

Tabel 1. Penggunaan enzim dalam berbagai industri.

Industri	Enzim	Fungsi
Susu	Proteinase	koagulasi susu Pematangan keju
	Lipase	Pematangan keju yang lebih cepat Pemberian aroma keju
Roti	Amylase	Melembutkan struktur roti
	Lipase	Stabilitas adonan
	Glucose oxidase	Penguatan adonan
Minuman	Pektinase	depektinisasi
	α -amylase	hidrolisis pati
	Limoninase	Menghilangkan rasa pahit
Kertas	Xylanase	proses pemutihan
	Laccase	Pemutihan non klorin
	Protease	Penghilangan biofilm
Makanan hewan	Fitase	Hidrolisis asam fitat
	β -glukanase	Membantu proses digesti
	Xylanase	Peningkatan digesti pati
Polimer	Lipase	Polikondensasi
	Tyrosinase	Polimerisasi lignin dan kitosan
Deterjen	Selulase	Mempercerah warna
	Cutinase	penghilangan trigliserida

Tabel 1. Lanjutan...

Industri	Enzim	Fungsi
Kosmetik	Superoxide dismutase	Bahan free-radical scavenging
	Protease	Menghilangkan kulit mati
Sintesis bahan-bahan organik	Nitrile hydratase	Sintesis akrilamid, butiramid dan nikotinamid
	Laccase	Produksi pewarna tekstil, penambah rasa, pestisida.
Kulit	Alkaline protease	Menghilangkan bulu dari kulit
	Lipase	Menghilangkan lemak
	Amylase	Pemisahan serat
Pengolahan limbah	Amidase	Degradasi nitril pada limbah
	Amylase	Bioremediasi pada limbah sayuran
	Lipase	Degradasi hidrokarbon pada minyak mentah
Makanan hewan	Fitase	Hidrolisis asam fitat
	β -glukanase	Membantu proses digesti
	Xylanase	Peningkatan digesti pati

(Singh et al, 2016)

3. Proses produksi enzim oleh mikroba

Beberapa mikroba diketahui dapat menghasilkan enzim yang penting dalam industri. Mikroba-mikroba ini bisa berasal dari bakteri, jamur dan yeast (Tabel 2). Terdapat beberapa kelebihan yang dimiliki oleh mikroba dalam menghasilkan enzim dibandingkan dengan produksi enzim dari tanaman atau hewan, yaitu :

1. Enzim dihasilkan dalam jumlah banyak dengan kualitas yang baik.
2. Proses purifikasi dan ekstraksi yang lebih mudah.
3. Waktu yang dibutuhkan lebih cepat.
4. Tidak memerlukan tempat yang luas untuk proses kulturnya.

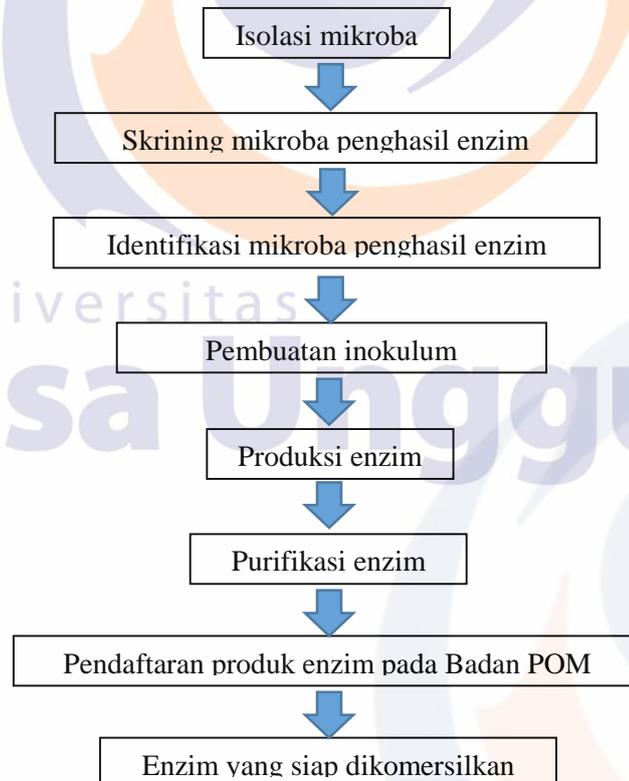
5. Dapat dilakukan rekayasa genetika untuk peningkatan kualitas enzim.

Tabel 2. Beberapa mikroba yang dapat menghasilkan enzim

Jenis Mikroba	Enzim	Spesies mikroba
Bakteri	Protease	<i>Bacillus subtilis</i>
	Amylase	<i>Bacillus subtilis</i>
Yeast	Lactase	<i>Saccharomyces fragilis</i>
Jamur/kapang	Protease	<i>Aspergillus niger</i>
	Glucose Oxidase	<i>Penicillium notatum</i>

(Vittaladevaram, 2017)

Produksi enzim dengan mikroba memerlukan beberapa proses, mulai dari isolasi, skrining dan pembuatan inokulum (mikroba yang ditumbuhkan pada medium). Setelah proses ini kemudian dilanjutkan dengan proses produksinya, sehingga dapat dihasilkan enzim yang siap dipasarkan.



Gambar 2. Proses produksi enzim mikroba dari hulu ke hilir (sumber: Niyonzima, 2019).

a. Isolasi Mikroba penghasil enzim.

Mikroba penghasil enzim bisa didapatkan dari tanah, tanaman maupun perairan yang bisa berupa bakteri, yeast maupun jamur/kapang. Berikut adalah beberapa contoh mikroba dan sumbernya:

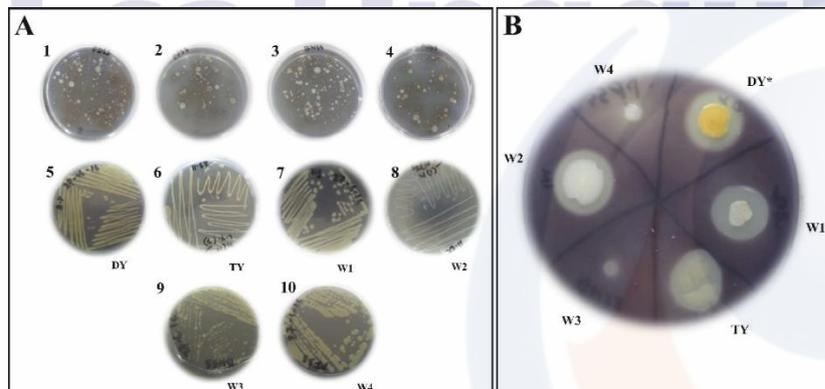
Tabel 3. Beberapa jenis mikroba yang menghasilkan enzim dan habitatnya.

Enzim	Mikroba Penghasil	Asal mikroba
Lipase	<i>Aspergillus niger</i>	tanah
	<i>Bacillus smithii</i>	dasar laut
Protease	<i>Aspergillus versicolor</i>	tanah pertanian
Amylase	<i>Bacillus cereus</i>	tanah
	<i>Streptomyces sp.</i>	dasar laut
Cellulase	<i>Bacillus megaterium</i>	tanah
Laccase	<i>Scytalidium lignicola</i>	tanah
	<i>Stereum ostrea</i>	kayu

(Niyonzima, 2019)

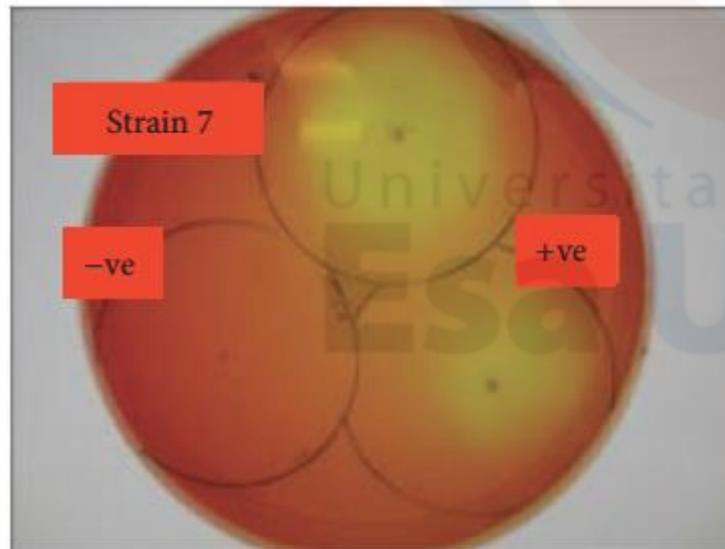
b. Skrining mikroba penghasil enzim.

Proses skrining dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri hasil isolasi pada medium yang sesuai. Jika pada medium tersebut terdapat zona bening di sekitar mikroba, maka hal ini menandakan bahwa mikroba tersebut dapat menghasilkan enzim yang diperlukan.



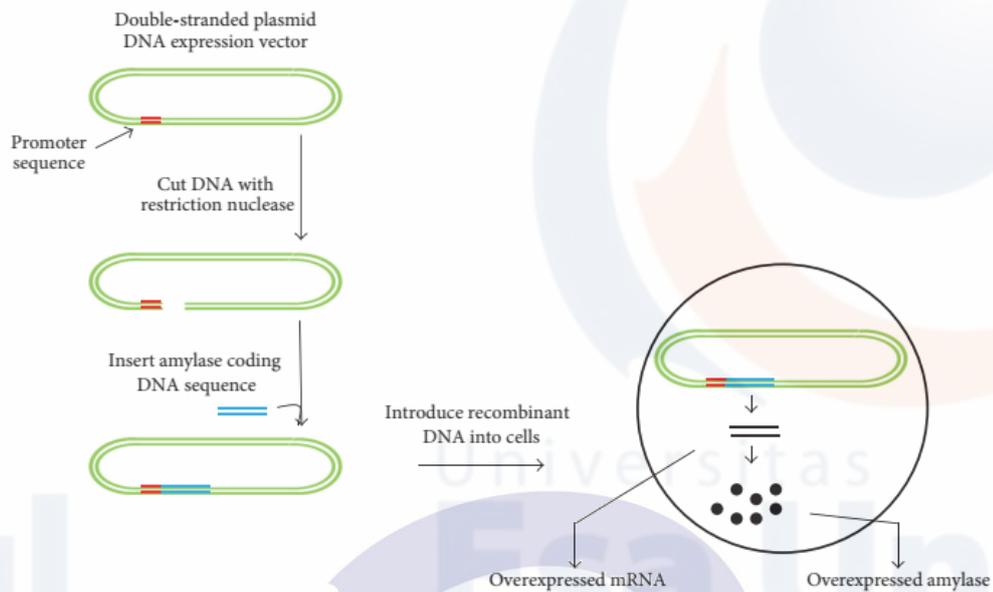
Gambar 3. Proses skrining 10 isolat bakteri penghasil Amylase (A), Enam (6) isolate diantaranya kemudian dikultur terpisah pada medium tertentu menghasilkan zona bening, memperlihatkan potensi produksi enzim Amylase (B). (Sumber: Hassan et al, 2017).

Selain adanya zona bening di sekitar mikroba yang ditumbuhkan, proses skrining juga bisa dilakukan dengan melihat perubahan warna pada media kultur yang digunakan, seperti perubahan warna merah pada agar *oil-phenol red agar plate* menjadi oranye pada skrining mikroba penghasil lipase (Gambar 4).



Gambar 4. Proses skrining bakteri penghasil lipase yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium *oil-phenol red agar plate*. Pada gambar ini diperlihatkan strain no 7 menghasilkan perubahan warna dari merah menjadi kuning, seperti yang diperlihatkan pada kontrol positif (+ve). Sedangkan pada kontrol negatif (-ve) tidak memperlihatkan perubahan warna. (sumber : Lee et al, 2015).

Pemilihan strain mikroba dari beberapa strain yang dihasilkan dari proses skrining bisa dilakukan dengan kriteria, antara lain bahwa mikroba yang digunakan tidak beracun terhadap manusia, pertumbuhannya cepat, genetiknya stabil, memiliki ukuran sel yang besar, waktu fermentasi yang diperlukan juga sedikit dan dapat tahan terhadap konsentrasi karbon atau nitrogen dalam jumlah tinggi. Oleh karena itu, bisa dilakukan beberapa metode untuk peningkatan kualitas strain mikroba yang digunakan, salah satunya adalah dengan rekayasa genetika. Pada proses rekayasa genetika ini, pada intinya adalah memasukkan gen penghasil enzim dari organisme produsen ke organisme lain yang sesuai. Langkah ini dinamakan teknik DNA rekombinan.

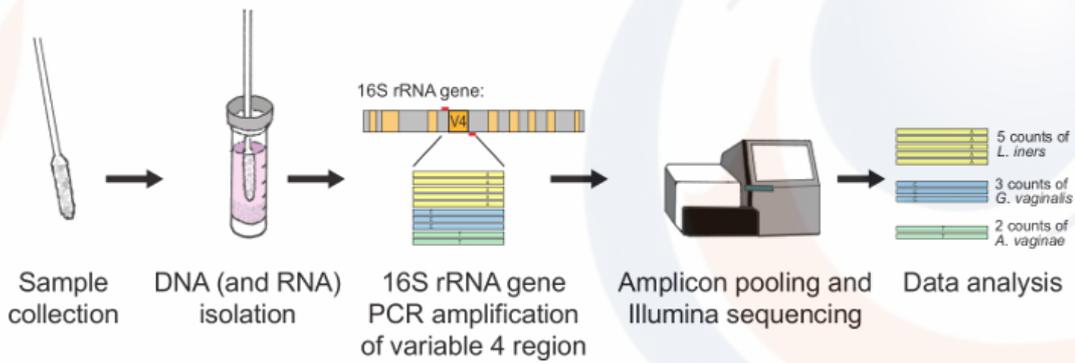


Gambar 5. Proses rekombinasi DNA (kloning) gen penghasil enzim ke dalam plasmid bakteri atau yeast (Gopinath, 2017).

c. Identifikasi mikroba penghasil enzim.

Setelah dilakukan proses skrining, maka tahapan selanjutnya yang dilakukan adalah identifikasi spesies mikroba tersebut. Secara sederhana, mikroba dapat diidentifikasi dari morfologinya ketika dikultur di medium atau ketika diamati dengan mikroskop. Selain itu bisa juga dilakukan identifikasi berdasarkan hasil uji biokimianya. Hasil yang didapat kemudian dapat dicocokkan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (untuk bakteri). Untuk jamur dan yeast bisa dilakukan dengan melihat taksonomi yang ada.

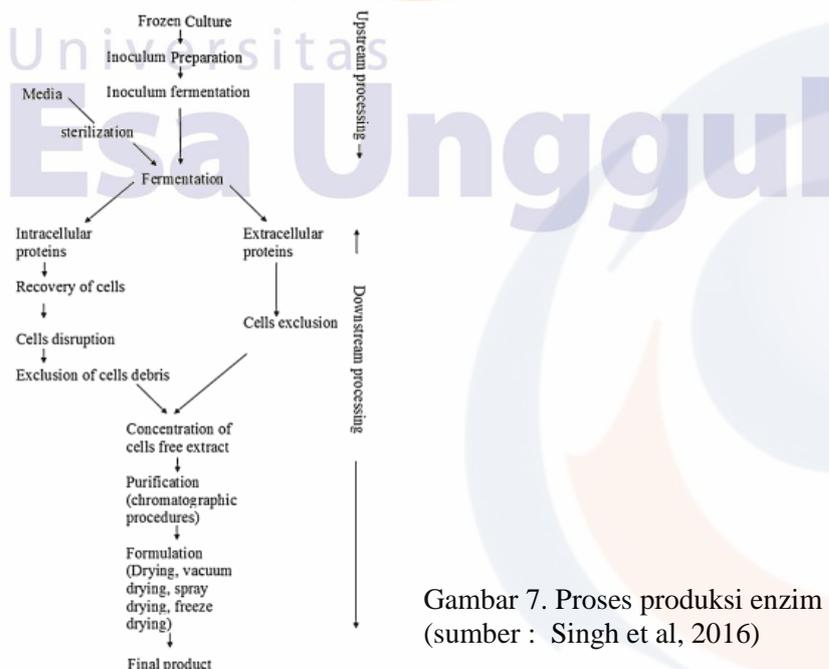
Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, maka identifikasi spesies bisa dilakukan menggunakan teknik biologi molekuler, yaitu dengan analisis 16S rRNA atau sekuensing 16S rRNA (pada bakteri) dan analisis 18S rRNA pada fungi atau yeast.



Gambar 6. Garis besar proses sekuensing 16S rRNA dari sampel, didahului dengan isolasi RNA, dilanjutkan dengan amplifikasi gen 16S rRNA, dilakukan sekuensing dengan mesin (dalam gambar ini Illumina sequencing) dan kemudian dilakukan analisis hasil (sumber: Anahtar et al, 2016).

d. Produksi enzim.

Pada proses produksi enzim menggunakan mikroba harus diperhatikan kondisi medium kultur dan nutrisinya. Proses produksi enzim dengan mikroba menggunakan proses fermentasi, sehingga diperlukanlah fermentor. Pada proses fermentasi untuk menghasilkan enzim perlu diperhatikan jenis-jenis fermentasi yang bisa digunakan. Sampai saat ini, fermentasi terendam (*submerged fermentation*) dan padat (*solid-state fermentation*) dianggap sebagai metode yang paling optimal dilakukan untuk produksi dalam skala industri.



Gambar 7. Proses produksi enzim (sumber : Singh et al, 2016)

Nutrisi untuk pertumbuhan mikroba harus seoptimal mungkin disediakan agar produksi enzim bisa maksimal. Pada kultur solid, produsen enzim dapat menggunakan medium dari limbah pertanian atau hasil samping suatu produk yang harganya lebih murah sehingga dapat menekan biaya produksi. Selain itu, keuntungan lain yang bisa diperoleh dengan penggunaan medium ini adalah limbah yang dihasilkan tidak berbahaya bagi lingkungan. Seperti contohnya penggunaan limbah bulu ayam yang digunakan sebagai sumber karbon dan nitrogen pada kultur *Bacillus megaterium* yang dapat menghasilkan enzim keratinase (Saibabu et al, 2012). Terdapat beberapa bahan yang ramah lingkungan yang dapat digunakan sebagai medium kultur.

Tabel 4. Sumber nutrisi yang ramah lingkungan untuk produksi enzim.

Substrat	Enzim yang dihasilkan	Mikroba
Molase	Invertase alami	<i>Aspergillus sp.</i>
Kulit jeruk yang ditambahkan molase	Invertase	<i>Aspergillus sojae JU12</i>
Limbah dapur/bahan masakan	Amylase	<i>Chryseobacterium sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>
Dedak padi	Phytase	<i>Bacillus lehensis MLB2</i>
dedak padi dan dedak gandum	Laccase	<i>Stereum ostrea</i>
serbuk gergaji	Cellulase	<i>Penicillium sp.</i>
Tangkai daun teh	Tannase	<i>Aspergillus tubingensis</i> <i>CICC 2651</i>

(Niyonzima, 2019).

Pada proses produksi enzim ini juga perlu diperhatikan beberapa faktor yang turut berperan dalam menghasilkan produk yang optimal. Faktor-faktor ini antara lain waktu fermentasi, adanya proses agitasi atau penggoyangan pada proses kultur, pH, suhu fermentasi, konsentrasi inokulum yang ditambahkan pada media, sumber nutrisi (karbon dan nitrogen) dan ion-ion logam.

Waktu fermentasi mikroba yang digunakan dalam proses peroduksi enzim harus diperhatikan dengan betul. Hal ini terjadi karena setiap mikroorganisme memiliki waktu fermentasi yang berbeda-beda. Untuk bakteri misalnya, waktu inkubasi bisa bervariasi dari 24 jam hingga lebih dari 48 jam. Sedangkan pada jamur dan yeast waktu fermentasi bisa bervariasi dari 4 hari hingga lebih dari 12 hari. Hal ini tentu memerlukan optimasi terlebih dahulu sebelum mulai dilakukannya proses fermentasi. Tabel 5 memperlihatkan variasi waktu fermentasi pada beberapa mikroba yang digunakan untuk produksi enzim.

Meskipun semua faktor pertumbuhan telah dioptimasi, namun berdasarkan kinetika pertumbuhan bakteri, mikroba bisa mengalami proses kematian sehingga produksi enzim dapat menurun. Oleh karena itu metode fermentasi terendam dengan *fed-batch fermentation* dipilih untuk menghindari hal ini.

Tabel 5. Kondisi waktu fermentasi untuk mikroba penghasil enzim

Mikroorganisme	Enzim yang Dihasilkan	Waktu Fermentasi
Bakteri		
<i>Bacillus cereus</i>	Pullulanase	48 jam
<i>Bacillus cereus GA6</i>	Amylase	96 jam
<i>Bacillus Flexus XJU-1</i>	Lipase	36 jam
<i>Bacillus licheniformis KBDLA</i>	Protease	48 jam
<i>Bacillus megaterium</i>	Keratinase	72 jam
<i>Bacillus sp.</i>	Amylase	48 jam
Jamur		
<i>Aspergillus niger</i>	Pectinase	7 hari
<i>Aspergillus awamori</i>	Cellulase	7 hari
<i>Aspergillus terreus</i>	Protease	5 hari
<i>Stereum ostrea</i>	Laccase	12 hari

(Niyonzima, 2019)

Selain waktu fermentasi, faktor lain yang sangat berperan dalam pertumbuhan mikroba adalah pH medium pertumbuhan. Sama seperti waktu fermentasi, nilai pH yang dibutuhkan untuk mikroba juga bervariasi. Hal ini diduga karena disebabkan variasi gen pada mikroba. Untuk bakteri, nilai pH medium yang

optimal pada kisaran 6 - 9, sedangkan pada jamur dan yeast pada kisaran 5 - 9. Sehingga, dengan adanya variasi ini, maka perlu dilakukan optimasi pada medium kultur mikroba.

Suhu fermentasi juga perlu dioptimasi untuk menghasilkan hasil enzim yang baik dan banyak. Pada bakteri, suhu fermentasi yang optimal berkisar antara 30°C hingga 50°C, sedangkan pada jamur dan fungi berkisar pada 25°C hingga 47°C (Niyonzima, 2019). Kebanyakan bakteri memiliki suhu optimal fermentasi pada 37°C namun ada juga sedikit spesies yang bisa melakukan fermentasi pada suhu 20°C. Jika fermentasi dilakukan di luar suhu optimum mikroba, maka hal ini akan menyebabkan rendahnya produksi enzim. Selain itu, enzim yang diproduksi bisa mengalami kerusakan pada daerah aktifnya (*active site*) karena enzim sangat sensitif terhadap suhu.

Konsentrasi inokulum yang dimasukkan ke dalam medium juga berperan dalam proses menghasilkan enzim yang baik. Faktor ini juga memerlukan optimasi pada awal persiapan inokulum karena bervariasinya faktor ini untuk setiap mikroba. Beberapa mikroba memiliki volume inokulum optimal 0,6% dari total medium, ada juga yang lebih dari itu.

Tabel 6. Volume inokulum setiap mikroba bervariasi.

Mikroorganisme	Enzim yang Dihasilkan	Volume inokulum (%)
Bakteri		
<i>Bacillus cereus</i>	Pullulanase	belum teridentifikasi
<i>Bacillus cereus GA6</i>	Amylase	1
<i>Bacillus Flexus XJU-1</i>	Lipase	2
<i>Bacillus licheniformis KBDLA</i>	Protease	3
<i>Bacillus megaterium</i>	Keratinase	belum teridentifikasi
<i>Bacillus sp.</i>	Amylase	2
Jamur		
<i>Aspergillus niger</i>	Pectinase	belum teridentifikasi
<i>Aspergillus awamori</i>	Cellulase	belum teridentifikasi
<i>Aspergillus terreus gr.</i>	Protease	2
<i>Stereum ostrea</i>	Laccase	belum teridentifikasi

Proses agitasi atau penggoyangan pada proses kultur mikroba juga dapat meningkatkan produksi enzim. Hal ini terjadi karena adanya distribusi oksigen yang lebih merata sehingga pertumbuhan mikroba menjadi lebih optimal.

Tabel 7. Kecepatan agitasi proses fermentasi pada kultur yang bervariasi.

Mikroorganisme	Enzim yang Dihasilkan	Kecepatan Agitasi (rpm)
Bakteri		
<i>Bacillus cereus</i>	Pullulanase	200
<i>Bacillus cereus GA6</i>	Amylase	120
<i>Bacillus Flexus XJU-1</i>	Lipase	100
<i>Bacillus licheniformis KBDL4</i>	Protease	200
<i>Bacillus megaterium</i>	Keratinase	belum teridentifikasi
<i>Bacillus sp.</i>	Amylase	120
Jamur		
<i>Aspergillus niger</i>	Pectinase	150
<i>Aspergillus awamori</i>	Cellulase	belum teridentifikasi
<i>Aspergillus terreus gr.</i>	Protease	belum teridentifikasi
<i>Stereum ostrea</i>	Laccase	180

C. Latihan

- Apa yang disebut dengan enzim?
- Apa sajakah keuntungan penggunaan mikroba dalam produksi enzim?
- Sebutkan cara pembuatan enzim dengan mikroba dan faktor-faktor yang membantu produksi yang optimal.

D. Kunci Jawaban

- Suatu protein yang dihasilkan dan berada dalam organisme yang berperan dalam proses metabolisme tubuh dengan memiliki aktivitas katalitik.

- b. Dibandingkan dengan pembuatan enzim dari tanaman dan hewan, penggunaan mikroba memiliki beberapa keuntungan seperti mudah ditumbuhkan dan dirawat, tidak memerlukan tempat produksi yang luas, tidak menghasilkan limbah yang berbahaya dan dapat dimodifikasi secara genetik.
- c. Produksi enzim dengan mikroba dilakukan dengan proses fermentasi. Metode fermentasi yang sering digunakan adalah fermentasi terendam (*fed-batch* atau *continuous*) dan *solid state fermentation*.

E. Daftar Pustaka

1. Smith, E.E. (2009). *Biotechnology*. Cambridge. Cambridge University Press.
2. Niyonzima, F.N. 2019. Production of Microbial Industrial Enzyme. *Acta Scientific Microbiology*. 2(12): 75-89.
3. Vittaladevaram, V. 2017. Fermentative Production of Microbial Enzymes and Their Applications: Present Status and Future Prospects. *J. Appl. Biol. Beotechno*. 5(4). 090-094.
4. Singh, R, M. Kumar, A. Mittal, P.K. Mehta. 2016. Microbial Enzymes: Industrial Progress in 21st Century. *J. Biotech*. 6: 174.
5. Gopinath, S.C.B et al. 2017. Biotechnological Processes in Microbial Amylase Production. *BioMed Research International*.
6. Saibabu, V, F.N. Niyonzima, S.S. More. 2012. Isolation, Partial Purification and Characterization of Keratinase from *Bacillus megaterium*. *Int. Res. J. Biological Sci*. 2(2). 13-20,
7. Lee, L.P, H.M. Karbul, M. Citartan, S.C.B. Gopinath, T. Lakshmiriya, T.H Tang. 2015. Lipase-secreting *Bacillus* Species in an Oil-Contaminated Habitat: Promising Strains to Alleviate Oil Pollution. *BioMed Res. Int*. 1-9.
8. Anahtar, M.N, B.A. Bowman, D.S Kwon. 2016. Efficient Nucleic Acid Extraction and 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Community Characterization. *J. Vis. Exp*. 110. E53939.
9. Hasan, MM, L.W. Marzan, A. Hosna, A. Hakim, A.K. Azad. 2017. Optimization of Some Fermentation Conditions for The Production of Extracellular Amylase by Using *Chryseobacterium* and *Bacillus* isolates from

Organic Kitchen Wastes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*.
15. 59-68.



Universitas
Esa Unggul