

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Air Limbah

Limbah cair rumah tangga atau domestik adalah air buangan yang berasal dari penggunaan limbah dapur, kamar mandi, toilet, cucian, dan sebagainya (Puji, 2009). Komposisi limbah cair rata-rata mengandung bahan organik dan senyawa mineral yang berasal dari sisa makanan, urin, dan sabun. Sebagian limbah rumah tangga berbentuk suspensi, lainnya dalam bentuk bahan terlarut. Di Indonesia misalnya pada kota - kota besar, beban organik (*organic load*) limbah cair domestik dapat mencapai sekitar 70% dari beban organik total limbah cair yang ada di kota tersebut. Limbah cair rumah tangga memiliki karakteristik yaitu TSS 25-183 mg/l, COD 100-700 mg/l, BOD 47-466 mg/l, Total Coliforms $56-8,03 \times 10^7$ CFU/100 mL (Li, 2009).

Limbah tersebut memiliki potensi besar untuk mencemari lingkungan, oleh karena itu perlu ditangani dengan baik. Air limbah dengan konsentrasi pencemar organik yang tinggi umumnya diolah secara anaerob. Disisi lain, pengolahan secara aerob memerlukan energi yang tinggi untuk aerasi, banyak menghasilkan lumpur dan memerlukan nutrisi yang lebih banyak bila dibandingkan dengan proses anaerob (Mindriany dkk., 2007) .

Minyak dan lemak yang mencemari air dapat mengapung di atas permukaan air.

Minyak yang terdapat didalam air dapat berasal dari berbagai sumber diantaranya karena air buangan dari masyarakat, rumah tangga, industri, dan sumber-sumber lainnya. Minyak tidak larut di dalam air, oleh karena itu jika air tercemar oleh minyak maka minyak tersebut akan tetap mengapung, kecuali jika terdampar ke pantai atau tanah disekeliling sungai. Tetapi ternyata tidak demikian halnya.

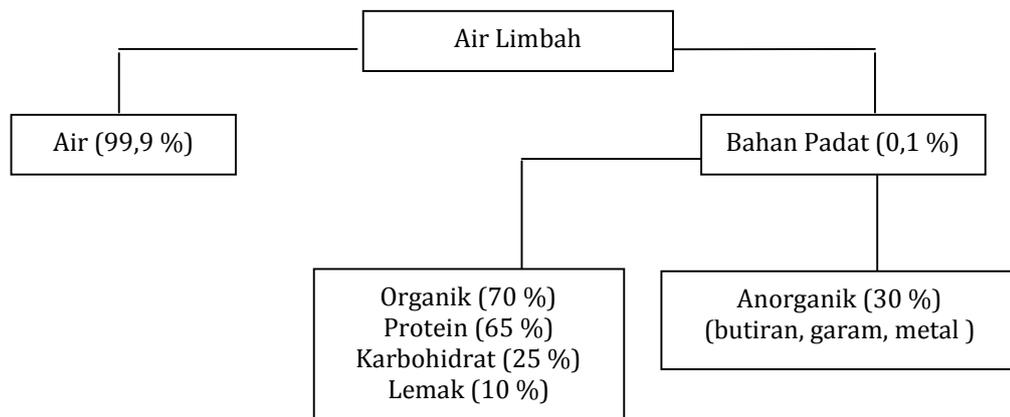
Semua jenis minyak mengandung senyawa-senyawa volatil yang segera dapat menguap. Ternyata setelah beberapa hari sebanyak 25% dari volume minyak akan hilang karena menguap. Sisa minyak yang tidak menguap akan mengalami emulsifikasi yang mengakibatkan air dan minyak dapat bercampur. Pencemaran air oleh minyak sangat merugikan karena dapat menimbulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Adanya minyak menyebabkan penetrasi sinar ke dalam air berkurang.
2. Konsentrasi oksigen terlarut menurun dengan adanya minyak karena lapisan minyak menghambat pengambilan oksigen oleh air.
3. Adanya lapisan minyak pada permukaan air akan mengganggu kehidupan burung air karena burung-burung yang berenang dan menyelam bulu-bulunya akan ditutupi oleh minyak sehingga menjadi lekat satu sama lain, akibatnya kemampuannya untuk terbang juga menurun.
4. Penetrasi sinar dan oksigen yang menurun dengan adanya minyak dapat mengganggu kehidupan tanaman-tanaman laut, termasuk ganggang dan liken.

Beberapa komponen yang menyusun minyak juga diketahui bersifat racun terhadap berbagai hewan maupun manusia, tergantung dari struktur dan berat molekulnya (Fardiaz,1992).

1. Komposisi Air Limbah

Di dalam limbah cair terkandung zat-zat pencemar dengan konsentrasi tertentu yang bila dimasukkan ke perairan dapat mengubah kualitas airnya. Kualitas air merupakan pencerminan kandungan konsentrasi makhluk hidup, energi, zat-zat, atau komponen lain yang ada dalam air. Komposisi air limbah tergantung dari sumbernya, tetapi sebagian besar air limbah memiliki komposisi sebagai berikut :



Gambar 1. Komposisi air limbah (Tebbutt, 1998; Mara, 2004).

2. Karakteristik Kimia Air Limbah

Karakteristik kimia bahan organik dalam limbah cair adalah sebagai berikut:

1) Protein

Protein merupakan bagian yang penting dari makhluk hidup, termasuk di dalamnya tanaman, dan hewan bersel satu. Protein mengandung karbon, hidrogen, dan oksigen yang mempunyai bobot molekul sangat tinggi. Struktur kimianya sangat kompleks dan tidak stabil serta mudah terurai, sebagian ada yang larut dalam air, tetapi ada yang tidak. Susunan protein terdiri dari beribu-ribu asam amino dan merupakan bahan pembentuk sel dan inti sel. Di dalam limbah cair, protein merupakan unsur penyebab bau, karena adanya proses pembusukan dan peruraian oleh bakteri.

2) Karbohidrat

Karbohidrat antara lain : gula, pati, selulosa dan benang-benang kayu terdiri dari unsur C, H, dan O. Gula dalam limbah cair cenderung terdekomposisi oleh enzim dari bakteri-bakteri tertentu dan ragi menghasilkan alkohol dan gas CO₂ melalui proses fermentasi. Fermentasi merupakan proses peruraian metabolik dari bahan organik oleh mikroorganisme yang menghasilkan energi dan gas, yang berlangsung dalam kondisi anaerobik. Metabolisme merupakan peristiwa pembentukan dan peruraian zat di dalam diri makhluk hidup yang memungkinkan berlangsungnya hidup. Pati merupakan salah satu karbohidrat yang relatif lebih stabil, tetapi dapat diubah menjadi gula oleh aktivitas bakteri. Sedangkan selulosa merupakan salah satu karbohidrat yang paling tahan terhadap dekomposisi atau

peruraian bakteri. Karbohidrat ini keberadaannya dalam limbah cair mengakibatkan bau busuk dan turunnya oksigen terlarut, sehingga dapat mengganggu kehidupan biota air.

3) Minyak dan lemak

Minyak adalah lemak yang bersifat cair. Keduanya mempunyai komponen utama karbon dan hidrogen yang mempunyai sifat tidak larut dalam air. Bahan-bahan tersebut banyak terdapat pada makanan, hewan, manusia dan bahkan ada dalam tumbuh-tumbuhan sebagai minyak nabati. Sifat lainnya adalah relatif stabil, tidak mudah terdekomposisi oleh bakteri (Milasari, 2010).

6) Deterjen

Deterjen termasuk bahan organik yang sangat banyak digunakan untuk keperluan rumah tangga, hotel, dan rumah sakit. Bahan aktif pembersih yang terkandung dalam deterjen di Indonesia sebelum tahun 1993 masih menggunakan ABS (Alkyl Benzene Sulfonate). ABS ini dapat menimbulkan busa yang mempunyai sifat tahan terhadap peruraian biologis, sehingga dapat menimbulkan masalah pencemaran air. Sejak tahun 1993, bahan aktif ini diganti dengan LAS (Linear Alkyl Sulfonate) yang busanya dapat diuraikan, walaupun harganya relatif lebih mahal.

7) Phenol

Phenol juga merupakan bahan organik yang mempunyai sifat larut dalam air. Bahan ini dalam air dapat menyebabkan iritasi yang kuat, racun terhadap kulit dan

dapat menyebabkan gangguan terhadap tenggorokan. Toleransi pengolahan untuk air limbah industri adalah 500 mg/l, bila melebihi akan sulit untuk diuraikan secara biologis. Toleransi maksimum untuk air limbah adalah 2 mg/L (Metcalf, 2004).

B. Bioremediasi

Berbagai aktivitas seperti agroindustri, peternakan, pariwisata, dan pabrik pengolahan hasil pertanian, sudah tentu menghasilkan produk samping atau limbah yang dapat mencemari lingkungan. Limbah yang dihasilkan umumnya mengandung konsentrasi bahan organik yang sangat tinggi yang terdiri dari lemak, karbohidrat protein dan selulosa atau lignoselulosa. Lipid (lemak) adalah kelompok senyawa heterogen yang berkaitan baik secara aktual maupun potensial dengan asam lemak. Sifat dari lemak secara umum tidak larut dalam air, sehingga limbah yang mengandung lemak yang terdapat dalam badan air mempunyai dampak yang cukup besar dalam mengganggu ekosistem perairan. Lapisan lipid yang ada pada permukaan perairan akan menghalangi masuknya cahaya dalam badan air sehingga proses fotosintesis berlangsung terhambat dengan demikian kadar oksigen akan rendah yang akan menyebabkan organisme aerobik akan mati (Tresna, 1991).

Usaha yang dilakukan sebelum limbah dibuang ke lingkungan adalah dengan melakukan pengolahan (Fardia, 1992; Ginting, 1995). Dalam mengembangkan suatu sistem pengolahan limbah yang tepat guna maka terlebih dahulu harus diketahui sifat-sifat suatu limbah. Pemahaman ini penting mengingat sistem

pengolahan suatu jenis limbah akan berbeda dengan jenis limbah yang lain. Saat ini sudah dikenal sistem pengolahan dengan menggunakan organisme hidup, yang dikenal dengan sistem pengolahan secara biologis yang penerapannya sangat ramah lingkungan (Suryadipura, 2001). Menurut Dharmawibawa (2004), metode biologi atau biodegradasi oleh mikroorganisme merupakan salah satu cara yang tepat, efektif dan hampir tidak ada pengaruh sampingannya pada lingkungan karena tidak menghasilkan racun atau *blooming* karena mikroba ini akan mati seiring dengan habisnya minyak.

Agar pengolahan limbah berlangsung secara efektif khususnya limbah yang banyak mengandung lemak maka langkah awal yang perlu dilakukan adalah mencari mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi lemak (Darmayasa, 2008).

Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi lingkungan dengan memanfaatkan proses biologi dalam mengendalikan pencemaran.

Bioremediasi juga merupakan aplikasi dari prinsip – prinsip proses biologi untuk mengolah air tanah, dan lumpur yang terkontaminasi zat – zat kimia berbahaya seperti minyak. Hal ini dikarenakan bioremediasi dapat meminimalisasi kontaminan, yaitu mengubah senyawa kimia berbahaya menjadi kurang berbahaya seperti karbon dioksida atau beberapa gas lain, senyawa organik, air, dan materi yang dibutuhkan oleh mikroba pendegradasi (Munawar, 2007).

Bioremediasi bukanlah konsep baru dalam mikrobiologi terapan, karena mikroba telah banyak digunakan selama bertahun-tahun dalam mengurangi senyawa

organik dan bahan beracun baik yang berasal dari limbah rumah tangga maupun dari industri. Hal yang baru adalah bahwa teknik bioremediasi terbukti sangat efektif dan murah dari sisi ekonomi untuk membersihkan tanah dan air yang terkontaminasi oleh senyawa-senyawa kimia toksik atau beracun (Nainggolan, 2010).

Mikroba yang sering digunakan dalam proses bioremediasi adalah bakteri, jamur, dan alga. Degradasi senyawa kimia oleh mikroba di lingkungan merupakan proses yang sangat penting untuk mengurangi kadar bahan-bahan berbahaya di lingkungan, yang berlangsung melalui suatu reaksi kimia yang cukup kompleks. Dalam proses degradasinya, mikroba menggunakan senyawa kimia tersebut untuk pertumbuhan dan reproduksinya melalui berbagai proses oksidasi. Laju degradasi mikroba terhadap logam berat maupun senyawa organik tergantung pada beberapa faktor, yaitu aktivitas mikroba, nutrisi, suhu, derajat keasaman dan faktor lingkungan (Roane *et al.*, 2011).

Berdasarkan proses biologis serta pelaksanaan rekayasa, bioremediasi dapat dibagi menjadi dalam empat kelompok, yaitu:

- a. Fitoremediasi
- b. Bioremediasi in situ
- c. Bioremediasi ex situ
- d. Bioaugmentasi

Fitoremediasi merupakan proses teknologi yang menggunakan tumbuhan untuk memulihkan tanah yang tercemar oleh bahan polutan secara in situ (Surtikanti, 2011).

Teknologi ini digunakan dengan peningkatan perbaikan media tumbuh dan ketersediaan mikroba tanah untuk meningkatkan efisiensi dalam proses degradasi bahan polutan. Proses fitoremediasi bermula dari akar tumbuhan yang menyerap bahan polutan yang terkandung dalam air. Kemudian melalui proses transportasi tumbuhan, air yang mengandung bahan polutan dialirkan keseluruh tubuh tumbuhan, sehingga air yang menjadi bersih dari polutan. Tumbuhan ini dapat berperan langsung atau tidak langsung dalam proses remediasi lingkungan yang tercemar. Tumbuhan yang tumbuh di lokasi yang tercemar belum tentu berperan aktif dalam penyisihan kontaminan, kemungkinan tumbuhan tersebut berperan secara tidak langsung. Agen yang berperan aktif dalam biodegradasi polutan adalah mikroorganisme tertentu, sedangkan tumbuhan dapat berperan memberikan fasilitas penyediaan akar tumbuhan sebagai media pertumbuhan mikroba tanah sehingga pertumbuhan lebih cepat berkembang biak

Bioremediasi in situ disebut juga bioremediasi dasar atau *natural attenuation*. Teknologi ini memanfaatkan kemampuan mikroba indigen dalam merombak pencemaran di lingkungan. Proses ini terjadi dalam tanah secara alamiah di dalam tanah secara alamiah dan berjalan sangat lambat sedangkan bioremediasi ex situ dikenal sebagai metode dimana mikroorganisme diaplikasikan pada tanah atau air

terkontaminasi yang telah dipindahkan dari tempat asalnya. Bioaugmentasi adalah salah satu metode dengan menambahkan organisme dari luar (*exogenous microorganism*) pada permukaan yang dapat mendegradasi kontaminan spesifik (Surtikanti, 2011).

C. Bakteri

Bakteri merupakan mikrobial uniseluler yang pada umumnya tidak mempunyai klorofil. Bakteri tersebar luas di alam, di dalam tanah, di dalam air, pada sumber air panas, dalam tubuh hewan, manusia dan tumbuhan. Bakteri umumnya berukuran kecil dengan karakteristik dimensi 1 μm . Beberapa kelompok memiliki *flagella* dan dapat bergerak aktif. Bakteri memiliki berat jenis 1,05 – 1,1 g cm^{-3} dan berat sekitar 10^{-12} g. Ukuran aktual tergantung dari laju pertumbuhan, media tumbuh dan sebagainya. Ada tiga bentuk dasar bakteri, yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang silindris, bentuk lengkung atau vibrio. Bentuk bulat atau kokus dapat dibedakan dalam : mikrokokus, diplokokus, streptokokus, tetrakokus, sarsina dan stafilo kokus. Bakteri berbentuk batang dapat dibedakan ke dalam bentuk batang panjang dan batang pendek dengan ujung datar atau lengkung. Bakteri berbentuk lengkung dapat dibagi menjadi bentuk koma (vibrio), jika lengkungnya kurang dari setengah lingkaran. Bentuk bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu (Hidayat dkk., 2006).

Untuk mendapatkan bakteri yang potensial dilakukan dengan penapisan mikroorganisme dari lingkungan. Umumnya isolat bakteri yang diperoleh sesuai dengan lingkungan tempat hidupnya. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan

tersebut biasanya digunakan bakteri sebagai sumber pertumbuhannya. Bakteri yang di isolasi dari tempat hidupnya berperan sebagai penghasil enzim, oleh karena itu bakteri pendegradasi lipid (lemak) berperan sebagai enzim lipase. Enzim lipase memiliki cakupan aplikasi yang luas dalam bidang bioteknologi seperti produksi pestisida, pengolahan limbah, industri makanan (pembuatan roti dan keju), biosensor, detergen, industri kulit, pembuatan kertas, dan industri oleokimia (Handayani dkk., 2006).

1. Nutrien untuk Pertumbuhan Bakteri

Substansi kimia organik dan anorganik diperoleh dari lingkungan dalam berbagai macam bentuk. Nutrien diambil dari lingkungan kemudian ditransformasikan melalui membran plasma menuju sel. Di sel beberapa nutrisi diolah menghasilkan energi yang digunakan dalam proses seluler. Ada tujuh komponen utama yang dibutuhkan semua makhluk hidup, yaitu karbon, oksigen, nitrogen, hidrogen, fosfor, sulfur dan kalium. Mikroorganism menggunakan bahan-bahan organik yang terkandung dalam limbah cair sebagai makanannya, tetapi ada beberapa unsur kimia penting yang banyak digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan bakteri sehingga pertumbuhan bakteri optimal. Sumber nutrisi tersebut antara lain :

a. Makro nutrient

Sumber makro nutrient yang sering ditambahkan antara lain adalah N, S, P, K, Mg, Ca, Fe, Na, dan Cl. Unsur nitrogen dan fosfor yang digunakan biasanya diperoleh dari urea (Metcalf and Eddy, 2004).

b. Mikro nutrient

Sumber mikro nutrient yang penting antara lain adalah Zn, Mn, Mo, Se, Co, Cu, dan Ni . Penggunaan mikronutrient adalah 1-100 $\mu\text{g/L}$ (Robert H. Perry, 1997).

Karena jika terlalu banyak justru merupakan racun bagi mikroorganismenya.

Penambahan mikronutrient Cu lebih dari 1 mg/L mengakibatkan efisiensi penurunan TOC menjadi menurun (Y.P. Ting *et al.*, 1994).

2. Teknik Biakan Murni

Koloni bakteri target sebagai biakan murni dapat diperoleh dengan beberapa cara yaitu :

a. Dengan Pengenceran

Suatu sampel dari suatu suspensi yang berupa campuran bermacam-macam spesies diencerkan dalam suatu tabung tersendiri. Dari pengenceran ini kemudian diambil sampel 1 ml untuk diencerkan lebih lanjut. Jika dari pengenceran yang ketiga ini diambil 0,1 ml untuk disebarkan pada suatu koloni tumbuh dalam medium tersebut, tetapi mungkin juga kita hanya memperoleh satu koloni saja.

Dalam hal demikian ini kita memperoleh satu koloni saja. Kalau kita belum yakin, kalau koloni tunggal yang kita peroleh itu murni, kita dapat mengulang pengenceran dengan menggunakan koloni itu sebagai sampel.

b. Dengan Penuangan (*pour plate method*)

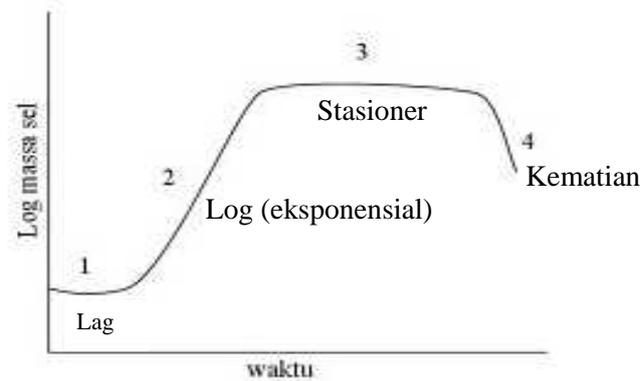
Metode ini dengan cara mengambil sedikit sampel campuran bakteri yang telah diencerkan, dan sampel ini kemudian disebarluaskan di dalam suatu medium. Dengan demikian diperoleh hanya satu biakan adukan. Setelah medium itu mengental, maka selang beberapa jam kemudian nampaklah koloni- koloni yang masing- masing dapat dianggap murni. Dengan mengulang pekerjaan seperti diatas, maka akhirnya akan diperoleh biakan murni yang telah terjamin (Waluyo, 2005).

c. Dengan Penggesekan (*streak plate method*)

Metode ini dilakukan dengan cara menuangkan medium agar steril ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai menjadi padat. Kemudian ose penginokulasi yang penuh dengan biakan mikroorganisme campuran digoreskan di atas permukaan agar, maka beberapa waktu kemudian akan nampaklah koloni- koloni yang letaknya tersebar di permukaan medium (Volk dan Wheeler, 1993).

3. Fase Pertumbuhan Bakteri

Fase pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi 4 fase, yaitu fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian. Grafik fase pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Grafik fase pertumbuhan bakteri (Volk dan Wheeler, 1993).

Fase lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya. Fase eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya. Selain itu, derajat pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Ketika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup.

Fase stasioner merupakan saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi

akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan (Volk dan Wheeler, 1993).

D. Enzim

Enzim merupakan biokatalisator yang sangat efektif yang akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia spesifik secara nyata, dimana reaksi ini tanpa enzim akan berlangsung lambat (Lehninger, 1995). Enzim dapat diproduksi oleh mikroba atau bahan lainnya seperti hewan dan tumbuhan. Enzim juga dapat diisolasi dalam bentuk murni (Winarno, 1986). Enzim merupakan senyawa protein yang dapat mengkatalisis seluruh reaksi kimia dalam sistem biologis. Semua enzim murni yang telah diamati sampai saat ini adalah protein. Aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim dapat mempercepat reaksi biologis, dari reaksi yang sederhana, sampai ke reaksi yang sangat rumit. Enzim bekerja dengan cara menempel pada permukaan molekul zat-zat yang bereaksi sehingga mempercepat proses reaksi. Percepatan reaksi terjadi karena enzim menurunkan energi pengaktifan yang dengan sendirinya akan mempermudah terjadinya reaksi. Enzim mengikat molekul substrat membentuk kompleks enzim substrat yang bersifat sementara dan lalu terurai membentuk enzim bebas dan produknya (Lehninger, 1995). Enzim memiliki keunggulan sifat, antara lain mempunyai aktivitas yang tinggi, efektif, spesifik dan ramah lingkungan (Lidya dan Djenar, 2000).

Klasifikasi enzim secara internasional berdasarkan atas reaksi yang dikatalisis antara lain:

1. Oksidoreduktase, mengkatalisis berbagai macam reaksi oksidasi reduksi serta sering menggunakan koenzim seperti NAD, NADP, FAD, atau lipoleat sebagai akseptor hidrogen.
2. Transferase, mengkatalisis berbagai jenis transfer kelompok seperti aminotransferase, karnitin asil transferase, dan transkarboksilase.
3. Hidrolase, mengkatalisis pembelahan ikatan antara karbon dan beberapa atom lain dengan adanya penambahan air.
4. Liase, mengkatalisis pemecahan ikatan karbon-karbon, karbon sulfur dan karbon nitrogen tertentu.
5. Isomerase, mengkatalisis isomer optik dan geometrik dan oksidasi reduksi intramolekuler tertentu.
6. Ligase, mengkatalisis pembentukan ikatan antara karbon dan oksigen (Lehninger, 1995).

Semua enzim adalah protein, dan aktivitas katalitiknya bergantung kepada integritas strukturnya sebagai protein. Enzim seperti protein lain, mempunyai berat molekul berkisar dari kira-kira 12.000 sampai 1 juta. Oleh karena itu, enzim berukuran amat besar dibandingkan dengan substrat atau gugus fungsional targetnya. Penataan tertentu pada rantai samping asam amino suatu enzim di sisi aktifnya menentukan tipe molekul yang dapat terikat dan bereaksi di situ. Biasanya ada sekitar lima rantai samping seperti itu dalam enzim apapun. Selain

itu, banyak enzim yang molekul-molekul nonprotein kecil yang terhubung dengan sisi aktif atau didekatnya. Molekul-molekul enzim ini disebut kofaktor atau koenzim (Ngili, 2009).

1. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim

a. Suhu

Pengaruh suhu sangat menentukan aktivitas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Sejalan dengan meningkatnya suhu, makin meningkat pula aktivitas enzim. Secara umum, setiap peningkatan 10°C di atas suhu minimum, aktivitas enzim akan meningkat sebanyak dua kali lipat. Aktivitas enzim meningkat pada kecepatan ini hingga mencapai kondisi optimum. Peningkatan suhu yang melebihi suhu optimumnya menyebabkan lemahnya ikatan di dalam enzim secara struktural (Pratiwi, 2008). Pada suhu maksimum enzim akan terdenaturasi karena struktur protein terbuka dan gugus non polar yang berada di dalam molekul menjadi terbuka keluar, kelarutan protein di dalam air yang polar menjadi turun, sehingga aktivitas enzim juga akan turun (Lehninger, 1995).

b. Konsentrasi Substrat

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Pada konsentrasi substrat rendah, enzim tidak mencapai konversi maksimum akibat sulitnya enzim menemukan substrat yang akan direaksikan. Seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, kecepatan reaksi juga akan meningkat akibat makin cepatnya

substrat terikat pada enzim. Peningkatan konsentrasi substrat pada titik jenuh tidak lagi dapat meningkatkan kecepatan laju reaksi (Pratiwi, 2008). *Facilitation of proximaty*, atau kemudahan berdekatan yang disebut sebagai efek keakraban, yang berarti bahwa laju reaksi antara dua molekul ditingkatkan bila dalam larutan encer keduanya dijaga dalam jarak dekat dalam sisi aktif enzim, sehingga menaikkan konsentrasi efektif reaktan (Ngili, 2009).

c. pH

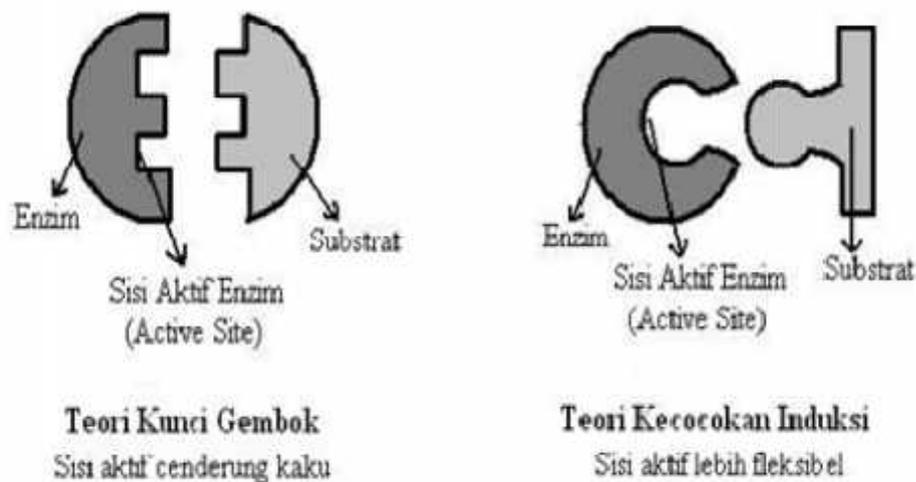
pH lingkungan juga berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi. Hal ini disebabkan konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi struktur tiga dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki pH optimum di mana pada pH tersebut struktur tiga dimensinya paling kondusif untuk mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai pada akhirnya enzim menjadi tidak fungsional (Lehninger, 1995).

d. Inhibitor

Selain suhu, pH dan konsentrasi substrat, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh ada tidaknya inhibitor. Jika terdapat pengurangan laju reaksi oleh suatu senyawa, senyawa tersebut dinamakan inhibitor. Inhibitor dapat bersaing dengan substrat dalam berikatan dengan enzim, sehingga menghalangi substrat terikat pada tapak aktif enzim (Poedjiadi, 1994). Peningkatan laju reaksi yang disebabkan oleh aktivator adalah kebalikan dari efek inhibitor.

2. Mekanisme Reaksi Enzim

Enzim bekerja dengan dua cara, yaitu menurut Teori Kunci-Gembok (*Lock and Key Theory*) dan Teori Kecocokan Induksi (*Induced Fit Theory*). Mekanisme kerja enzim dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 3. Mekanisme kerja reaksi enzim

Teori Kunci-Gembok (*Lock and Key Theory*) dikemukakan oleh Emil Fisher yang menyatakan bahwa kerja enzim seperti kunci dan anak kunci, melalui hidrolisis senyawa gula dengan enzim invertase. Terjadinya reaksi antara substrat dengan enzim adalah karena adanya kesesuaian bentuk ruang antara substrat dengan sisi aktif (*active site*) dari enzim. Dengan begitu sisi aktif enzim cenderung kaku. Substrat berperan sebagai kunci (*key*) dan sisi aktif (*lock*) berperan sebagai gembok. Substrat masuk ke dalam sisi aktif sehingga terjadi kompleks enzim-substrat. Hubungan antara enzim dan substrat membentuk ikatan yang lemah. Pada saat ikatan kompleks enzim-substrat terputus, produk hasil reaksi akan dilepas dan enzim akan kembali pada konfigurasi semula.

Teori Kecocokan Induksi (*Induced Fit Theory*) dikemukakan oleh Daniel Koshland yang menyatakan bahwa sisi aktif tidak bersifat kaku tetapi lebih fleksibel. Sisi aktif secara terus menerus berubah bentuknya sesuai dengan interaksi antara enzim dan substrat. Ketika substrat memasuki sisi aktif enzim, bentuk sisi aktif akan termodifikasi menyesuaikan bentuk substrat sehingga terbentuk kompleks enzim substrat. Sisi aktif akan terus berubah bentuknya sampai substrat terikat secara sepenuhnya, yang mana bentuk akhir dan muatan enzim ditentukan. Ketika substrat terikat pada enzim, sisi aktif enzim mengalami beberapa perubahan sehingga ikatan yang terbentuk antara enzim dan substrat menjadi menjadi lebih kuat. Interaksi antara enzim dan substrat disebut *Induced fit* (Shahib, 2005).

E. Enzim Lipase

Lipase (triasilgliserol asilhidrolase, EC3.1.1.3) adalah enzim yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol (Ozturk, 2001). Lipase yang berasal dari mikroorganisme lebih umum digunakan. Berikut adalah beberapa mikroorganisme penghasil lipase :

Tabel 1. Mikroorganisme penghasil lipase

Bakteri	Khamir	Kapang
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>Rhizopus arrhicus</i>
<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Yarrow lipolytica</i>	<i>Rhizopus chimensis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida ulilis</i>	<i>Aspergillus sp</i>
<i>Staphylococcus caseolyticus</i>	<i>Candida rugosa</i>	<i>Rhizopus homothalicus</i>
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	<i>Candida cylindracea</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
<i>Burkholderia multivorans</i>	<i>Candida sp</i>	<i>Penicillium simplicissimum</i>
<i>Serratia rubidaea</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
<i>Bacillus sp</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Penicillium verrucosum</i>
<i>Bacillus eagarus</i>	<i>Willopsis calformica</i>	<i>Geotrichum sp</i>
<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Geotricium candidum</i>
<i>Micrococcus caseolyticus</i>		<i>Aspergillus cameus</i>
<i>Pseudomonas fluorescerus</i>		<i>Aspergillus niger</i>
<i>Pseudomonas fragi</i>		<i>Rhizopus sp</i>
<i>Streptococcus faecalis</i>		<i>Rhizopus oryzae</i>

(Sumber: Barkah, 2011).

Lipase yang dihasilkan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah lama inkubasi. Lama inkubasi mempengaruhi jumlah lipase yang dihasilkan. Kemampuan bakteri dalam menghasilkan lipase telah ditemukan dengan lama waktu inkubasi dari beberapa jam sampai beberapa hari. Bakteri pendegradasi lipid mampu menghasilkan enzim lipase setelah waktu inkubasi mencapai 72 dan 96 jam (Pabai *et al.*, 1996).

F. Aplikasi Lipase

Kemampuan lipase yang dapat dimanfaatkan sebagai katalis dengan reaksi dan substrat bermacam-macam, stabilitas tinggi terhadap temperatur yang ekstrim, dapat mengkatalisis reaksi dengan berbagai jenis pelarut organik, membuat penggunaan lipase menjadi berkembang pesat. Penggunaan lipase di bidang industri dipandang cukup ekonomis, jika dibandingkan dengan proses tradisional, apabila ditinjau dari segi konsumsi energi dan hasil samping reaksi (Kulkarni, 2002). Lipase juga digunakan untuk mempercepat degradasi limbah minyak atau lemak, dan poliuretan. Lipase telah banyak digunakan sebagai biokatalis pada reaksi eksterifikasi dalam sintesis berbagai produk, seperti:

Tabel 2. Pemanfaatan Lipase dalam Industri

<i>Bidang Industri</i>	<i>Kegunaan</i>	<i>Produk</i>
A. Pangan		
1. <i>Industri produk susu</i>	<i>Hidrolisis lemak susu</i> <i>Mempercepat produksi dan pematangan keju</i>	<i>Berbagai tipe keju</i>
2. <i>Industri kue</i>	<i>Meningkatkan flavor dan mencegah stalling</i>	<i>Produksi kue</i>
3. <i>Industri minuman berakohol</i>	<i>Meningkatkan aroma dan mempercepat fermentasi</i>	<i>Produk alkohol seperti wine dan sake</i>
4. <i>Industri gelatin</i>	<i>Hidrolisis lemak</i>	<i>Gelatin</i>
B. Non pangan		
1. <i>Industri oleokimia</i>	<i>Hidrolisis minyak/lemak gliserolisis, alkoholisis</i>	<i>Asam lemak bebas, diasilgliserol, monogliserol, dan gliserol</i>
2. <i>Industri deterjen</i>	<i>Menghilangkan spot minyak/lemak</i>	<i>Deterjen</i>
3. <i>Industri kosmetik</i>	<i>Mengubah minyak</i>	<i>Kosmetik secara umum</i>
4. <i>Industri kulit</i>	<i>Menghilangkan lemak dari kulit</i>	<i>Produk – produk kulit</i>
5. <i>Penggunaan terpadu</i>	<i>Dekomposisi dan pengubahan substansi minyak</i>	<i>Pembersih untuk pipa, penanganan limbah yang penggunaannya dikombinasikan dengan enzim- enzim lainnya</i>

(Sumber: Kotting and eibl, 1994).