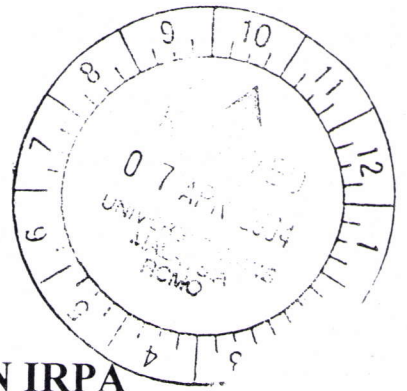




LAPORAN AKHIR PROJEK PENYELIDIKAN IRPA JANGKA PENDEK

JULAI 2001 – JUN 2002

**PENGHASILAN ENZIM LIPASE HIPERTERMOTOLERANS
DARIPADA SUMBER MIKROB**

(NO. AKAUN: 304/PBIOLOGI/634056)

**Profesor Madya Dr. Darah Ibrahim,
Pusat Pengajian Sains Kajihayat
Universiti Sains Malaysia
Pulau Pinang**

Penghargaan

Penyelidik ingin mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada MOSTE dan USM yang telah menyediakan geran penyelidikan ini, Dekan P. P. Sains Kajihayat di atas sokongannya, kepada kakitangan P. P. Sains Kajihayat yang terlibat, juga kepada semua pelajar-pelajarnya yang telah menjayakan projek penyelidikan ini.

LATAR BELAKANG

Enzim hipertermotolerans dapat ditakrifkan sebagai sekumpulan enzim yang mampu berada dalam keadaan stabil walaupun terdedah kepada suhu persekitaran yang tinggi, yang biasanya melebihi 55°C. Kestabilan sesuatu enzim seperti itu diukur dengan melihat pengekalan aktiviti enzim tersebut pada suhu tinggi berbanding dengan suhu bilik. Enzim hipertermotolerans amat digemari diperingkat industri kerana ia mempunyai beberapa kelebihan yang boleh digunakan berbanding enzim biasa.

Enzim lipolisis khususnya lipase (triasilgliserol asetidrolases; EC 3.1.1.3) adalah sejenis enzim yang boleh dihasilkan oleh tumbuhan, haiwan dan mikrob. Enzim ini memungkinkan penghidrolisis lemak dan mono- serta digliserida menjadi asid lemak bebas dan juga gliserol. Keadaan ini sekiranya berlaku pada keadaan yang kurang air adalah akan bersifat berbalik. Enzim ini juga mempunyai beberapa keistimewaan seperti ia mempunyai kespesifikan substrat, stereo-kespesifikan dan juga ia mempunyai keupayaan untuk memungkinkan tindak balas yang heterogenus.

Enzim lipase hipertermotolerans yang berasal daripada punca mikrob merupakan suatu sumber penghasilan enzim ini yang utama. Ini kerana ia boleh dihasilkan secara murah, mudah dan ia juga menunjukkan kestabilan yang tinggi. Enzim lipase hipertermotolerans mempunyai kestabilan termodinamik yang tinggi terutamanya semasa terdedah kepada suhu yang tinggi dan juga pelarut organik. Enzim lipase hipertermotolerans mempunyai potensi yang besar untuk digunakan dalam industri seperti pembuatan makanan, farmaseutis, detergen dan sebagainya.

RINGKASAN HASIL PENYELIDIKAN

Daripada penyelidikan yang telah dijalankan ini didapati pemencilan pada pelbagai kawasan persampelan telah memberikan lapan jenis mikroorganisma termotoleran berpotensi di dalam penghasilan enzim lipase. Pencilan NR2 telah dipilih sebagai mikroorganisma penghasil lipase terbaik di dalam medium pepejal dan cecair yang telah memberikan aktiviti enzim lipase terbaik di dalam medium pepejal dan cecair dengan aktiviti enzim lipase tertinggi sebanyak 17.27 U/ml. Pencilan NR2 telah dicamkan sebagai sejenis aktinomiset termotolerans *Streptosporangium roseum*. Spesies ini adalah sejenis aktinomiset Gram negatif iaitu yang jarang ditemui. Kemampuan *S. roseum* menghasilkan enzim lipase termotolerans telah menunjukkan keupayaan aktinomiset termotolerans tempatan untuk menghasilkan lipase. Pengoptimuman keadaan pengkulturan dan komposisi medium didapati berjaya meningkatkan aktiviti enzim lipase oleh *S. roseum* sebanyak 73.13% berbanding sebelum pengoptimuman. Medium optimum mengandungi 0.20% L-arabinosa, 0.55% glukosa, 0.45% NaCl, 1.0% ekstrak daging, 0.25% ekstrak yis dan 1.0% minyak zaitun. Keadaan pengkulturan optimum pula adalah suhu 65°C, pH 6.8, saiz inokulum 5% dan kadar goncangan 200 psm. Kesan penyekatgerakan sel menggunakan dua jenis pembawa iaitu kiub span dan bintilan kalsium alginat untuk penghasilan lipase oleh *S. roseum* juga dikaji. Bagi kiub span nilon, peningkatan aktiviti enzim lipase termotolerans adalah 73.33% apabila sel disekatgerakan pada keadaan penyekatgerakan optimum iaitu pada 8 kiub span nilon berisipadu 1.0cm³ di dalam medium optimum dengan pH 6.8, kadar goncangan 200 psm dan saiz inokulum 7% berbanding dengan sel bebas pada medium dengan isipadu yang sama. Bintilan kalsium alginat didapati tidak menyokong penghasilan enzim apabila aktiviti enzim merosot sebanyak 67.50% pada keadaan penyekatgerakan optimum iaitu 40 bintilan kalsium alginat berkepekatan akhir 1.5%, kadar goncangan 200 psm, pH 6.0 dan suhu 65°C. Pengkulturan menggunakan sistem suapan sekelompok sel tersekatgerak pada kiub span nilon berjaya mengekalkan aktiviti enzim lipase optimum selama 144 jam dengan peningkatan aktiviti antara 74.20-82.04% berbanding sel bebas. Penulenan dibuat menggunakan kaedah pemendakan aseton dan kromatografi turus gel Sephadex G-100. Terdapat satu puncak tunggal lipase yang dituliskan sebanyak 39 kali ganda dengan hasil

sebanyak 22.78% serta aktiviti spesifik 4.75 U/ μ ml/g protein. Enzim ini menunjukkan satu jalur di atas gel poliakrilamida PAGE asli. Suhu optimum enzim lipase kasar dan tulen adalah 65°C dan 60°C dengan kestabilan enzim terhadap suhu optimum selama 150 minit dan 105 minit, masing-masing.

KESIMPULAN

Streptosporangium roseum iaitu sejenis aktinomiset pencilan tempatan yang bersifat termofilik didapati mampu menghasilkan enzim lipase termotolerans dan ia boleh diketengahkan untuk kegunaan industri. Penghasilan enzim secara skala besar sedang dipertimbangkan disamping kajian kinetik dan tindak balas enzim bagi melihat kesesuaian cirri-cirinya dengan enzim lipase termotolerans yang ada dipasaran.

PENERBITAN

A. Kertas Kerja Persidangan

1. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2000). Screening for hyperthermotolerance lipolytic enzyme producers from indigenous sources. Abstract of The Third Regional IMT-GT UNINET Conference. Land Development and Sustainable Bioresources. 10-12 October 2000, Medan, Indonesia. P: 119.
2. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). The optimization of physical parameters and medium compositions for a maximum production of lipase by a thermophilic actinomycetes, *Streptosporangium roseum* in a submerged culture system. Proceedings of the 25th Malaysian Microbiology Society Symposium "Towards Commercialization of Microbiolocal Reseach". 8-11 September 2002. Kota Bharu, Kelantan, Malaysia.

3. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). Immobilization of a hyperthermotolerance actinomycetes, *Streptosporangium roseum* cells in sponge cubes and its effect on lipase activity. Proceedings of the 25th Malaysian Microbiology Society Symposium "Towards Commercialization of Microbiolocal Reseach". 8-11 September 2002. Kota Bharu, Kelantan, Malaysia.
4. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). Immobilization of a hyperthermotolerance actinomycetes, *Streptosporangium roseum* cells in sponge cubes and its effect on lipase activity. Proceedings of the Fourth Regional IMT-GT UNINET Conference. 15-17 October 2002, Penang, Malaysia.
5. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). Effects of different oils to hyperthermotolerant lipase activity by actinomycetes, *Streptosporangium roseum* at 65°C. Proceedings of the Fourth Regional IMT-GT UNINET Conference. 15-17 October 2002, Penang, Malaysia.

B. Tesis

Sarjana Sains (Master of Science):

1. Nik Raikhan Nik Him (2003). Penghasilan Enzim Lipase Termotolerans Dari Aktinomiset *Streptosporangium roseum*. Universiti Sains Malaysia. 194 Hlm.

Sarjana Muda (Bachelor of Science)

1. Sri Devi (2001/2002). Kesan sumber karbon, nitrogen dan minyak ke atas pertumbuhan dan penghasilan enzim lipase hipertermotolerans oleh pencilan *Streptosporangium* sp. Universiti Sains Malaysia. 80 Hlm.

G. PENERBITAN HASIL DARIPADA PROJEK

(i) LAPORAN/KERTAS PERSIDANGAN ATAU SEMINAR

1. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2000). Screening for hyperthermotolerance lipolytic enzyme producers from indigenous sources. Abstract of The Third Regional IMT-GT UNINET Conference. Land Development and Sustainable Bioresources. 10-12 October 2000, Medan, Indonesia. P: 119. 26566
2. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). The optimization of physical parameters and medium compositions for a maximum production of lipase by a thermophilic actinomycetes, *Streptosporangium roseum* in a submerged culture system. Proceedings of the 25th Malaysian Microbiology Society Symposium "Towards Commercialization of Microbiolocal Reseach". 8-11 September 2002. Kota Bharu, Kelantan, Malaysia. 23421
3. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). Immobilization of a hyperthermotolerance actinomycetes, *Streptosporangium roseum* cells in sponge cubes and its effect on lipase activity. Proceedings of the 25th Malaysian Microbiology Society Symposium "Towards Commercialization of Microbiolocal Reseach". 8-11 September 2002. Kota Bharu, Kelantan, Malaysia. 26567
4. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). Immobilization of a hyperthermotolerance actinomycetes, *Streptosporangium roseum* cells in sponge cubes and its effect on lipase activity. Proceedings of the Fourth Regional IMT-GT UNINET Conference. 15-17 October 2002, Penang, Malaysia. 23420
5. Nik Raikhan, N. H., Darah, I. and Ibrahim, C. O. (2002). Effects of different oils to hyperthermotolerant lipase activity by actinomycetes, *Streptosporangium roseum* at 65°C. Proceedings of the Fourth Regional IMT-GT UNINET Conference. 15-17 October 2002, Penang, Malaysia. 26568