

**INVERTASE DARI *Aspergillus niger* DENGAN METODE SOLID STATE
FERMENTATION DAN APLIKASI DI INDUSTRI: KAJIAN PUSTAKA**

***Invertase of Aspergillus niger With Solid State Fermentation Method And The
Application In Industry: A Review***

Dwi Okta Indriani^{1*}, Luqvia Noer Islami Syamsudin, Feronika Heppy Sriherfyna¹,
Agustin Krisna Wardani¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email : dwioktaindriani@yahoo.co.id

ABSTRAK

Enzim invertase merupakan salah satu jenis enzim hidrolase yang dapat menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Enzim invertase telah banyak digunakan dalam industri pangan untuk produksi gula invert. Gula invert dijadikan sebagai bahan untuk produk coklat, permen, selai, madu buatan, dan pembuatan sirup invert (HFS). Enzim invertase juga digunakan dalam fermentasi molase menjadi etanol. Enzim invertase dapat diproduksi dari tanaman ataupun mikroorganisme. Mikroorganisme lebih dipilih karena biaya yang lebih murah, proses produksi cepat dan mudah dimodifikasi. Salah satu jenis mikroorganisme penghasil invertase yaitu *Aspergillus niger*. Enzim invertase memiliki karakteristik yang berbeda bergantung pada lingkungan mikroorganisme berasal. Aktivitas optimal enzim invertase berada pada kisaran suhu 25-60°C dan pH 4.00-5.50 Metode fermentasi yang sering digunakan dalam memproduksi invertase ada dua macam, yaitu *Submerged* (SmF) dan *Solid State Fermentation* (SSF). Produksi invertase ekstraselular dengan metode SSF lima kali lebih tinggi dibandingkan dengan produksi invertase dengan metode SmF.

Kata Kunci: *Aspergillus niger*, Invertase, *Submerged Fermentation*, *Solid State Fermentation*

ABSTRACT

The enzyme invertase is one type of hydrolase enzymes that can hydrolyze sucrose into glucose and fructose. The enzyme invertase has been widely used in industry for the production of invert sugar. Invert sugar used as an ingredient for chocolate products, candy, jam, honey, artificial, and manufacture of invert syrup (HFS). The enzyme invertase is also used in the fermentation of molasses into ethanol. Invertase enzyme can be produced from plants or microorganisms. Microorganisms are preferred because of lower cost, faster production process and easily modified. One type invertase-producing microorganism is Aspergillus niger. Invertase enzymes have different characteristics depending on the environment of microorganisms derived. Optimal activity of the enzyme invertase in the range of temperature 25-60°C and pH 4.00-5.50 Fermentation method that is often used in the production of invertase are of two kinds, namely Submerged (SMF) and Solid State Fermentation (SSF). Ekstraselular invertase production by SSF method five times higher than the production of invertase by SMF method.

Keywords: *Aspergillus niger*, Invertase, *Submerged Fermentation* (SmF), *Solid State Fermentation* (SSF)

PENDAHULUAN

Invertase atau β -fructofuranosidase (E.C.3.2.1.26) merupakan enzim yang dapat menghidrolisis disakarida sukrosa menjadi monosakarida glukosa dan fruktosa [1]. Invertase dapat dihasilkan dari beberapa mikroorganisme, seperti *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zymomonas mobilis* dan lain-lain. Pada *Aspergillus niger*, invertase dapat dihasilkan secara intraseluler maupun ekstraseluler [2]. Sel utuh *Aspergillus sp.* diketahui dapat menghasilkan invertase (β -fructofuranosidase). Invertase memiliki aktivitas hidrolisis dan transfruktosilasi yang dapat dikontrol aktivitasnya sebagai kondisi reaksi (pH, suhu, dan konsentrasi sukrosa)[3].

Invertase digunakan dalam berbagai industri, seperti industri makanan (coklat, permen, selai, dan madu buatan), minuman (*soft drink*), pembuatan sirup invert, asam laktat dan etanol[1]. Karena banyak diaplikasikan dalam berbagai industri, maka permintaan dan produksi invertase meningkat[4].

Invertase dapat digunakan untuk menghidrolisis sukrosa, rafinosa, maupun stakhiosa, tetapi aktivitas tertinggi pada hidrolisis sukrosa [5]. Hidrolisis sukrosa menjadi sirup invert dapat dilakukan dengan asam maupun dengan invertase. Hidrolisis dengan invertase memberikan keuntungan, antara lain koefisiensi konversi sukrosa menjadi sirup invert dapat mencapai hampir 100% menggunakan suhu rendah sehingga biaya dibutuhkan rendah, lebih murni dan menghasilkan produk yang berkualitas[6][7].

Produksi enzim invertase dapat menggunakan dua metode fermentasi yaitu metode *Solid State Fermentation* (SSF) dan *Submerged* (SmF). Produksi enzim dengan metode *Solid State Fermentation* (SSF) memiliki keunggulan dibandingkan dengan *Submerged* (SmF) sehubungan dengan kesederhanaan dalam operasi, produktivitas fermentasi yang tinggi, dan rendahnya kemungkinan untuk kontaminasi. Sehingga dalam produksi invertase metode *Solid State Fermentation* (SSF) sering digunakan.

KAJIAN PUSTAKA

1. Enzim Invertase

Invertase (Sakarase; Sukarase; β -fructosidase; β -D-fructofuranoside fructohydrolase; EC 3.2.1.26) adalah suatu enzim yang menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Hasil hidrolisisnya berupa glukosa dan fruktosa yang rasanya sangat manis, dan biasanya digunakan sebagai zat pemanis [8]. Enzim tersebut disebut invertase karena pada hasil hidrolisisnya terjadi invertasi, yaitu perubahan arah putaran optik. Reaksi invertasi atau hidrolisis sukrosa (Gambar 1).



Gambar 1. Hidrolisis Sukrosa oleh Invertase [9]

Invertase termasuk dalam kelas enzim hidrolase. Beberapa enzim tersebut bekerja dengan memecah dan membelokkan ikatan hidrogen pada waktu yang bersamaan. Mengakibatkan satu dari jenis gula yang dilepaskan mengalami perubahan konfigurasi dari α menjadi β [10]. Enzim ini stabil pada kisaran pH 4-5,5, suhu $50^{\circ}C$.

2. Mikroorganisme Penghasil Invertase

Invertase dapat dihasilkan dari berbagai macam organisme, seperti pada kapang: *Aspergillus niger* [1], *A.caepitosus* [8], *A.ochraceus* [11], *Cladosporium cladosporioides* [12], *A.versicolor*, *C.herbarum*, *Mortierella minutissima*, *Penicillium chrysogenum*, *Sclerotium sp* [13], khamir: *Candida utilis*[14], *Saccharomyces cerevisiae* [15,16] bakteri: *Bacillus macerans* [17], *Zymomonas mobilis*, maupun tanaman: tomat/*Lycopersicon esculentum*, kurma/ *Phoenix dactylifera* [18], padi/ *Oryza sativa* [19].

Tabel 1. Aktivitas Invertase Beberapa Mikroorganisme

Golongan	Nama	Kondisi			Metode	Aktivitas
		pH	Suhu	Lama fermentasi		
Yeast	<i>S. cerevisiae</i> ¹	5.50	25 ⁰ C	48 jam	SmF	90.00 unit
Kapang	<i>Aspergillus oryzae</i> ¹	5.50	30 ⁰ C	72 jam	SSF	39.00 unit
	<i>Aspergillus niger</i> ²	4.00	30 ⁰ C	48 jam	SSF	2677.00 U/l
	<i>Aspergillus niger</i> ³	4.50	30 ⁰ C	72 jam	SSF	81.80 U/l per h
	<i>Aspergillus niger</i> ⁴	5.50	30 ⁰ C	72 jam	SmF	26.96 IU/ml
	<i>Aspergillus niger</i> ³	5.00	30 ⁰ C	120 jam	SmF	18.30 U/L.h
	<i>Aspergillus flavus</i> ⁵	5.00	30 ⁰ C	96 jam	SmF	18.00 IU/ml
	<i>Aspergillus caespitosus</i> ⁴	4.00	60 ⁰ C	72 jam	SmF	301.00 unit
	<i>Pseudozyma sp.</i> ⁶	4.00	50 ⁰ C	72 jam	SmF	5204.00 unit

Sumber: ¹[20], ²[21], ³[22], ⁴[8], ⁵[23], ⁶[24]

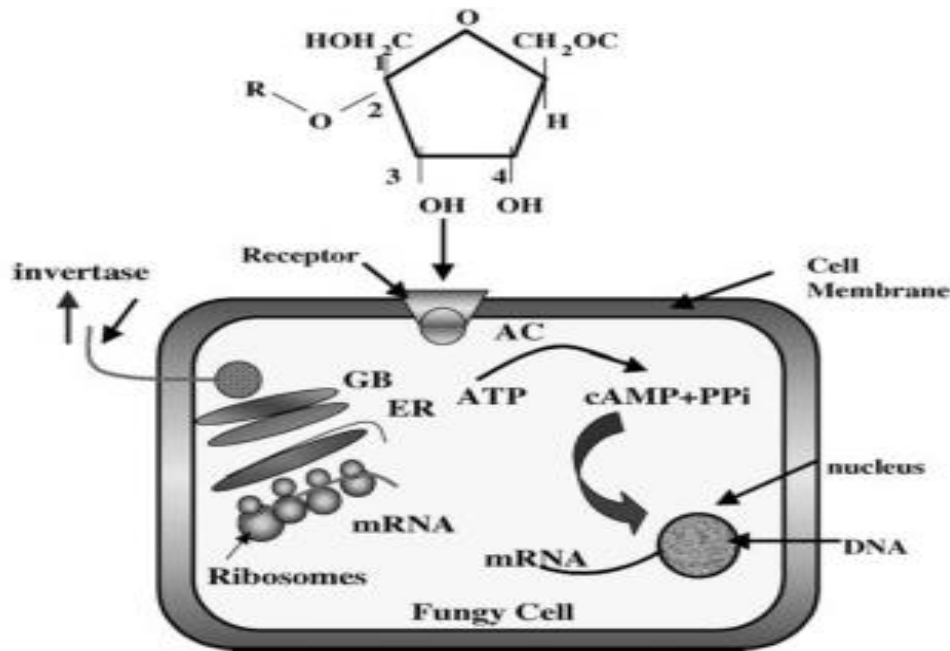
Telah banyak pelaporan tentang enzim invertase yang dihasilkan oleh yeast maupun fungi memiliki kisaran aktivitas enzim pada suhu 25⁰-90⁰ C dengan pH antara 4.00 sampai 5.50 (Tabel 1). Aktivitas invertase tertinggi pada *Aspergillus niger* dengan menggunakan metode *Solid State Fermentation* (SSF) dapat mencapai 2677 U/l. Mikroorganisme yang memproduksi invertase menggunakan sukrosa sebagai satu-satunya sumber karbon sekaligus sebagai induser untuk enzim ini[9].

Aspergillus niger

Salah satu mikroorganisme jenis kapang penghasil invertase yaitu *Aspergillus niger*. Pada *Aspergillus niger*, invertase dapat dihasilkan secara intraseluler (di dalam sel) maupun ekstraseluler (di luar sel)[2][1]. Invertase intraseluler mempunyai berat molekul 135000 dalton sedangkan invertase ekstraseluler mempunyai berat molekul 270000 dalton [25].

Untuk memenuhi kebutuhan metabolisme, *Aspergillus niger* membutuhkan nutrisi. Salah satu sumber nutrisi bagi *Aspergillus niger* yaitu sumber C. Sukrosa salah satu sumber C, bertindak sebagai induser. Gambar 2 menunjukkan bahwa sukrosa yang berada di luar sel memberikan sinyal kepada *Aspergillus niger*. Sukrosa terlebih dahulu dipecah menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk dapat masuk kedalam membrane sel, yaitu dengan bantuan enzim invertase. Dalam membran sel, DNA memberikan sinyal kepada mRNA untuk mengkode terbentuknya asam-asam amino penyusun enzim invertase. Ribosom merupakan tempat penyusunan terbentuknya invertase. Setelah invertase terbentuk, invertase

disekresikan keluar membran sel untuk membantu pemecahan sukrosa. Proses pembentukan invertase akan terus berjalan, apabila masih terdapat nutrisi terutama sumber karbon.



Gambar 2. Mekanisme *Aspergillusniger*Menghasilkan Invertase [25]

3. Kelebihan *Solid State Fermentation* (SSF) Dibandingkan *Submerged Fermentation* (SmF)

Metode fermentasi yang sering digunakan dalam produksi invertase ada dua macam, yaitu *Solid State Fermentation* (SSF) dan *Submerged* (SmF). *Solid State Fermentation* (SSF) merupakan salah satu metode fermentasi, dimana mikroorganisme yang tumbuh pada substrat padat dengan kadar air yang rendah. Metode ini cocok untuk golongan jamur berfilamen. Substrat yang digunakan umumnya terdiri dari produk sampingan nabati atau berasal dari limbah pertanian seperti *beet pulp*, dedak gandum, bagase tebu, sekam padi dan limbah kulit nanas[8]. Substrat yang digunakan dalam SSF biasanya merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, dan mengandung komponen penting seperti C dan N. Komponen tersebut digunakan sebagai sumber nutrisi untuk menghasilkan metabolit yang diinginkan.

Submerged Fermentation (SmF) merupakan salah satu metode fermentasi dengan menggunakan substrat cair. Penambahan maupun penggantian nutrisi dalam media *Submerged Fermentation* (SmF) berjalan kontinyu. Teknik fermentasi ini paling cocok untuk mikroorganisme seperti bakteri yang membutuhkan kadar air yang tinggi[8].

Dibandingkan dengan *Submerged* (SmF), *Solid State Fermentation* (SSF) lebih hemat biaya, konsumsi air yang lebih rendah, mengurangi biaya pengolahan air limbah dan konsumsi energi yang lebih rendah[1][26], tingkat produktivitasnya tinggi, tekniknya sederhana, *recovery* produknya lebih baik, dan busa yang terbentuk sedikit. SSF lebih cocok digunakan di negara-negara berkembang[26].

Murahnya harga residu pertanian dan agro-industri merupakan salah satu sumber yang kaya akan energi yang dapat digunakan sebagai substrat dalam sistem fermentasi padat. Fakta menunjukkan bahwa residu ini merupakan salah satu sumber karbon terbaik yang ada di alam. Dalam SSF substrat padat tidak hanya menyediakan nutrient bagi kultur tetapi juga sebagai tempat penyimpanan air untuk sel mikroba[1].

Faktor utama yang mempengaruhi sintesis mikroba dalam sistem SSF meliputi; pemilihan substrat yang cocok, jenis mikroorganisme, ruang antar partikel dan luas

permukaan substrat, kadar air substrat, kontrol suhu fermentasi, kebutuhan O₂ dan lama fermentasi[27].

4. Aplikasi Invertase Dalam Industri

Enzim invertase dapat diaplikasikan pada industri pangan maupun non-pangan. Hidrolisis substrat sukrosa dengan enzim invertase dapat menghasilkan produk berupa glukosa dan fruktosa yang bermanfaat. Monosakarida berupa glukosa dan fruktosa dapat digunakan untuk produksi gula invert. Gula invert memiliki cita rasa yang lebih manis dibandingkan sukrosa, selain itu gula invert dapat mempertahankan tekstur, memperbaiki rasa dan warna produk makanan dan minuman [28]. Produk gula invert berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan pembuatan coklat, permen, selai, madu buatan, minuman (*soft drink*) dan sirup[1].

Akhir-akhir ini enzim invertase banyak digunakan industri untuk pembuatan *High Fructose Syrup* (HFS) [1]. HFS merupakan gula invert yang dipekatkan. Pembuatan HFS dapat dilakukan melalui proses enzimatik atau kimiawi [14]. Proses enzimatik menggunakan invertase sedangkan kimiawi menggunakan senyawa kimia asam pada 75°C sampai 80°C. Produksi HFS dari sukrosa oleh invertase menghasilkan produk lebih berkualitas dan menguntungkan dari pada oleh senyawa kimia asam. HFS yang diproduksi dengan bantuan invertase tidak mudah mengalami kristalisasi, tidak terbentuk produk samping berupa furfural atau hidroksimetilfurfural yang menyebabkan warna sirup kurang menarik, lebih hemat energi, dan lebih ramah lingkungan [29, 30, 31].

Aplikasi invertase dalam industri non pangan, seperti pembuatan *plasticizing agent* yang digunakan dalam kosmetik, dan sebagai bahan untuk pembuatan kertas. Baru-baru ini invertase telah menemukan aplikasi di bidang analisis untuk pembangunan biosensor sukrosa [32, 33]. Selain itu invertase juga digunakan dalam fermentasi molase menjadi etanol [34].

SIMPULAN

Invertase merupakan salah satu enzim yang dapat menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Invertase dapat diperoleh dari *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* dipilih karena mikroorganisme jenis ini mudah ditumbuhkan, aman untuk penggunaannya, dan aktivitas enzim yang dihasilkan tinggi. Metode fermentasi yang sering digunakan ada dua jenis, *Solid State Fermentation* (SSF) dan *Submerged Fermentation* (SmF). SSF jauh lebih unggul dari SmF. Keuntungan dari sisi ekonomi diantaranya adalah medium fermentasi yang lebih murah (berasal dari limbah pertanian), peralatan dan pengaturan operasi sederhana, jumlah produk yang dihasilkan lebih tinggi, kebutuhan energi yang rendah, proses *scaling up* yang lebih mudah, stabilitas produk yang lebih tinggi dan pengendalian kontaminasi lebih mudah karena rendahnya kadar air saat fermentasi berlangsung. Invertase juga banyak diaplikasikan di industri, terutama industri pangan untuk pembuatan gula invert dan HFS.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Aranda, C., A. Robledo., O. Loera., J. C. Contreras-Esquivel., R. Rodriguez., C. N. Aguilar. 2006. Fungal Invertase Expression In Solid-State Fermentation. *Food Technology Biotechnology*, 44 (20): 229-233
- 2) Sirisansaneeyakul, S., S. Jitbanjongkit., N. Prasomsart., P. Luangpituksa. 2000. Production of β -Fructofuranosidase from *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Kasetsart Journal (Natural Sciences)*, 34: 378-386
- 3) Gibson, G.R. & Robertford, M.B. 2008. Handbook of prebiotics Boca Raton, USA, CRC Press Taylor & Francis Group.

- 4) Triantarti, Herayati E.M, Aris Toharisman, dan Agustin Krisna W. 2011. Imobilisasi Invertase Dalam Sel Basah *Aspergillus niger* Inv-2 ISRI dengan Ikatan Silang Menggunakan Glutaraldehyd. *MPG Vol 47 No 2*: 109-118
- 5) Slominski, B.A. 2006. Hydrolysis of galaktooligosaccharides by commercial preparations of alpha-galactosidase and beta-fructofuranosidase: potential for use as dietary additives. *J.Sci. Food Agric.*, 65(3), 323-330
- 6) Ensymm. 2007. Abstract for Enzymatic Production of Invert Sugar. Ensymm company. Dusseldorf. Germany.
- 7) Vu, T.K.H. & Le, V.V.M. 2008. Biochemical Studies On The Immobilization Of The Enzyme Invertase (EC.3.2.1.26) In Alginate Gel And Its Kinetic. *ASEAN Food Journal*, 15(1):73-78
- 8) Ana Claudia Paiva Alegre, Maria de Lourdes, Hector Francisco Terenzi, Joao Atilio Jorge, Luis Henrique. 2009. Production of thermostable Invertase By *Aspergillus Caespitosus* Under Submerged or Solid State Fermentation Using Agroindustrial Residues As Carbon Source. *Brazilian Journal of Microbiology* 40:612-622
- 9) Untara, Bayu, 2011. Pengaruh Carboxyl Benzene dan Monounsaturated Fatty Acid (Buffer Sucrose) Terhadap Jumlah Mikroorganisme dan Aktivitas Enzim Invertase Selama Penyimpanan Tebu Pasca Panen (Kajian Lama Penundaan Dan Konsentrasi Buffer Sucrose). Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- 10) Wang, 2002. Enzyme Kinetics of Invertase Via Initial Rate Determination. Department of Chemical Engineering, University of Maryland, College Park, Maryland.
- 11) Guimaraes, L. H. S., A. F. Somera., H. F. Terenzi., M. de L. T. de M. Polizeli, J. A. Jorge. 2009. Production Of β -Fructofuranosidases By *Aspergillus Niveus* Using Agroindustrial Residues As Carbon Sources: Characterization Of An Intracellular Enzyme Accumulated In The Presence Of Glucose. *Process Biochemistry*, (44): 237-241
- 12) Almeida, A. C., L. C. de Araujo., A. M. Costa., C. A. M. de Abreu., M. A. G. de Andrade Lima., M. de L. A. P. F. Palha. 2005. Sucrose hydrolysis catalyzed by auto-immobilized invertase into intact cell of *Cladosporium cladosporioides*. *Electronic Journal of Biotechnology*, (8): 54-62
- 13) Skowronek, M., J. Kuszevska., J. Fiedurek., A. Gromada. 2003. Invertase Activity Of Psychrotrophic Fungi. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska*. Vol LVII section C. Department of Industrial Microbiology, Lublin Poland.
- 14) Belcarz, A., G. Ginalska., J. Lobarzewski. 2002. Immobilized, thermostable S- and F-form of the extracellular invertase from *Candida utilis* Can Hydrolyse Sucrose Up to 100°C. *Biotechnology Letters*, (24): 1993-1998
- 15) Ikram-ul-Haq., S. Ali. 2007. Kinetics Of Invertase Production By *Saccharomyces Cerevisiae* In Batch Culture. *Pakistan Journal Botany*, 39(3): 907-912
- 16) Amaya-Delgado L., M.E. Hidalgo-Lara and M.C. Montes-Horcasitas, 2006. Hydrolysis Of Sucrose By Invertase Immobilized On Nylon-6 Microbeads. *Food Chem*, 99: 299-304.
- 17) Ahmed, S. A. 2008. Invertase Production By *Bacillus macerans* Immobilized On Calcium Alginate Beads. *Journal of applied Science Research*, 4(12):1777-1781
- 18) Al-Bakir And J. R. Whitaker. 2007. Purification And Characterization Of Invertase From Dates (*Phoenix Dactylifera* L., Var. Zahdi). *Journal of Food Biochemistry* Volume 2, Issue 2, pages 133–160
- 19) Isla MI, Salerno G, Pontis H, Vattuone MA, Sampietro AR. 1995. Purification And Properties Of The Soluble Acid Invertase From *Oryza Sativa*. *Phytochemistry* 38, 321–325. DOI: 10.1016/0031-9422(94)00613-X
- 20) Poonawalla F.M, K.L. Patel, and M.R.S. Lyengar. 1965. Invertase Production by *Penicillium chrysogenum* and Other Fungi in Submerged Fermentation. *American Society for Microbiology*. Vol 13 No 5

- 21) Gonzalez M.M, Fernandez F.J, Gonzalez. V., 2002. Invertase Production on Solid State Fermentation by *Aspergillus niger* Strain Improved by Parasexual Recombination. *Applied Biochemistry and Biotechnology* Vol 02-103.
- 22) Balasubramaniam. K, Kayal V. N, and Gunasekaran. P, 2001. Optimization of Media For β -fructofuranosidase Production By *Aspergillus niger* in submerged and Solid State Fermentation. Department of Microbial Technology, School of Biological
- 23) Uma, D. Gomathi, C. Muthulakshmi and V.K. Gopalakrishnan. 2010. Production, Purification and Characterization of Invertase by *Aspergillus flavus* Using Fruit Peel Waste as Substrate. Department of Biochemistry, Karpagam University Coimbatore-641 021, India. *Advances in Biological Research* 4 (1): 31-36
- 24) Tamio Mase, Hirose Etsuko, Shimizu Kana, Uchikawa Eri. 2009. Isolation, Characterization and A Application of Invertase From *Pseudozyma* sp 1-8. 嵯山女学園大学研究論集第 40 号 (自然科学篇)
- 25) Kuswuri, Risvank. 2009. Kehilangan Gula (Sukrosa) Pada Proses Pembuatan Gula Tebu. Diakses 20 Mei 2014. ([http:// www.risvank.com?p=398](http://www.risvank.com?p=398)).
- 26) Judoamidjojo, R.M., A.D. Abdul, dan R.S. Endang. 1989. Biokonversi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi PAU Bioteknologi IPB. Bogor
- 27) Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021, India
- 28) Maxinvert. 2006. Maxinvert The Leading Brand Of Invertase Worldwide. DSM Food Specialties, Delft, The Netherlands
- 29) Queiroz, A. A. A. de L.F. Pontin., O. Z. Higa., M. T. C. P. Ribela., E. J. Tomotani., M. Vitolo. 2005. Invertase immobilization by absorption on polymerspheres studied by radioiodination technique. Internasional Nuclear Atlantic Conference Santos Brazil.
- 30) Emregul, E., S. Sungur., U. Akbulut. 2006. Polyacrylamide-gelatine carrier system used for invertase immobilization. *Food Chemistry*
- 31) Tomotani, E. J., M. Vitolo. 2006. Method for immobilizing invertase by absorption on Dowex anionic exchange resin. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, (42):245-249
- 32) Kotwal SM, Shankar V (2009). Immobilized Invertase. *Biotechnol. Adv.*,27: 311-322)
- 33) Bagal DS, Vijayan A, Aiyer RC, Karekar RN, Karve MS (2007). Fabrication of sucrose biosensor based on single mode planar optical wave guide using coimmobilized plant invertase and GOD. *Biosens. Bioelectron.*, 22: 3072–9.
- 34) Shafiq, K., S. Ali., Ikhrum-ul-Haq. 2002. Effect of different mineral nutrients on invertase production by *Saccharomyces cerevisiae* GCB-K5. *Biotechnology*, (1): 40-44