

PENGARUH SUPLEMENTASI ASAM LEMAK VOLATIL BERCABANG TERHADAP KANDUNGAN GULA REDUKSI DAN ASAM AMINO BERCABANG SUBSTRAT YANG DIFERMENTASI MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae*

(The Effects of Branched Chain Volatile Fatty Acids on Reduced Sugar and Branched Chain Amino Acid Concentration of Substrates that Fermented by *Aspergillus oryzae*)

**Fransisca Maria Suhartati dan Wardhana Suryapratama
Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto**

ABSTRACT

A study was conducted to know the reduced sugar and branched chain amino acids concentration in substrate that fermented by *Aspergillus oryzae*. Branched chain amino acids represent amino acids that are very important for microorganism development, including yeast and ruminal microorganism as well as for the growth of the ruminant animal. The study was conducted using Completely Randomized Design (CRD). There were five kinds of supplements that were added into the media. So, that this experiment were A: control, B: A + 0.5% urea, C: B + 1% extract of cassava leaves, D: C + 1% isobutyrate, and E: D + 1.3% 2-methylbutyrate. There were five replicates in each treatment. The measured variables in these study were, colonies cell biomass of *A. oryzae*, reduced sugar, Crude Protein, and branched chain amino acid concentration. The results showed that the highest number of colonies, concentration of reduce sugar, and concentration of branched chain amino acids was obtain from the substrate of treatments D.

Key words: Branched Chain Amino Acids, Branched Chain Volatile Fatty Acids, *Aspergillus oryzae*,

PENDAHULUAN

Asam amino valin, leusin dan isoleusin merupakan asam amino bercabang yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan organisme hidup, termasuk kapang dan bakteri rumen. Kerangka karbon asam amino tersebut dapat berasal dari asam lemak volatil bercabang, yaitu asam isobutirat, 2-metilbutirat, dan alfa-metilbutirat (Erwanto, 1995). Hasil penelitian Suryapratama (1999) membuktikan bahwa suplementasi asam lemak volatil bercabang pada rumen sapi Holstein meningkatkan pertumbuhan bakteri rumen, namun pemberian asam lemak volatil bercabang yang langsung diinfusikan ke dalam rumen tidak praktis dan harganya mahal, sehingga perlu dicari bahan

pengganti yang murah dan mudah didapat. Bahan tersebut dapat berasal dari kapang *Aspergillus oryzae* yang bersifat bioaktif, mengandung asam amino bercabang dalam kadar yang tinggi.

Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh suplementasi asam lemak bercabang terhadap jumlah koloni *A. oryzae*, kandungan gula reduksi dan asam amino bercabang substrat yang difermentasi menggunakan *A. oryzae*.

Adapun manfaat penelitian yaitu memberi kontribusi terhadap ilmu pengetahuan dan dapat memberikan masukan untuk memproduksi asam amino bercabang melalui fermentasi menggunakan *A. oryzae* sebagai nutrisi protein hewan ruminansia.

METODE PENELITIAN

Materi

Sebagai materi perlakuan digunakan tepung beras yang difermentasi menggunakan *Aspergillus oryzae*.

Metode

Percobaan dilakukan menggunakan metode eksperimen *in vitro*, dengan Rancangan Acak Lengkap. Sebagai perlakuan yaitu lima macam suplemen yang ditambahkan ke dalam media beras, yaitu A = kontrol tanpa penambahan, B = A + 0,5% urea (w/w), C = B + 1% ekstrak daun singkong (v/w), D = C + 1% isobutirat (v/w), dan E = D + 1,3% 2-metilbutirat (v/w), dengan demikian terdapat lima macam perlakuan yang diuji. Masing-masing perlakuan diulang lima kali. Sebagai kapang biakan murni adalah *A. oryzae*. Sebelum difermentasi, media inokulum disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 20 menit. Kapang *A. oryzae* yang diinokulasikan mengandung spora 10^6 - 10^8 /ml inokulum, dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 35 °C selama 5 x 24 jam.

Peubah yang Diukur

Peubah yang diukur adalah jumlah koloni *A. oryzae*, kadar gula reduksi dengan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji *et al.*, 1997), kadar protein dengan metode Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1997), kadar asam amino bercabang dengan metode HPLC khusus, melalui deteksi *Ninhydrin Postcolumnreaction*

menggunakan alat *High Speed Amino Acid Analyzer* Hitachi Model 835. Kecepatan alir : 0,225 ml/min (buffer) dan 0,3 ml/min (Ninhydrin). Kolom : *cation exchanger* 4,6 x 150 nm, suhu 53 °C. Resin Ammonia 4 x 5,0 nm. Deteksi: pereaksi warna Ninhidrin (suhu 96 °C) post column. Reaksi diamatai pada 9 570 nm (*channel* 1) semua asam amino berwarna keunguan, kecuali prolin pada 9 440 nm (*channel* 2) warna kekuningan. Pengamatan asam amino dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji orthogonal kontras (Steel dan Torrie, 1980)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis proksimat (Tabel 1) menunjukkan bahwa semakin lengkap penambahan sumber kerangka karbon, kandungan protein substrat juga meningkat, sesuai dengan peningkatan jumlah koloni *Aspergillus oryzae* dengan persamaan $Y = 8.59 + 0.02 X$ ($r^2 = 0.69$) Kenaikan tersebut sesuai dengan pendapat Winarno *et al.* (1980) yaitu bahwa dalam proses fermentasi, jumlah mikroorganisme diperbanyak dan meningkatkan metabolisme di dalam substrat, sehingga substrat mempunyai nilai gizi yang lebih tinggi daripada bahan asalnya (dalam hal ini protein).

Tabel 1. Analisis Proksimat Substrat Tepung Beras Hasil Fermentasi *A. oryzae*

Perlakuan	Kadar Air (%)	Kadar Bahan Kering (%)	Kadar Protein Kasar (% BK)
A	28,26	71,74	9,80
B	33,38	66,62	10,30
C	29,91	70,09	10,36
D	33,68	66,32	10,50
E	28,16	71,84	12,34

Hasil pengukuran gula reduksi menunjukkan bahwa rata-rata gula reduksi berkisar dari $13,84 \pm 0,58$ ppm sampai dengan $18,17 \pm 0,85$ ppm (tabel 2). Berdasarkan analisis ragam ternyata perlakuan yang diuji berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap rata-rata gula reduksi.

Uji orthogonal kontras menunjukkan bahwa gula reduksi yang dihasilkan oleh substrat tepung beras yang mendapat perlakuan D-E ($17,29$ ppm) sangat nyata lebih tinggi ($P < 0,01$) daripada gula reduksi yang dihasilkan oleh substrat tepung beras yang mendapat perlakuan A-B-C ($15,43$ ppm). Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan asam isobutirat dan 2-metilbutirat akan mampu

meningkatkan fermentasi sehingga meningkatkan gula reduksi yang dihasilkan. Fenomena tersebut sesuai dengan jumlah koloni *A. oryzae* yang dihasilkan, yaitu 175×10^6 koloni/ml vs $92,67 \times 10^6$ koloni/ml.

Suplementasi urea (perlakuan B), dan suplementasi ekstrak daun singkong (perlakuan C) dapat meningkatkan gula reduksi bila dibandingkan dengan perlakuan tanpa suplementasi (perlakuan A). Seperti telah diuraikan sebelumnya bahwa peningkatan gula reduksi sebagai akibat dari meningkatnya jumlah koloni *A. oryzae*, yaitu 85×10^6 koloni/ml dan 130×10^6 koloni/ml vs 63×10^6 koloni/ml.

Tabel 2. Jumlah Koloni *Aspergillus oryzae* dan Kandungan Gula Reduksi Substrat

Perlakuan	Jumlah koloni ($\times 10^6$ /ml)	Gula reduksi (ppm)
A	63 ± 5	$13,84 \pm 0,58$
B	85 ± 7	$16,45 \pm 0,78$
C	130 ± 12	$15,99 \pm 0,60$
D	180 ± 9	$18,17 \pm 0,85$
E	170 ± 14	$16,39 \pm 2,07$

Peningkatan jumlah koloni tersebut sebagai akibat adanya urea yang merupakan sumber nitrogen bagi kapang. Penambahan ekstrak daun singkong pada substrat tepung beras yang sudah mendapat urea tidak mampu meningkatkan gula reduksi. Selain hal tersebut, suplementasi 2-metilbutirat menurunkan gula reduksi. Penurunan gula reduksi tersebut (perlakuan E) sejalan dengan penurunan jumlah koloni *A. oryzae* (Tabel 2). Hal ini diduga

karena dengan adanya suplementasi 2-metilbutirat menimbulkan pengaruh antagonis terhadap perkembangan kapang *A. oryzae*.

Hasil analisis asam amino yang dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya menunjukkan bahwa penambahan urea (perlakuan B) dapat meningkatkan kandungan asam amino valin, leusin, isoleusin dan total asam amino (Tabel 3).

Tabel 3. Asam Amino Hasil Fermentasi *A. oryzae* Pada Substrat Tepung Beras

Asam amino	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
	-----		%	-----	
Valin	0,357	0,388	0,295	0,451	0,303
Leusin	0,689	0,827	0,599	0,890	0,676
Isoleusin	0,356	0,387	0,294	0,392	0,250
Metionin	0,011	0,070	0,031	0,039	0,027
Arginin	0,418	0,444	0,359	0,579	0,325
Treonin	0,283	0,343	0,236	0,366	0,279
Tirosin	0,315	0,375	0,281	0,421	0,277
Histidin	0,134	0,158	0,116	0,178	0,115
Lisin	0,283	0,330	0,235	0,325	0,259
Fenilalanin	0,331	0,396	0,286	0,428	0,273
Aspartat	0,580	0,677	0,479	0,774	0,532
Serin	0,341	0,420	0,291	0,041	0,315
Glisin	0,324	0,379	0,265	0,410	0,286
Sistein	0,070	0,065	0,070	0,069	0,069
Glutamin	1,364	1,608	1,146	1,823	1,158
Alanin	0,425	0,488	0,347	0,545	0,360
Prolin	0,287	0,350	0,257	0,388	0,249
Jumlah	7,181	8,109	5,906	8,968	6,118

Hal tersebut membuktikan bahwa urea yang merupakan sumber nitrogen bukan protein dapat dimanfaatkan oleh *A. oryzae* untuk membentuk asam amino. Berbeda dengan penambahan urea, penambahan ekstrak daun singkong (perlakuan C) justru menurunkan kandungan ketiga asam amino tersebut dan asam amino total. Hal tersebut diduga karena ekstrak daun singkong mengandung suatu zat yang menghambat sintesis asam amino bercabang. Walaupun demikian, hambatan tersebut dapat dinetralkan oleh penambahan isobutirat (perlakuan D). Penambahan tersebut mengakibatkan kandungan asam amino valin, leusin, isoleusin dan asam amino total meningkat dan lebih tinggi daripada keempat perlakuan yang lain. Russell dan Sniffen (1984), maupun Gorosito *et al.* (1985) menyatakan bahwa asam lemak volatil bercabang (*branched-chain fatty acids* = *BCFA*) atau asam alfa-ketonya (Sutardi, 1976) diantaranya isobutirat merupakan prekursor untuk sintesis protein mikroorganisme rumen. Rantai karbon dari asam lemak volatil bercabang tersebut digunakan oleh bakteri selulolitik untuk sintesis asam amino valin, leusin dan isoleusin. Tidak berbeda halnya dengan mikroorganisme rumen, meningkatnya kandungan ketiga asam amino tersebut pada substrat yang ditumbuhi oleh *A. oryzae* diduga juga karena kerangka karbon asam lemak iso butirat dimanfaatkan oleh kapang *A. oryzae* untuk sintesis asam amino bercabang. Namun demikian penambahan 2-metilbutirat justru menurunkan kandungan ketiga asam amino tersebut. Hal tersebut diduga karena pasokannya tidak memperhatikan

rasio kebutuhan *A. oryzae* terhadap asam lemak tersebut, sehingga pasokan sebesar 1,3% 2-metilbutirat menyebabkan antagonisme diantara kedua asam lemak tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa jumlah koloni kapang *A. oryzae*, produksi gula reduksi, kadar protein, sintesis asam amino bercabang valin, leusin dan isoleusin tertinggi dicapai oleh substrat tepung beras yang ditambah urea 0,5%, ekstrak daun singkong 1%, dan asam isobutirat 1%.

Untuk memproduksi bahan bioaktif (kapang *A. oryzae*) yang mengandung asam amino bercabang dapat menggunakan substrat tepung beras yang ditambah urea 0,5%, ekstrak daun singkong 1%, dan asam isobutirat 1%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya disampaikan kepada Proyek Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar atas kesempatan dan kepercayaannya kepada Tim Peneliti untuk melaksanakan kegiatan penelitian dengan No Kontrak : 15/P2IPTD/DPPM/III/2001 tanggal 15 Maret 2001.

DAFTAR PUSTAKA

- Erwanto, 1995. Optimalisasi Sistem Fermentasi Rumen Melalui Suplementasi Sulfur, Defaunasi, Reduksi Emisi Metan dan Stimulasi Pertumbuhan Mikroba pada Ternak Ruminansia. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

- Gorosito, A.R., J.B. Russell and P.J. Van Soest, 1985. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on digestion of plant cell wall in vitro. *J. Dairy Sci.* 68: 840.
- Russell, J.B. and C.J. Sniffen, 1984. Effect of carbon-4 and carbon-5 volatile fatty acids on growth of mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 67: 987.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie, 1980. Prinsip dan Prosedur Statistika. *Terjemahan oleh* : Bambang Sumantri. 1993. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, 1997. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta
- Suryapratama, W., 1999. Efek Suplementasi Asam Lemak Volatil Bercabang dan Kapsul Lisin serta Treonin Terhadap Nutrisi Protein Sapi Holstein. Disertasi. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Sutardi, T., 1976. Metabolism of Some Essential Amino Acids by Rumen Microbes with Special Reference to α -Keto Acids. Ph.D. Dissertation. University of Wisconsin, Madison.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz, 1980. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Gramedia, Jakarta.