

FERMENTASI ALFA AMILASE DARI *ASPERGILLUS ORYZAE* PADA MEDIA SAGU METROXYLON

Yetti M. Iskandar*, Dine Agustine**, A. Sidik**, Linar Z.Udin* dan A.T. Karossi*

*Puslitbang Kimia Terapan - LIPI, Jalan Cisitu Bandung 40135

**Jurusan Kimia, FMIPA - UNPAD, Bandung

INTISARI

Alfa amilase adalah enzim ekstraselular yang dapat diperoleh antara lain dari kapang *Aspergillus oryzae*. Telah dilakukan produksi alfa amilase dalam media fermentasi yang mengandung pati sago (*Metroxylon sp*) dalam fermentor dengan skala 600 ml, 800ml, dan 1500 ml. Fermentasi berlangsung dalam kondisi aerob pada suhu 30°C dan waktu inkubasi berlangsung selama 7 hari sampai 9 hari. Hasil pengamatan yang diperoleh pada hari ke 3 menunjukkan bahwa aktifitas spesifik enzim tertinggi yang ditentukan pada 40°C dengan waktu inkubasi 30 menit, diperoleh sebesar 1096 U/g protein untuk skala 600 ml, 963 U/g protein untuk skala 800 ml dan sebesar 810 U/g protein untuk skala 1500 ml. Pada keadaan ini pati yang digunakan untuk pertumbuhan mencapai 69% (skala 600 ml dan 800 ml) dan 71% (skala 1500 ml). Produksi biomasanya adalah 6,03 g kering/L media (skala 600 ml), 4,03 g kering /L media (skala 800 ml) dan 5,66 g kering /L media (skala 1500 ml).

ABSTRACT

Alpha amylase is an extracellular enzyme which can be obtained from *Aspergillus oryzae* fermentation. The production of the alpha amylase in fermentation of sago starch media (*Metroxylon sp*) in 600, 800 and 1500 ml scale at 30°C for 7 to 9 days in aerobic condition has been conducted. The observations at day-3 indicated that the maximum enzyme specific activity assayed at 40°C for 30 minutes incubation, was 1096 U/g protein, 963 U/g protein and 810 U/g protein for 600, 800 and 1500 ml scale respectively. At this condition starch utilization for growth reached 69% for the 600 and 800 ml scale and 71% for the 1500 ml scale and the biomass production was 6.03 g dry weight/L media, 4.03 g dry weight/L media and 5.66% g dry weight/L media for the 600, 800 and 1500 ml scale respectively.

PENDAHULUAN

Alfa amilase (E.C.3.2.11) telah banyak digunakan dalam proses industri, antara lain industri tekstil, minuman dan degradasi pati (1). Pati terdiri dari gabungan amilose 15-30% dan amilopektin 70-85% dimana amilopektin merupakan polimer yang mempunyai cabang -1-6 glikosida pada setiap 24-30 glukosa (2). Glukosa dihasilkan secara hidrolisa enzimatik dari pati menurut reaksi yang sinambung yakni pati oleh enzim yang berasal dari mikroorganisme diubah menjadi dekstrin, kemudian oleh ami-

loglukosidase diubah menjadi glukosa. Alfa amilase menghidrolisa ikatan -1,4 glikosida pada amilose dan amilopektin secara acak (3). Enzim yang diperoleh dari bakteri biasanya mempunyai kemampuan yang stabil terutama penggunaannya dalam industri dan semua proses yang dilakukan dengan temperatur tinggi. Tidak demikian halnya alfa amilase yang berasal dari kapang *Aspergillus niger* dan *A.oryzae*, namun demikian penggunaan enzim ini sangat luas karena dapat menghasilkan sejumlah besar maltose dan maltotriose pada proses likuifikasi pati (3).

Beberapa kapang yang dapat menghasilkan alfa amilase diantaranya dari genera *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Mucor*, *Neurospora*, dan *Rhizopus*. Suhu optimal untuk produksi alfa amilase yaitu antara 28-30°C dengan waktu inkubasi 3-4 hari (4). Kegiatan penelitian di Indonesia hingga dekade 1980 mengenai enzim pengubah karbohidrat pernah dilaporkan (5). Pada penelitian sekarang ini digunakan *A.oryzae* sebagai mikroorganisme penghasil enzim dalam media fermentasi yang mengandung pati sago sebagai sumber karbon. Pati yang berasal dari pohon sago dihasilkan dalam jumlah yang melimpah terutama di Indonesia bagian timur. Kandungan karbohidrat dari pati sago sangat tinggi dan harganya yang relatif murah, sehingga dapat dipakai sebagai sumber karbon untuk produksi alfa amilase yang berasal dari kapang.

Maksud penelitian singkat ini adalah untuk melihat dengan cepat, pengaruh agitasi pada proses fermentasi skala 600, 800 dan 1500 ml, terhadap aktifitas spesifik enzim yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODA

Bahan

A. oryzae diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi ITB yang dibiakkan dalam media Potato Dextrose Agar. Sebagai sumber karbon digunakan pati sago dari jenis *Metroxylon*. Bungkil kedele diperoleh dari sebuah pasar dikota Bandung.

Metoda

Fermentasi

Media fermentasi mengandung (g/L) sago 20; bungkil kedele 7,04; K₂HPO₄ 1,0; MgSO₄ 7H₂O 0,5; KCl 0,5; FeSO₄ 7H₂O 0,01 dan 3 ml malt ekstrak 3%. Media pH

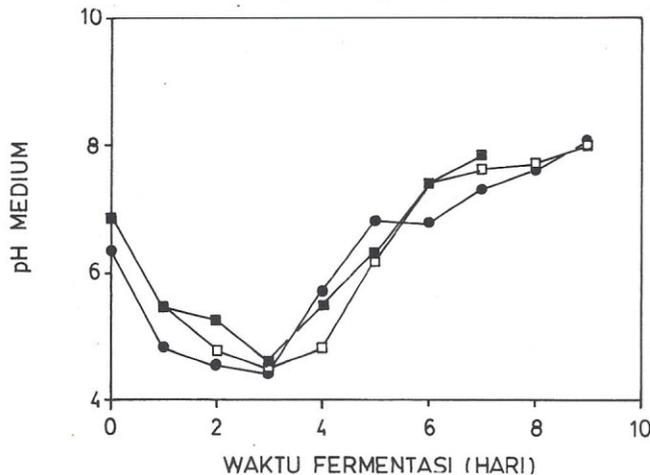
awalnya diatur sehingga mencapai pH 7,0, sebelum distilisasi pada 121°C, 1 atm selama 15 menit. Media fermentasi kemudian diinokulasi dengan suspensi *A. oryzae*, yang ditumbuhkan pada Potato Dextrose Agar selama 7 hari. Proses fermentasi dilakukan dalam Gallenkamp modular fermentor dengan skala 600 ml, 800 ml dan 1500 ml. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 30°C ± 1°C dengan aerasi 4,5-6 L/menit selama 7 hari sampai 9 hari. Pengaduk magnet "corning plate" dipakai untuk agitasi dalam proses fermentasi ini.

Analisa

Aktifitas alfa amilase diuji menurut metoda Folin Wu (6) untuk penentuan gula pereduksi. Unit aktifitas ditentukan setelah membandingkan dengan alfa amilase standar (SIGMA) pada 40°C dengan waktu 30 menit. Kandungan protein enzim ditentukan dengan metoda Lowry (7) untuk memperoleh aktifitas spesifik enzim. Pati tersisa dalam media ditentukan setiap hari berdasarkan metoda yang telah dilaporkan oleh Prahastoeti *et.al* (8).

HASIL DAN PEMBAHASAN

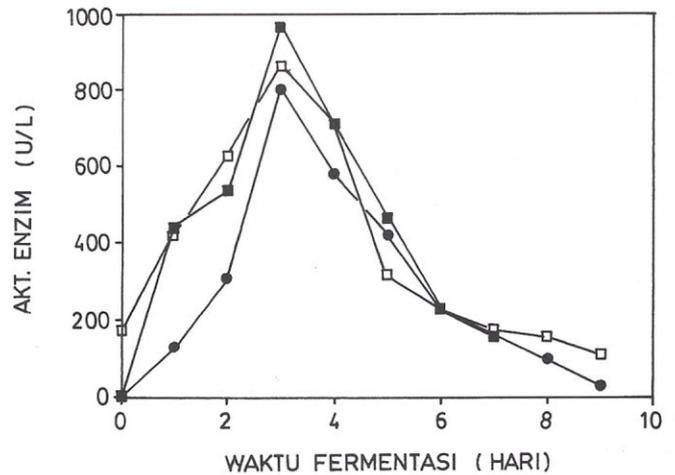
Selama proses fermentasi berlangsung, dilakukan pengamatan terhadap perubahan pH media dalam produksi alfa amilase. Hasilnya seperti yang disajikan pada Gambar 1.



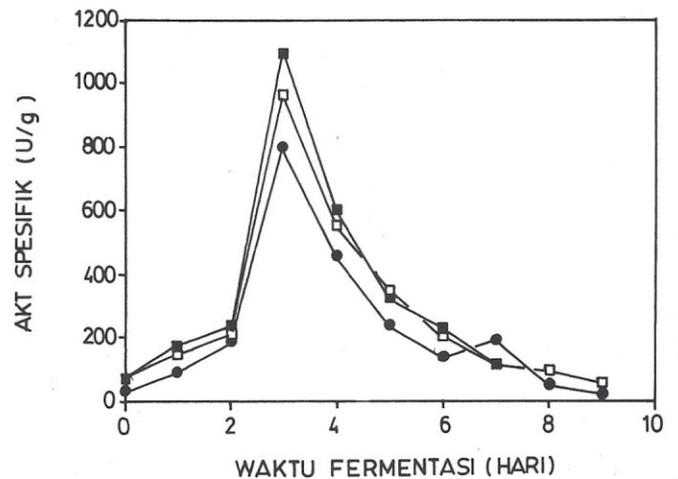
Gambar 1. Perubahan pH media selama proses fermentasi alfa amilase *A. oryzae*, pada skala 600 ml (■), 800 ml (□) dan 1500 ml (●)

Pengamatan ini memperlihatkan bahwa terjadi penurunan pH media pada hari pertama sampai hari ke tiga proses fermentasi. Hal ini sehubungan dengan terjadinya akumulasi dari asam-asam organik hasil metabolisme kapang. Kemudian pH media meningkat terus hingga akhir proses fermentasi. Aktifitas enzim alfa amilase yang diperoleh dari hasil proses fermentasi disajikan pada Gambar 2. Pada proses fermentasi pada skala 600, 800 dan 1500 ml, aktifitas enzim yang maksimum berturut-turut adalah 0,97, 0,864 dan 0,801 U/ml. Gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa pada hari ke 3 proses fermentasi dihasilkan enzim dalam jumlah maksimum. Kapang menggunakan asam

asam organik seperti asam piruvat, asam sitrat dan asam suksinat untuk pertumbuhan. Setelah pertumbuhan mencapai maksimum, nutrisi media menjadi tidak cukup untuk mempertahankan tingkat pertumbuhan tersebut tetapi masih cukup untuk pembentukan enzim.



Gambar 2. Aktifitas alfa amilase hasil fermentasi, pada skala 600 ml (■), 800 ml (□) dan 1500 ml (●).



Gambar 3. Aktifitas spesifik alfa amilase hasil fermentasi, pada skala 600 ml (■), 800 ml (□) dan 1500 ml (●).

Gambar 3 menunjukkan aktifitas spesifik enzim alfa amilase. Aktifitas spesifik tinggi diperoleh pada hari ke 3 proses fermentasi yaitu untuk skala 600 ml sebesar 1096 U/g protein, skala 800 ml sebesar 963 U/g protein dan skala 1500 ml sebesar 810 U/g protein. Setelah hari ke 3 aktifitas ini berkisar antara 69-601 U/g protein (skala 600 ml), 69-556 U/g protein (skala 800 ml) dan 33-447 U/g protein (skala 1500 ml).

Kandungan pati tersisa yang disajikan pada Gambar 4, menunjukkan adanya penurunan dengan semakin bertambahnya waktu fermentasi. Pada akhir pengamatan kandungan pati tersisa dalam media hanya berkisar 13-16% saja. Pada keadaan aktifitas spesifik dari alfa amilase maksimum, yaitu pada hari ke 3 proses fermentasi, pemakaian pati untuk pertumbuhan *A. oryzae* mencapai 69%