

PRODUKSI GLUKOAMILASE DARI *RHIZOPUS ORYZAE* L16 PADA MEDIA PATI SAGU (*METROXYLON*) YANG MENGANDUNG EKSTRAK TAUGE

Yetti M. Iskandar, Linar Z. Udin dan A.T. Karossi

Puslitbang Kimia Terapan - LIPI
Jl. Cisit, Bandung 40135

INTISARI

Telah dilakukan penelitian yang menggunakan pati sagu (*Metroxylon sp*) dalam media fermentasi untuk produksi glukoamilase dari *Rhizopus oryzae* L16. Variasi konsentrasi dari ekstrak tauge 1% - 5% ditambahkan ke dalam media tersebut sebagai sumber vitamin. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 30°C dengan kondisi aerob, goncangan orbital 120 rpm dan waktu inkubasi selama 5 hari. Hasil fermentasi dibandingkan dengan media fermentasi lainnya yang ditambahkan ekstrak malt 3%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, proses fermentasi yang mengandung ekstrak tauge 4%, mempunyai aktifitas spesifik enzim glukoamilase tertinggi pada hari ke 3 yaitu sebesar 19720 unit/g protein. Aktifitas enzim ditentukan pada 55°C dengan waktu inkubasi selama 10 menit. Pada keadaan ini pati yang digunakan untuk pertumbuhan kapang mencapai 55,5%, sedang produksi biomasnya adalah 3,12 g kering/L media. Media fermentasi yang mengandung ekstrak malt 3% mempunyai aktifitas spesifik enzim glukoamilase sebesar 4500 unit/g protein. Penggunaan pati untuk pertumbuhan kapang mencapai 62,5% sedang produksi biomasnya adalah 2,93 g kering/L media.

ABSTRACT

Glucoamylase production from Rhizopus oryzae L16 has been carried out in a fermentation medium using sago (Metroxylon sp) starch. Various levels of mung bean sprout extract (1% - 5%) was added into the medium as vitamin source. The fermentation process was carried out at 30 °C in aerobic condition with an agitation rate of 120 rpm and for five days. The results of the fermentation was compared with an other fermentation medium containing malt extract 3%. The glucoamylase specific activity of 4500 Units/g protein, starch consumption of 62.5% and biomass produced of 2.93 g dry weight/L medium were demonstrated with the latter medium. It was found that media which contained 4% mung bean sprout extract had maximum glucoamylase specific activity of 19720 Units/g protein at day-3. The enzyme activity was assayed at 55 °C with incubation time 10 minutes. At this third day of fermentation the starch utilization reached 55.5% and the biomass production was 3.12 g dry weight/L medium.

PENDAHULUAN

Glukoamilase (E.C.3.2.1.3.) atau α -1,4 glucan glucanohydrolase dapat memecah pati menjadi glukosa pada bagian ujung non reduksi. Mikroorganisma yang sering

digunakan untuk memproduksi glukoamilase adalah *Aspergillus niger*, *A.oryzae*, *A.awamori*, *Rhizopus niveus*, *R.delemar*, *R.formosaensis* dan *R.javanicus* (1). Berbagai jenis enzim digunakan dalam industri makanan, misalnya alfa amilase, glukoamilase dan glukosa isomerase pada proses produksi glukosa dan fruktosa cair (2). Sel-sel mikroba adalah sumber enzim yang utama untuk keperluan industri. Berdasarkan cepatnya perkembangbiakan dari mikroba jika dibandingkan dengan tanaman atau hewan maka proses mikroba untuk memproduksi enzim lebih mudah dan lebih cepat untuk memenuhi permintaan pasar akan enzim. Enzim glukoamilase merupakan enzim ekstraselular yang berperan penting dalam industri makanan, yaitu pada pembuatan gula cair, sebagai tambahan pada pembuatan jeli sari buah, makanan bayi dan sering digunakan pula pada industri tekstil dan farmasi (3). Hal ini disebabkan karena enzim glukoamilase mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis molekul pati menjadi glukosa dengan cara memutuskan ikatan α -1,4 glikosida dari ujung rantai non pereduksi dari polimer pati. Disamping itu glukoamilase dapat menghidrolisis ikatan α -1,6 dan α -1,3 glikosida. Faktor-faktor yang mempengaruhi sintesis enzim oleh mikroorganisme adalah komposisi media, waktu pertumbuhan, pH, suhu, aerasi dan variasi strain (2).

Maksud dari penelitian singkat ini adalah untuk mengetahui aktifitas spesifik enzim glukoamilase dari media yang mengandung ekstrak tauge sebagai sumber vitamin, menggantikan ekstrak malt 3%.

BAHAN DAN METODA

Biakan *Rhizopus oryzae* L16 diperoleh dari laboratorium mikrobiologi ITB yang dipelihara dalam media agar kentang (Potato Dextrose Agar). Sebagai sumber karbon digunakan pati sagu dari jenis *Metroxylon*. Bungkil kedele digunakan sebagai sumber nitrogen. Tauge diperoleh dari sebuah pasar di Bandung.

Fermentasi

Media fermentasi mengandung (g/L) pati sagu 20; bungkil kedele 7,04; K_2HPO_4 1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5; KCl 0,5; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 dan variasi ekstrak tauge 1%-5%

sebagai pengganti ekstrak malt 3%. pH awal diatur sehingga mencapai pH 4,5. Sejumlah erlenmeyer volume 250 ml yang berisi 50 ml media fermentasi disterilisasi pada 121°C, 1 atm selama 15 menit. Setelah dingin media fermentasi diinokulasi dengan suspensi *Rhizopus oryzae* L16 yang berumur 7 hari sebanyak 2%. Proses fermentasi dilakukan pada suhu 30°C dengan kondisi aerob, goncangan orbital pada 120 rpm dan waktu inkubasi selama 5 hari.

Pembuatan Ekstrak Tauge

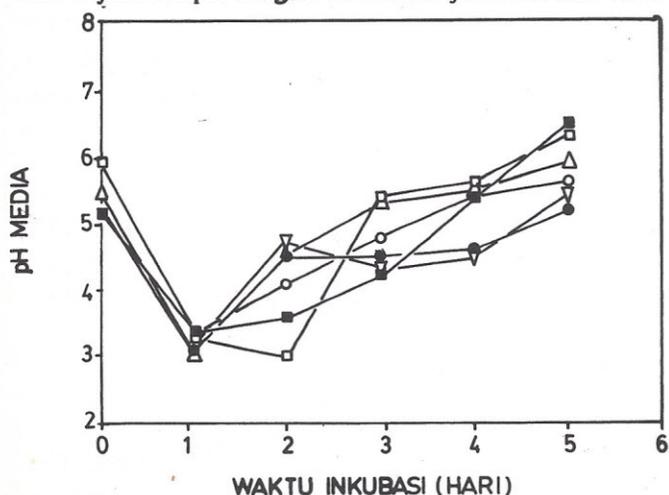
Tauge yang masih segar ditimbang sebanyak 100 gram. Gelas piala yang berisi 1000 ml aquades dididihkan, kemudian tauge dimasukkan kedalam wadah tersebut. Tauge dibiarkan selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat yang diperoleh digunakan sebagai ekstrak tauge, untuk menggantikan ekstrak malt 3%. Ekstrak tauge yang diperoleh selanjutnya diencerkan sesuai dengan keperluan.

Analisis

Proses fermentasi diamati mulai hari ke 0 sampai hari ke 5. Aktifitas glukoamilase diuji menurut metoda Ueda (4). Penentuan glukosa dilakukan dengan metoda Nelson Somogyi (5). Unit aktifitas ditentukan setelah membandingkan dengan glukoamilase standar dari SIGMA. Kandungan protein enzim ditentukan dengan metoda Lowry (6) untuk memperoleh aktifitas spesifik enzim. Pati tersisa dalam media fermentasi ditentukan setiap hari berdasarkan metoda yang telah dilaporkan oleh Pra-hastoeti (7).

HASIL DAN PEMBAHASAN

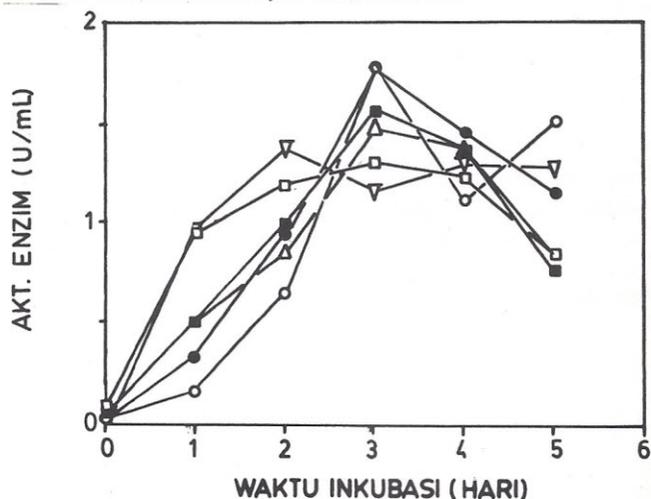
Pengamatan terhadap proses fermentasi *Rhizopus oryzae* L16 dilakukan setiap interval waktu 24 jam yaitu dari 0 jam sampai dengan waktu 120 jam atau hari ke 5.



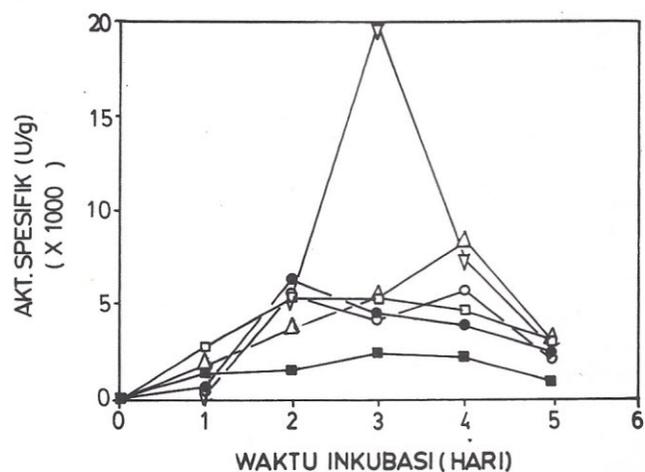
Gambar 1. Perubahan pH media selama proses fermentasi oleh *R.oryzae* L16 pada berbagai konsentrasi ekstrak tauge.
 (■) ET 1% (□) ET 3% (○) ET 5%
 (△) ET 2% (▽) ET 4% (●) ME

Perubahan pH yang terjadi pada media fermentasi juga diamati. Hasil pengamatan yang disajikan pada Gambar 1, menunjukkan terjadi penurunan pH media fermentasi pada hari pertama fermentasi. Hal tersebut sehubungan dengan terjadinya akumulasi dari asam-asam organik hasil metabolisme kapang. Selanjutnya terjadi kenaikan dari pH media, sampai akhir dari proses fermentasi.

Aktifitas glukoamilase yang diperoleh selama proses fermentasi disajikan pada Gambar 2, terlihat bahwa hasil dari fermentasi dengan variasi ekstrak tauge menunjukkan aktifitas enzim tertinggi pada hari ke tiga yaitu sebesar 1,78 unit/ml media untuk media fermentasi yang mengandung ekstrak tauge 5 %. Aktifitas enzim glukoamilase dengan variasi konsentrasi yang lain berkisar antara 0,02-1,46 Unit/ml media sedangkan untuk media yang mengandung ekstrak malt 3% pada fermentasi hari ke tiga mempunyai aktifitas enzim sebesar 1,76 unit/ml media.

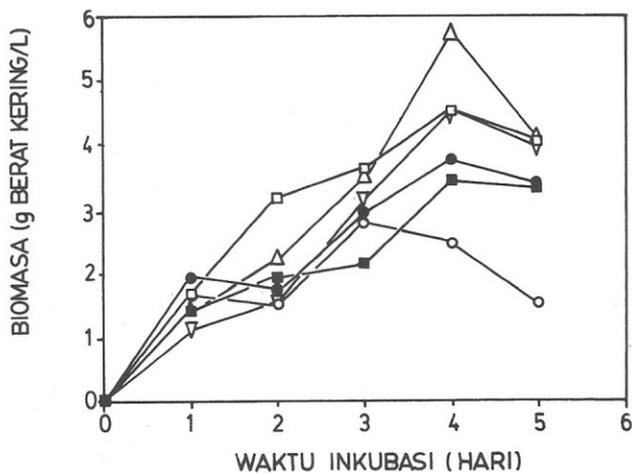


Gambar 2. Aktifitas glukoamilase hasil fermentasi pada berbagai konsentrasi ekstrak tauge.
 (■) ET 1% (□) ET 3% (○) ET 5%
 (△) ET 2% (▽) ET 4% (●) ME

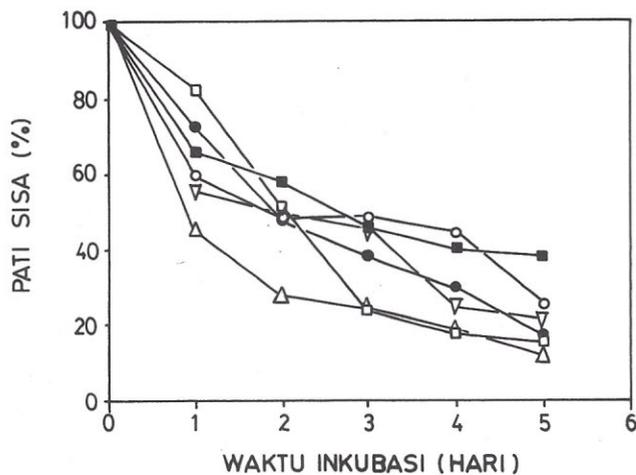


Gambar 3. Aktifitas spesifik glukoamilase hasil fermentasi pada berbagai konsentrasi ekstrak tauge.
 (■) ET 1% (□) ET 3% (○) ET 5%
 (△) ET 2% (▽) ET 4% (●) ME

Aktifitas spesifik enzim glukoamilase yang disajikan pada Gambar 3, memperlihatkan bahwa aktifitas spesifik enzim yang tertinggi diperoleh pada hari ke-3 fermentasi (ekstrak tauge 4%) yaitu sebesar 19720 unit/g protein tetapi aktivitas glukoamilasenyapun paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Gambar 2). Bias pada aktivitas spesifik tersebut terjadi hanya karena kadar proteinnya sangat rendah. Sedang untuk ekstrak malt 3% mempunyai aktifitas spesifik enzim glukoamilase sebesar 4500 unit/g protein. Pada variasi ekstrak tauge yang lainnya berkisar antara 650 unit/g protein - 8360 unit/g protein.



Gambar 4. Produksi biomasa dari hasil fermentasi.
 (■) ET 1% (□) ET 3% (○) ET 5%
 (△) ET 2% (▽) ET 4% (●) ME



Gambar 5. Pati tersisa dalam media fermentasi.
 (■) ET 1% (□) ET 3% (○) ET 5%
 (△) ET 2% (▽) ET 4% (●) ME

Biomasa yang dihasilkan oleh kapang *Rhizopus oryzae* L16, selama proses fermentasi berlangsung tertera pada Gambar 4. Hasil pengamatan menunjukkan adanya kenaikan biomasa yang disebabkan oleh pertumbuhan kapang

yang dimulai pada hari pertama proses fermentasi sampai hari ke 4, selanjutnya terjadi penurunan jumlah masa sel pada hari ke 5. Penggunaan pati oleh kapang *Rhizopus oryzae* L16, tertera pada Gambar 5. Pemakaian pati pada saat aktifitas spesifik enzim tertinggi sebesar 55,5%.

KESIMPULAN

Dari hasil pengamatan, dapat disimpulkan bahwa pati sugu (*Metroxylon*) dapat digunakan sebagai sumber karbon dalam proses fermentasi dengan *Rhizopus oryzae* L16, untuk memproduksi enzim glukoamilase. Ekstrak tauge 4% yang dipakai sebagai sumber vitamin dapat meningkatkan aktivitas spesifik enzim glukoamilase, jika dibandingkan dengan media yang mengandung ekstrak malt 3%. Aktifitas spesifik glukoamilase tertinggi diperoleh pada hari ke-3 proses fermentasi yang mengandung ekstrak tauge 4 %, yaitu sebesar 19720 unit/g protein. Pati yang digunakan selama proses fermentasi berlangsung yaitu 55,5% dengan biomassa 3,12 g kering/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini serta penyajiannya pada Seminar Nasional XI dan Kongres Nasional PERHIBI di Jakarta 17-19 Januari 1994 disponsori oleh ASEAN - AUSTRALIA ECONOMIC COOPERATION PROGRAM-Biotechnology Project dan Puslitbang Kimia Terapan LIPI.

PUSTAKA

1. W. Crueger and A.Crueger, *Biotechnology: A Text Book of Industrial Microbiology*, Walsbaden, 168-169, (1982).
2. A. Wiseman, *Handbook of Enzyme Biotechnology*, second edition John Willey & Sons Inc, 1985.
3. W. M.Fogarty, *Microbial Enzymes and Biotechnology*. Applied Science. Publ. London, 1983.
4. S. Ueda, Y. Fujio., P. Suyanadona and P. Attasampunna, *Alcoholic Fermentation of Raw Cassava Starch by Rhizopus Koji without Cooking*, *Biotech, Bioeng*, 26: 315-319, (1984).
5. N. Nelson, A Photometric adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose, *J.Biol. Chem*, 153: 357-380, (1944).
6. S.P. Colowick and H.O. Kaplan, *Methods in Enzymology*, Vol. III, Acad. Press Inc, New York, 448-450, (1957).
7. R.D. Prahastoeti, C. Tjahjadi, A.T. Karossi, C.S. Achjar, Pengaruh pH awal dan waktu inkubasi terhadap enzim glukoamilase oleh *Rhizopus oryzae* L16. Tesis, Fak. Pertanian, UNPAD, 1989.