

## ISOLASI DAN PEMURNIAN ENZIM AMILASE DARI *Aspergillus oryzae* YANG DITUMBUHKAN PADA MEDIA PATI SUWEG (*Amorphophalus companulatus* B1)

Johni Azmi\*, Yandri As\*\*, Heri Satria\*\*

\* Lab Biokimia dan Kimia Organik Jur Kimia FPMIPA IKIP Padang

\*\* Laboratorium Biokimia dan Kimia Organik Jur Kimia FMIPA UNILA

(Diterima 24 Desember 1996, Direvisi 7 Januari 1997, Disetujui 20 Januari 1997)

### INTISARI

Suweg merupakan tanaman liar dengan kandungan pati 23,26 %. Pati suweg ini belum banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan oleh masyarakat (kecuali suku Jawa), karena pengolahannya belum banyak diketahui. Proses isolasi dimulai dengan menentukan kondisi optimum pertumbuhan *Aspergillus oryzae* untuk menghasilkan enzim amilase. Enzim yang diperoleh dimurnikan dengan pengendapan bertingkat memakai garam amonium sulfat, dan kromatografi dengan gel Sepadex G 100. Amilase yang didapat dilakukan karakterisasi. Aktivitas amilase ditentukan dengan metoda Samogy Nelson dan kadar protein diukur dengan metode Lowry. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim amilase dari *Aspergillus oryzae* pada medium pati suweg mempunyai kondisi pertumbuhan optimum: waktu inkubasi 48 jam, pH 5,8, temperatur 40<sup>o</sup> C. Pada tahap pemurnian dengan amonium sulfat 80 % mampu meningkatkan aktifitas spesifik enzim amilase dari 0,872 unit/mg pada ekstraksi kasar menjadi 7,2220 unit/mg, sedangkan pemurnian dengan kolom sephadex G 100 dapat meningkatkan aktifitas enzim menjadi 47,942 unit/mg. Karakterisasi enzim amilase hasil pemurnian didapatkan sebagai berikut : pH 5,6, suhu 43<sup>o</sup> C dengan waktu inkubasi 30 menit dan aktivitas spesifik 47,942 unit/mg serta harga Km sebesar 6,119 mg substrat/ml.

## ABSTRACT

Suweg is a wild plant wich consists of 23,36 % starch. It has not utilized much as source of food (except by Java ethnic), because the processing has not been well known yet. Isolation process was begun by determination of the optimum condition of *Aspergillus oryzae* growth that yield amylase. The enzymes was purified by fractional precipitation using amonium sulphate and then by chromatography using sephadex G 100 gel. The yield was characterized . Amylase activity was identified by Samogy Nelson methode, and protein was determined by Lowry methode. The result showed that optimum condition of amylase of *Aspergillus oryzae* on starch of suweg as follows : incubation time 48 hours, acidity was pH 5,8 and temperatur was 40 °C. The spesifity activity of crude enzymes was 0,872 unit/mg, and purification by amonium sulphat 80 % increased the spesific activity of enzyme to 7,222 unit/mg, while purification by chromatography methode spesific activity to 47,942 unit/mg. The characteristic of amylase : pH, temperatur, incubation time, spesific activity and Km as follow : 5,6, 43 °C, 30 minute, 47,942 unit/mg and 6,119 mg substrat/ml.

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya dengan sumber karbohidrat seperti singkong, kentang, ubi jalar dan suweg. Umbi suweg bebetuk setengah bulat dengan diameter dapat mencapai 25 cm. Umbinya berasa gatal bila dimakan, karena mengandung kalsium oksalat. Oleh karena itu tanaman ini jarang dikosumsi oleh masyarakat diluar pulau Jawa. Kalsium oksalat dapat dihilangkan dengan perendaman.(Drajat, 1987)

Putri (1994), telah berhasil melakukan isolasi kapang pada media pati umbi Suweg yaitu, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, dan *Penecilium sp* dengan daya amilolitik masing-masing 35,36%, 53,52%, dan 29,89%.

Penggunaan enzim mikroorganisme telah banyak digunakan dalam bidang industri pangan dan obat-obatan hal ini disebabkan karena: (1) isolasi lebih mudah (2) lebih sederhana dibandingkan enzim yang berasal dari tumbuh-tumbuhan maupun hewan (3) lebih mudah dikendalikan pada proses pembuatannya (Wang, 1978). *Aspergillus oryzae* merupakan kapang penghasil enzim amilase, protease, invertase, laktase dan lain-lain. Enzim amilase dari *Aspergillus oryzae* merupakan enzim ekstraseluler (Udiyono, 1988).

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mendapatkan informasi tentang pemamfaatan *Aspergillus oryzae* untuk menghasilkan enzim amilase dengan menggunakan pati suweg sebagai media pertumbuhan. (2) Mendapatkan

enzim amilase dengan tingkat kemurnian dan aktivitas yang tinggi. (3) Mengetahui kemampuan enzim yang dihasilkan untuk mengkonversi pati suweg menjadi glukosa. Dari hasil penelitian ini diharapkan pemanfaatan pati suweg sebagai media pertumbuhan untuk produksi enzim amilase, dan penggunaan glukosa hasil hidrolisis pati suweg sebagai pemanis.

## BAHAN DAN METODA

*Aspergillus oryzae* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Bioproses Jurusan Teknik Kimia ITB. Pati yang digunakan adalah pati yang berasal dari umbi suweg varietas hortensis yang diambil dari Kampung Baru Kecamatan Kedaton, Kodya Bandar Lampung. Umbi suweg dikupas kulitnya, kemudian dicuci dengan air bersih, dipotong dengan ukuran 2 x 2 x 2 cm, direndam selama 24 jam dengan aquades. Hasil perendaman ditiriskan dan dicampur dengan aquades 1 :1 (b/v), diblender, disaring dengan kain halus diperas. Ekstrak yang diperoleh diendapkan selama 24 jam dan dike ringkan dengan oven pada suhu 50 °C, selanjutnya digiling dan diayak dengan ukuran 0,5 mesh (Sastrodipuro, 1987).

Medium fermentasi dibuat dari 12 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g MgSO<sub>4</sub>, 0,5 g KCl, 0,03 g Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,8 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,1 g CaCl<sub>2</sub>, g malt ekstrak, dicampur dengan aquades sampai volume 1000 ml, ditambahkan buffer asetat pH 6, dimasukkan 80 g pati suweg selanjutnya disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Pembuatan inokulum dilakukan dengan menumbuhkan 5 ml suspensi spora secara aseptis, dikocok dengan menggunakan shaker pada suhu 40 °C dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam. Kemudian dipisahkan antara media dengan larutan hasil fermentasi dengan kain kasa, disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm, filtrat diuji aktivitasnya.

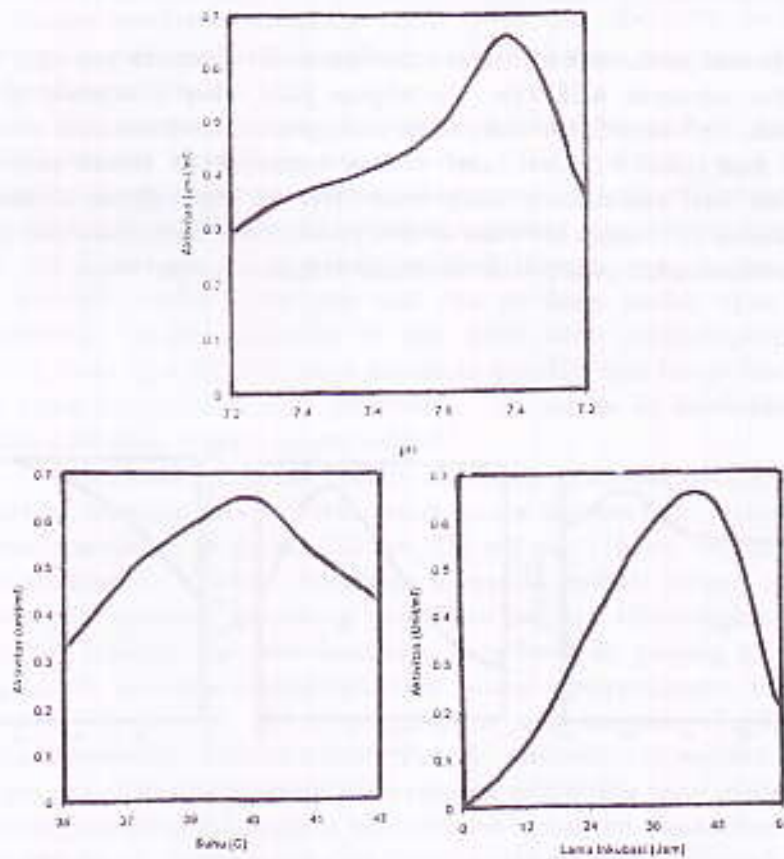
Penentuan kondisi optimum pertumbuhan dilakukan terhadap waktu inkubasi, pH dan temperatur. Penentuan waktu inkubasi optimum dilakukan dengan memasukkan 5 ml inokulum ke dalam 50 ml media pertumbuhan, dikocok pada suhu 40 °C dengan kecepatan 100 rpm dan waktu inkubasi divariasikan dari 12 - 72 jam, disaring, dan disentrifus. Filtrat diuji aktivitas enzimnya. Penentuan pH optimum dilakukan dengan cara yang sama dengan bervariasi pH dari 5,8 - 6,8. Sedangkan untuk temperatur optimum dilakukan dengan bervariasi suhu dari 36 - 44 °C.

Pemurnian enzim dilakukan dengan fraksinasi dengan amonium sulfat dilakukan secara bertingkat dari 0 - 20 % sampai dengan 80 - 100 %. Hasil fraksinasi yang mempunyai aktivitas terbesar dilakukan penyaringan molekul memakai kolom sephadex G 100.

Karakterisasi enzim hasil pemurnian ini dilakukan terhadap suhu, pH, waktu inkubasi dan konstanta Michael Menten. Penentuan suhu optimum dilakukan pada 35 °C - 50 °C, pH optimum dilakukan dari pH 5,0 - 6,0. dan waktu inkubasi optimum dilakukan dari 10 - 60 menit, serta konstanta Michael Menten dilakukan dengan bervariasi larutan pati dari 6 - 16 mg substrat/ml.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 2000 g umbi suweg basah diperoleh 441,35 g pati suweg kering dengan rendemen 20,27 %. Hubungan antara kondisi optimum pertumbuhan *Aspergillus oryzae* dengan menggunakan pati suweg sebagai media adalah:



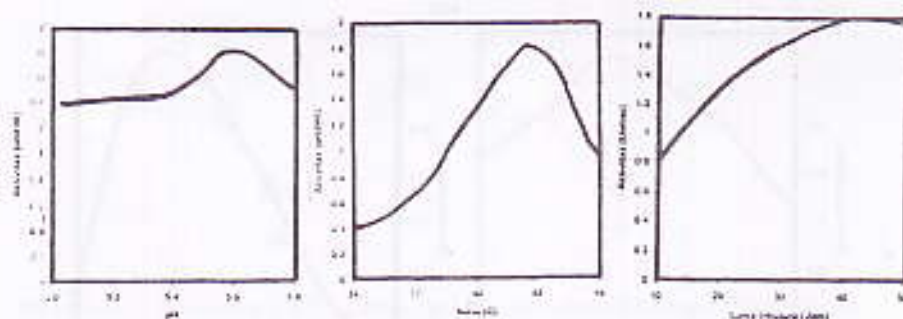
Gambar 1. Kondisi optimum pertumbuhan *Aspergillus oryzae* pada media pati suweg

Pada Gambar 1 didapatkan waktu optimum pertumbuhan *Aspergillus oryzae* adalah 48 jam dengan aktivitas unit 0,641, dan pH optimum 7,4 dengan aktivitas unit 0,653. Sedangkan temperatur optimum amilase didapatkan pada suhu 40 °C, dengan aktivitas unit 0,648.

Tabel 1. Pemurnian enzim amilase dari *Aspergillus oryzae*

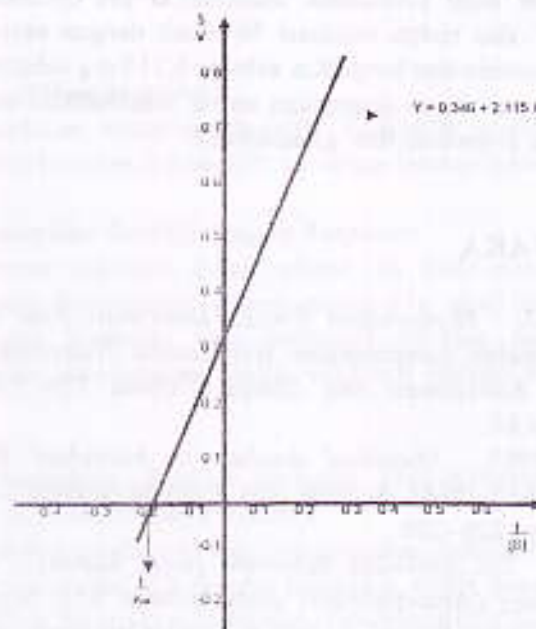
Tahap	Volume (ml)	Aktivitas unit u/ml	Aktivitas total Unit	Aktivitas spesifik unit/mg	Hasil (%)	Faktor Pemurnian (X)
Ekstrak kasar	200	0,65	130,60	0,87	100	1
Amonium sulfat	60	1,63	98,34	7,22	75,30	8,28
Sephadex G-100	40	1,81	72,76	47,93	55,56	54,96

Pada proses pemurnian memakai amonium sulfat diperoleh peningkatan aktivitas sebanyak 8,28 kali. Sedangkan pada tahap pemurnian dengan memakai sephadex G-100 didapatkan peningkatan aktivitas enzim sebanyak 54,96 kali (tabel 1). Dari tabel di atas menunjukkan terjadi penurunan aktivitas total enzim yang cukup besar. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh enzim kehilangan aktivitas selama proses pemurnian atau tidak semua enzim terendapkan pada proses fraksinasi dengan amonium sulfat.



Gambar 2: Kondisi optimum amilase dari *A. oryzae*

Dari uji karakterisasi enzim amilase hasil pemurnian, didapatkan suhu optimum adalah 43 °C. pH optimum didapatkan pada pH 5,6 (Gambar 2). Forgaty, 1983 mendapatkan amilase dari kapang dengan pH dan temperatur optimum adalah 5,5 dan 40 °C. Waktu inkubasi optimum amilase ini adalah 30 menit (Gambar 2).



Gambar 3. Grafik Lineweaver-Burk enzim amilase yang dihasilkan *Aspergillus oryzae* pada media pati suweg.

Penentuan harga  $K_m$  dari enzim amilase pada pati suweg didapatkan harga  $K_m$  6,119 mg substrat/ml. Harga ini menunjukkan kemampuan amilase untuk merubah substrat pati suweg cukup besar.

Dari hasil penelitian di atas didapatkan bahwa pati suweg cukup baik digunakan sebagai media pertumbuhan *Aspergillus oryzae* untuk menghasilkan enzim amilase.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian diatas dapat diambil kesimpulan berikut.

1. Kondisi optimum fermentasi enzim amilase dari *Aspergillus oryzae* pada media pati suweg adalah: waktu inkubasi 48 jam, pH 5,8 dan temperatur 40 °C.
2. Pada setiap pemurnian dengan amonium sulfat dapat meningkatkan kemurnian 8,28 kali, sedangkan pemurnian dengan sephadex G 100 dapat pula meningkatkan kemurnian enzim 54,959 kali.
3. Enzim amilase hasil pemurnian mempunyai pH optimum 5,6, suhu optimum 43 °C dan waktu unkuibasi 30 menit dengan aktivitas spesifik 47,92 unit/mg protein dan harga Km sebesar 6,119 mg substrat/ml.

Dari hasil penelitian disarankan untuk memisahkan enzim amilase menjadi  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase dan glukamilase.

## DAFTAR PUSTAKA

- Drajat, S.A. 1987. *Mempelajari Proses Dektrinasi Pati Umbi Suweg (Amorphopalus companulatus B1) Secara Hidrolisis Asam pada Berbagai Konsentrasi Hcl*, Skripsi Sarjana TIN FATETA IPB, Bogor, Hal 61.
- Forgaty, W.M, 1983. *Microbial Analisis In Microbial Enzyme and Biotechnology*, W.M, Forgaty (ed), Applied Science Publisher Ltd, London, pp. 226 -286.
- Putri, T.E, 1994. *Uji Amilolitik Beberapa Isolat Kapang Pada Ekstrak Umbi Suweg (Amorphopalus companulatus B1)*, Skripsi Sarjana Biologi Fakultas Pertanian UNILA, Bandar lampung, hal 56
- Sastrodipuro, D, 1990. *Karakteristik dan Biokonversi Beberapa Varietas Ubi Jalar dalam Pembuatan Sirup Fruktosa*, Tesis Fakultas Pasca Sarjana IPB, Bogor, hal 90
- Soedigdo, P, 1988. *Isolasi dan Pemurnian Enzim, Diktat Kuliah* , PAU Bioteknologi ITB, hal 20- 24.
- Udiyono, 1987. *Kemungkinan Penggunaan Dedak Beras sebagai Bahan Pembuat Enzim; Lanjutan Bioproses dalam Industri Pangan*, PAU Pangan dan Gizi UGM dan Liberty Press, Yogyakarta. hal 326 - 334.
- Wang, D.I.C, C.L. Conney, A.L. Demain, P, Dunhill, A.E, Humprey , and M.D. Lily, 1979, *Fermentation and Enzyme Technology*, John Willey and Sons, New York, pp : 46