

## AKTIVITAS ENZIM AMILOLITIK TIGA JENIS JAMUR TANAH DENGAN BAHAN BAKU SAGU \*)

Anthoni Agustien, Irsyad Agus dan Rachmawaty S.\*\*)

### ABSTRAK

Enzim amilolitik merupakan mutienzim yang dapat menghidrolisa pati. Pada penelitian ini sebagai sumber enzim amilolitik adalah jamur *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae* yang diisolasi dari tanah Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi, produksi enzim dilakukan dengan metoda "submerged fermentation" selama 8 hari, isolasi larutan kasar enzim dilakukan dengan teknik penyaringan. Pengujian aktivitas enzim amilolitik ditentukan dengan metoda Nelson-Somogyi. Ketiga jenis jamur dapat menghasilkan enzim amilolitik yang mampu menghidrolisa pati sagu mentah. Aktivitas enzim amilolitik dimulai 2 hingga 8 hari fermentasi. Aktivitas enzim amilolitik *Rhizopus oligosporus* tertinggi pada 4 hari fermentasi sebesar 1,289 unit/ml, kemudian *Aspergillus oryzae* sebesar 0,861 unit/ml pada 8 hari fermentasi dan *Aspergillus niger* sebesar 0,734 unit/ml juga pada 8 hari fermentasi.

Kata kunci : Amilolitik, aktivitas, fermentasi, unit

---

\*) Dana Rutin Universitas Andalas Padang, anggaran tahun 1999/2000

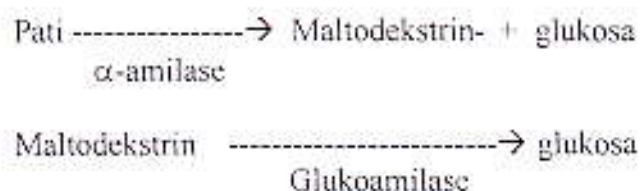
\*\*\*) Staf Pengajar Biologi FMIPA Universitas Andalas

## I. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara agraris yang kaya akan sumber daya alam karbohidrat, khususnya pati. Penggunaan pati sebagai bahan baku industri baik pangan maupun pangan sangat nyata misalnya dalam industri sirup glukosa, sirup fruktosa, amilodekstrin dan alkohol. Proses hidrolisa pati menjadi produk tersebut umumnya menggunakan enzim sebagai biokatalis dalam proses biokonversi pati menjadi produk-produk tersebut. Menurut (Fogarty, 1983), enzim amilolitik telah lama mengeser peran asam dalam pengolahan industri pati, karena lebih menguntungkan.

Kebutuhan akan enzim amilolitik semakin meningkat dengan meningkatnya industri konversi pati. Selama ini kebutuhan akan enzim amilolitik dipenuhi dari impor. Penguasaan teknik isolasi serta karakterisasi enzim akan mendorong berkembangnya industri enzim di dalam negeri, apalagi sumber substrat utama bagi produksi enzim tersebut merupakan bahan yang berlimpah di Indonesia (Wirakartakusumah, dkk)

Amilase merupakan kelompok enzim amilolitik, yang dapat menghidrolisis pati. Enzim ini terdiri dari  $\alpha$ -amilase yang menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik molekul pati menjadi dekstrin dan enzim  $\beta$ -amilase menghidrolisis  $\alpha$ -1,4 glikosidik yang kedua dimulai dari unit glukosa non pereduksi dan berhenti pada ikatan  $\alpha$ -1,6 glikosidik, melepaskan molekul maltosa dan limit dekstrin serta enzim  $\gamma$ -amilase yang lebih dikenal dengan nama glukoamilase mampu menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik dan  $\alpha$ -1,6 glikosidik menjadi glukosa yang dimulai dari limit glukosa non pereduksi (Foster, 1980; Goodwin dan Macer, 1983; Linko dan Lu, 1993). Menurut Winkelman (1992), enzim  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase merupakan enzim utama amilolitik yang berperan dalam industri untuk menghasilkan glukosa dari pati, hidrolisa pati menjadi glukosa melalui tahapan reaksi sebagai berikut:



Menurut Fogarty (1983), enzim amilolitik dapat dihasilkan oleh beberapa jenis jamur dan bakteri. Beberapa mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim amilolitik adalah *Rhizopus koji* (Fujio, et.al., 1988), *Aspergillus awamori var kawachi* (Hayashida dan Yoshino 1978), *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae* isolat limbah tapioca (Fardiaz, 1991). *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sp 1* dan *Aspergillus sp2* isolat HPPB Unand (Rachmawaty dkk, 1996).

Pati merupakan salah satu inducer untuk pembentukan enzim amilolitik, karena itu keberadaannya dalam medium diharapkan menjadi pemacu peningkatan produksi enzim, pemilihan jenis substrat akan menentukan biosintesa enzim oleh mikroorganisme (Park dan Rolings, 1994)

Pati sagu mengandung 27% amilosa dan 73% amilopektin. Adapun komposisi kimia dari 100 g sagu mengandung : protein 7 g, lemak 2 g, karbohidrat 19 g, fosfor 13 mg, kalsium 11 mg, besi 1,5 mg, vitamin B1 0,12 m dan air 62,44 g (DEPKES, 1983)

Potensi sagu di Indonesia termasuk tinggi, namun pemanfaatan hasil sagu terutama patinya saat ini masih rendah yang mengakibatkan potensi tersebut belum menghasilkan devisa negara. Dengan menggunakan kaedah fermentasi (reaksi enzimatik), pati sagu yang tadinya bernilai rendah dapat dihidrolisis menjadi glukosa yang mempunyai nilai jual tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis jamur yang mempunyai aktivitas enzim amilolitik tertinggi dengan menggunakan pati sagu mentah sebagai media fermentasi.

## II. METODA PENELITIAN

### 1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, medium Potato Dekstrosa Agar, Medium Czapek, Jamur *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger* isolat HPPB UNAND, pati sagu, glukosa, pereaksi Nelson-Somogyi, Alkohol 95%, Asam sulfat, Spritus, NaOH, HCl, Akuades dll

### 2. Peremajaan biakan murni tiga jenis jamur tanah

Pada penelitian ini digunakan tiga jenis jamur *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger* hasil isolasi dari tanah Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi, UNAND (Rachmawaty, dkk, 1996). Peremajaan ketiga jenis jamur tersebut secara rutin dilakukan dengan menggunakan medium PDA di laboratorium Mikrobiologi FMIPA-UNAND.

### 3. Penyediaan inokulum

Sebanyak 5 ml akuades steril dimasukkan pada tabung reaksi yang mengandung biakan murni masing-masing jamur yang berumur 7 hari. Kemudian suspensi yang terbentuk dihitung jumlah sporanya dengan haemositometer sehingga didapatkan  $10^7$  spora/ml.

### 4. Penyediaan pati sagu

Pati sagu diperoleh dari empelur batang sagu yang terlebih dahulu diiris-iris dan kemudian diblender. Selanjutnya dilarutkan dan diproses sampai didapatkan pati (Arbianto, 1990).

### 5. Pembuatan medium fermentasi

Medium fermentasi mengandung pati sagu 2% dan Czapek-Dox. Semua bahan dipanaskan hingga homogen, pH medium diatur sehingga mencapai 7 kemudian disterilisasi dengan otoklaf pada temperatur 121 C selama 15 menit.

### 6. Fermentasi

Sebanyak 10% inokulum dimasukan kedalam Erlenmeyer yang berisi 50 ml media fermentasi steril. Inkubasi pada temperatur kamar, dan di shaker pada 180 rpm selama selang waktu tertentu. Pada 0 jam dan setiap selang waktu 2 hari dilakukan

sampling dengan mengisolasi enzim amilolitik berupa larutan ekstrak kasar enzim dengan cara memipet 1 ml dari setiap media fermentasi dan disaring dengan kertas whatmann no.42, filtrat yang didapat selanjutnya digunakan untuk penentuan aktivitas enzim.

#### 7. Pembuatan kurva standar glukosa

Dibuat larutan stok 1000 µg/ml glukosa, kemudian dibuat variasi kadar glukosa dengan metoda pengenceran : 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 dan 100 µg/ml. Masing-masing konsentrasi glukosa di tentukan absorbansi gula pereduksinya dengan metoda Nelson-Somogyi.

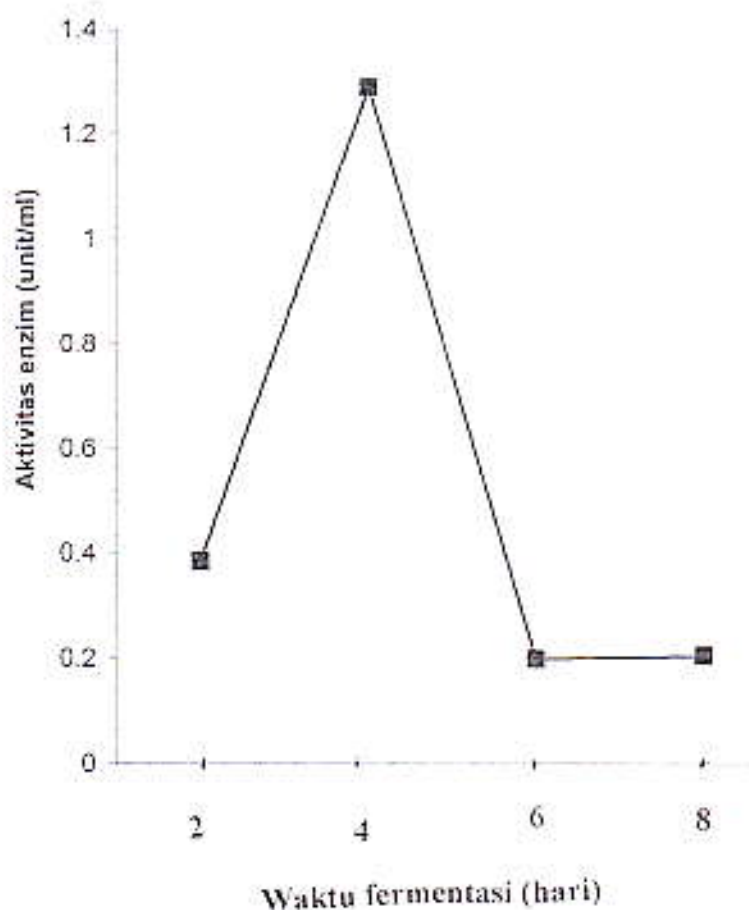
#### 8. Pengujian aktivitas enzim amilolitik

Larutan pati sagu 1% sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi dan di pre inkubasikan pada suhu 50<sup>o</sup> C selama 5 menit, kemudian dimasukkan larutan ekstrak kasar enzim sebanyak 0,1 ml dan diinkubasi pada suhu 50<sup>o</sup> C selama 15 menit. Campuran reaksi tersebut selanjutnya dididihkan dengan penangas air 15 menit. Campuran larutan tersebut ditentukan kadar gulanya dengan metoda Nelson-Somogyi dengan cara 1 ml campuran larutan tersebut ditambah dengan pereaksi Somogyi sebanyak 1 ml, selanjutnya divortex dan dipanaskan lagi pada air mendidih selama 15 menit. Larutan didinginkan segera dalam air es, ditambahkan reagen Nelson sebanyak 1 ml dan akuades 6,9 ml dan divortek sehingga tidak ada gelembung udara lagi. Selanjutnya ditentukan absorbansinya dengan spektrofotometer (spektronik 20) pada panjang gelombang 660 nm. Pengukuran blanko caranya sama dengan perlakuan sampel, hanya pada blanko ekstrak kasar enzim 0,1 ml yang digunakan terlebih dahulu dinonaktifkan dengan cara memanaskan ekstrak kasar enzim pada air mendidih selama 20 menit. Aktivitas enzim amilolitik (unit/ml) dapat dihitung dengan cara mengkonversikan absorbansi sampel dengan kurva standar glukosa. Satu unit dapat didefinisikan sebagai aktivitas enzim amilolitik yang dapat menghidrolisa pati sagu 1% menjadi 1 µg glukosa per menit.

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

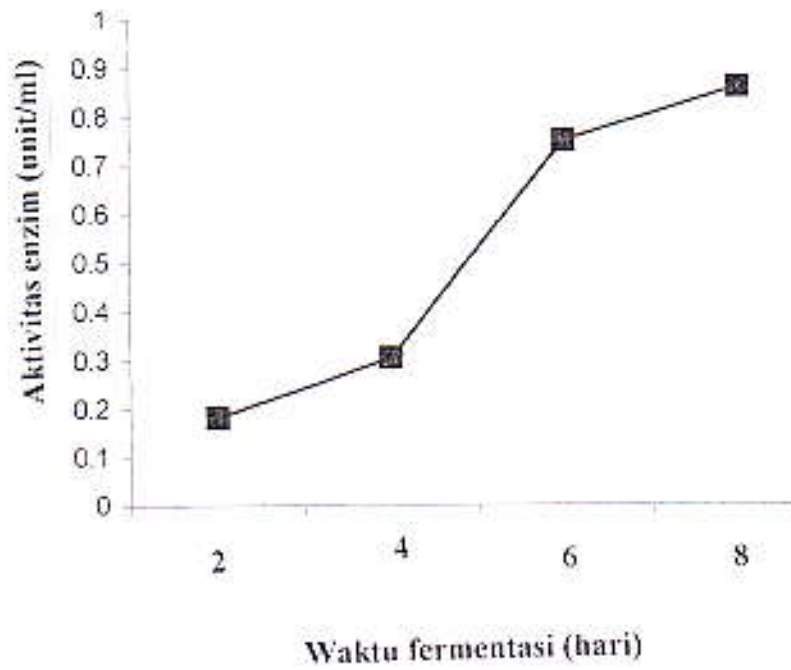
Dari fermentasi yang berlangsung hingga hari ke 8 ternyata ketiga jenis jamur dapat menghasilkan enzim amilolitik untuk menghidrolisa pati sagu pada medium. Hal ini ditunjukkan dengan adanya aktivitas enzim amilolitik selama fermentasi berlangsung. Mampunya ketiga jenis jamur ini menghasilkan enzim amilolitik yang merombak pati sagu yang mentah (tanpa proses gelatinisasi), berarti ketiga jamur tersebut menghasilkan enzim glukoamilase I. Menurut Fardiaz (1991), dengan ditemukannya mikroba yang memproduksi enzim glukoamilase I yang mempunyai aktivitas tinggi dalam memecah pati mentah, maka biaya untuk pemasakan pati dalam industri dapat dihilangkan. Menurut Hayashida dan Yoshino (1977), *Aspergillus awamori* var. *kawachi* menghasilkan tiga tipe glukoamilase yaitu enzim glukoamilase I yang dapat menghidrolisa pati mentah, sedangkan glukoamilase I' dan glukoamilase II tidak mampu menghidrolisa pati mentah. Dari gambar 1 dapat dilihat aktivitas enzim amilolitik yang diisolasi dari *Rhizopus oligosporus* selama waktu fermentasi. *Rhizopus oligosporus* telah menghasilkan enzim amilolitik mulai 2 hari fermentasi dengan aktivitas enzim 0,385 unit/ml. Aktivitas enzim kemudian meningkat tajam

pada 4 hari fermentasi, sebesar 1,289 unit/ml. Pada 6 hari fermentasi aktivitas enzim ternyata mengalami penurunan menjadi 0,198 unit /ml dan relatif stabil pada 8 hari fermentasi, 0,205 unit/ml. Terjadinya penurunan aktivitas enzim yang sangat besar, hal

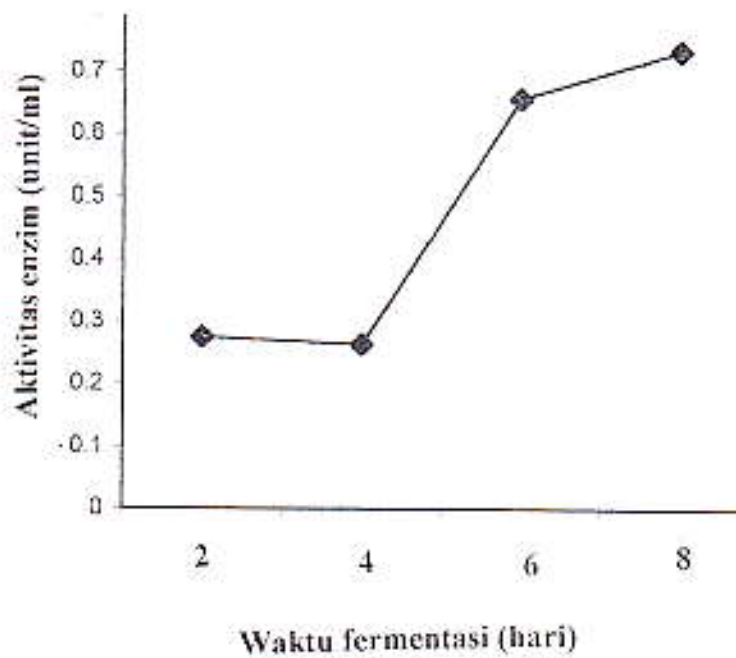


Gambar 1. Kurva aktivitas enzim amilolitik dari *Rhizopus oligosporus*

ini kemungkinan disebabkan jamur juga menghasilkan enzim protease dan glikosidase yang dapat menghidrolisa enzim glukoamilase I. Menurut Hayashida dan Flor, (1981), glukoamilase I dapat dipecah oleh protease dan glikosidase secara bertahap menjadi glukoamilase I' dan glukoamilase II. Dari gambar 2 dapat dilihat aktivitas enzim amilolitik yang diisolasi dari *Aspergillus oryzae* selama waktu fermentasi. *Aspergillus oryzae* telah menghasilkan enzim amilolitik mulai 2 hari fermentasi dengan aktivitas enzim 0,182 unit/ml. Aktivitas enzim kemudian meningkat pada 4 hari fermentasi, yaitu 0,304 unit/ml. Pada 6 hari fermentasi ternyata mengalami peningkatan aktivitas enzim, 0,750 unit/ml dan meningkat pada 8 hari fermentasi, 0,861 unit/ml. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas amilolitik dari *Aspergillus oryzae* meningkat terus selama fermentasi, kemungkinan kandungan pati masih banyak pada medium fermentasi, sehingga pati masih menginduksi jamur untuk tetap mensintesis enzim amilolitik, kemungkinan lain kemungkinan disebabkan jamur tidak menghasilkan enzim protease ataupun glikosidik, sehingga enzim glukoamilase I masih tetap aktif bekerja.



Gambar 2. Kurva aktivitas enzim amilolitik dari *Aspergillus oryzae*



Gambar 3. Kurva aktivitas enzim amilolitik dari *Aspergillus niger*

Dari gambar 3 aktivitas enzim amilolitik yang diisolasi dari *Aspergillus niger* selama waktu fermentasi. *Aspergillus niger* telah menghasilkan enzim amilolitik mulai 2 hari fermentasi dengan aktivitas enzim 0,275 unit/ml. Aktivitas enzim kemudian relatif stabil pada 4 hari fermentasi, 0,263 unit/ml. Pada 6 hari fermentasi aktivitas enzim ternyata mengalami peningkatan menjadi 0,657 unit /ml dan meningkat lagi menjadi 0,734 unit/ml pada 8 hari fermentasi. Dari ketiga profil aktivitas enzim amilolitik yang diperlihatkan oleh ketiga jamur yang berbeda satu sama lainnya, hal ini menunjukkan bahwa enzim amilolitik yang dihasilkan masing-masing jamur adalah berbeda, baik macam, maupun komposisi/ urutan asam amino pembentuk protein enzim dan regulasi biosintesis enzim tersebut.

Tabel 1. Aktivitas optimum enzim amilolitik dari ketiga jenis jamur

| Jenis Jamur                 | Waktu (hari) |                     |
|-----------------------------|--------------|---------------------|
|                             | Waktu (hari) | Aktivitas (unit/ml) |
| <i>Rhizopus oligosporus</i> | 4            | 1,289               |
| <i>Aspergillus oryzae</i>   | 8            | 0,861               |
| <i>Aspergillus niger</i>    | 8            | 0,734               |

Dari tabel 1 dapat dilihat bahwa aktivitas tertinggi enzim amilolitik *Rhizopus oligosporus* adalah 1,289 unit/ml dengan waktu fermentasi 4 hari, *Aspergillus oryzae* dengan aktivitas enzim 0,861 unit/ml pada 8 hari fermentasi dan *Aspergillus niger* aktivitas amilolitiknya 0,734 unit/ml pada 8 hari fermentasi. Yetti dkk, (1993), melaporkan bahwa aktivitas spesifik tertinggi enzim  $\alpha$ -amilase dari jamur *Aspergillus oryzae* pada 3 hari fermentasi, yang menggunakan fermentor ukuran 600-1500 ml yang berisi media pati sagu.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### 1. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Jamur *Rhizopus oligosporus*, *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim amilolitik yang mampu menghidrolisa pati sagu mentah
2. Enzim amilolitik dihasilkan dimulai pada 2 hingga 8 hari fermentasi
3. Aktivitas enzim amilolitik *Rhizopus oligosporus* tertinggi (1.289 unit/ml) pada hari ke 4 fermentasi

### 2. SARAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disarankan :

Perlu diteliti lebih lanjut mengenai pengoptimasian produksi enzim dan karakterisasi enzim

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Dana RUTIN, Lembaga Penelitian Universitas Andalas, yang telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini dengan no. kontrak 32/LPUA/RUTIN/VIII/1999

## DAFTAR PUSTAKA

- Arbianto, P., 1990, Petunjuk Laboratorium Biokimia I, Karbohidrat dan Lipid. PAU Bioteknologi ITB, Bandung
- DEPKES, 1983, Daftar komposisi bahan makanan, Direktorat Gizi, Bhatara Karya Aksara, Jakarta
- Fardiaz, S., 1991, Aktifitas enzim amilolitik pemecah pati mentah dari beberapa isolat kapang, Proseding Seminar Bioteknologi ITB, Bandung, 63-74
- Fogarty, W.M., 1983, Microbial enzymes and biotechnology, Appl. Science Publ. London.
- Foster, R.L., 1980, The nature enzymology, A. Halsted Press. Book, John Wiley and Sons, New York
- Fujio, Y.; Suyadena, P.; Attasampunna, P. dan Udea, S., 1984, Alcoholic fermentation of raw cassava starch by *Rhizopus koji* without cooking. *Biotech. And Bioeng.*, 26: 315
- Goodwin, T.W. dan E.L., 1983, Introduction to plant biochemistry, Pergamon Press, USA
- Hayashida, S. dan E. Yoshino, 1977, Formation of active derivatives of glucoamylase I during the digestion with fungal acid protease and  $\alpha$ -mannosidase, *Agric.Biol.Chem.*, 42, 927-933
- Hayashida, S. dan P.Q. Flor., 1981, Raw starch-digestive glucoamylase productivity Of protease-less mutant from *Aspergillus awamori* var. *kawachi*, *Agric. Biol. Chem.*, 45 (12), 2675-2681
- Linko, Y.Y dan X.Y., Wu, 1993, Improvement and estimation of enzymatic starch saccharification process, *Process biotech. Techniq*, 7, 551-556
- Rachmawaty, S.; A., Agustien; F., Alamsjah; Masdiati dan D., Rangkuti, 1996, Jamur- jamur tanah penghasil enzim perombak pati menjadi glukosa. Laporan penelitian OPF Universitas Andalas, Padang
- Yetti, M.I; D. Agustine, A. Sisidk; L.Z. Udin dan A.T., Karossi, 1993, Produksi alfa amilase dari *Aspergillus oryzae* pada media sagu dalam fermentor skala 600-1500 ml, Seminar Nasional Bioteknologi Industri, PAU Bioteknologi ITB
- Winkelmann, C., 1992, Microbial degradation of natural product, Weinheim
- Wirakartakusumah, M. A; A., Bakar dan J., Pontoh, 1991, Isolasi dan karakterisasi enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus niger*, Proseding Seminar Bioteknologi ITB, Bandung, 273-293