

074.1925
WID
0 ei

No. 120/J07 11 PJJ/PL/2002
Tanggal 1 Mei 2002



Laporan Penelitian

**OPTIMASI PRODUKSI ENZIM INULINASE TERMOSTABIL
OLEH BAKTERI TERMOFILIK DARI UMBIDAHLIA
(*Dahlia variabilis*)**

Oleh :
Drs. Widjanarka, MSi
Sri Pujiyanto, SSi, MSi

Dibiayai Oleh Dana DIK Rutin Universitas Diponegoro, sesuai Surat
Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Tanggal 1 Mei 2002
Nomor : 120/J07 11 PJJ/PL/2002

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Diponegoro Semarang**

2002

i
IPT-PUSTAK UNDIP

RINGKASAN DAN SUMMARY

OPTIMASI PRODUKSI ENZIM INULINASE TERMOSTABIL OLEH BAKTERI TERMOFILIK DARI UMBI DAHLIA (*Dahlia variabilis*)

Wljanarka*, Sri Pujiyanto*

Inulinase (E.C. 3.2.1.7) adalah enzim yang mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis inulin menjadi sejumlah besar fruktosa dan sedikit glukosa. Inulinase mempunyai nama lain β fruktosidase dan digolongkan sebagai 2,1 - β -D-fructan-fructanohydrolase. Enzim ini sangat potensial pada industri sirup, khususnya HFS (High Fructose Syrup).

Produksi Sirup di Indonesia sampai saat ini masih mempunyai beberapa kendala, antara lain belum adanya produsen enzim inulinase, dan biaya untuk mengimport enzim inulinase yang sangat mahal. Oleh karena itu perlu diupayakan suatu penelitian untuk mencari sumber inulinase yang nantinya dapat dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan pemanis alami. Salah satu sumber inulinase yang berasal dari mikrobial dapat berasal dari umbi dahlia (*Dahlia varia blis*). Selain itu, diharapkan enzim ini mempunyai sifat yang termotoleran.

Tujuan penelitian untuk mengisolasi dan menseleksi bakteri termofil yang paling potensial dalam menghasilkan enzim inulinase dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) serta untuk mengetahui optimasi produksi enzim inulinase dari bakteri terpilih sehingga akan diperoleh hasil yang paling optimum

Metodologi pada penelitian ini dibagi menjadi dua tahap. Tahap pertama, mengenai seleksi bakteri termofil penghasil enzim inulinase dan optimasi variasi terhadap sumber karbon inulin (1; 1,25; 1,50 dan 1,75%). Tahap kedua, dari isolat bakteri yang terpilih dilakukan optimasi pH medium 4,5; 4,75 dan 5,0. Pada tahap ini dilakukan pengamatan meliputi berat kering sel, aktivitas enzim (Xiao *et al.*) kadar protein enzim (Lowry) dan gula reduksi (DNS).

Hasil penelitian menunjukkan telah ditemukan 2 isolat bakteri (B1 dan B2) penghasil inulinase dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). Isolat bakteri B1 merupakan bakteri penghasil inulinase tertinggi ($37,8 \cdot 10^{-5}$ IU) dengan kondisi fermentasi optimum meliputi konsentrasi inulin 1%, pH medium 4,5 dan waktu inkubasi 40 jam.

OPTIMIZATION PRODUCTION THERMOSTABLE INULINASE FROM THERMOPHILIC BACTERIA IN *Dahlia variabilis*

Wijanarka*, Sri Pujiyanto*

SUMMARY

Inulinase (E.C 3.2.1.7) is an extracellular enzyme. Hydrolysis of inulin to fructose is catalyzed by activity of inulinase. Inulinase was an enzyme used in a production of high Fructose Syrup (HFS). Inulinase has been produced by microbes such as bacteria.

This research was done in two step:1) isolation and selection of thermophilic bacteria which produced an higher inulinase. 2) optimization of enzyme production.

The results showed that B1 isolate produced higher inulinase than B2. The optimal condition of pH medium 4,5 and in the medium containing 1% inulin as inducer.

Key word: Selection and Optimization

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala ramat dan Hidayah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian ini.

Dalam kesempatan ini juga, kami tak lupa mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Bagian DIK-RUTIN Universitas Diponegoro-Semarang
2. Rektor Universitas Diponegoro-Semarang
3. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro-Semarang
4. Dekan Fakultas MIPA dan Ketua Jurusan Biologi MIPA – UNDIP-Semarang
5. Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan rekan-rekan sesama peneliti atas kerja sama dan sumbang sarannya

Kami menyadari penelitian ini jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang konstruktif sangat kami harapkan demi sempurnya penelitian ini.

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
I. PENDAHULUAN.....	1
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	10
IV. METODE PENELITIAN.....	11
V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	13
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	18
DAFTAR PUSTAKA.....	20

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Isolasi dan seleksi bakteri yang memproduksi inulinase	13
2. Optimalisasi Sumber Karbon.....	15
3. Optimalisasi pH medium.....	16

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Isolat bakteri B1	14
2. Isolat bakteri B2.....	14

I. PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Kebutuhan dasar yang paling penting bagi manusia adalah pangan, disamping papan, sandang, pendidikan dan kesehatan. Peningkatan kebutuhan pangan ini meningkat seiring dengan bertambahnya penduduk. Salah satu kebutuhan pangan tersebut adalah gula. Selain kebutuhan pokok sehari-hari dalam rumah tangga, gula juga dibutuhkan dalam industri makanan, minuman dan farmasi.

Pada saat sekarang penggunaan enzim pada berbagai industri semakin berkembang, baik untuk industri pangan, minuman atau non pangan dan minuman. Ada beberapa enzim yang telah diproduksi secara komersial misalnya α -amilase, β -amilase, glukamilase glukosa isomerase, invertase, protease, pektinase dan pululanase (Cruger and Cruger, 1982).

Disamping enzim tersebut diatas, terdapat juga enzim inulinase. Enzim ini mampu memecah polisakarida inulin menjadi unit-unit yang lebih kecil yaitu fruktosa. Enzim ini ternyata belum mendapat perhatian secara khusus di Indonesia, terutama untuk jenis enzim inulinase termotabil, sehingga perlu untuk diteliti.

Enzim inulinase pertama kali diisolasi dari tanaman yang mengandung inulin yaitu dari familia Compositae (Xiao *et al.*, 1988). Enzim inulinase dapat berasal dari golongan jamur *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Chrysosporium* sp, Khamir (yeast) *Kluyveromyces* sp, *Candida* sp, *Debaromyces* dan *Saccharomyces* sp dari golongan bakteri *Arthrobacter* sp, *Flavobacterium* sp dan *Bacillus* sp (Allais *et al.*, 1986 ; Xiao *et al.*, 1989). Inulinase dari khamir umumnya bersifat mesofil, akan tetapi hasil penelitian Rounhorst *et al.* (1988) telah menemukan khamir termotoleran yaitu *Klyveromyces marxianus* CBS 6556 yang tumbuh baik pada suhu 40-45 °C. dari mikrobia yang termotoleran ini diharapkan menghasilkan enzim yang termotabil. Enzim termotabil adalah enzim yang memiliki umur setengah (*half life*) lebih besar dari pada enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme mesofilik atau termofilik setelah diperlakukan suhu 50° C dalam waktu yang telah ditentukan. Adanya mikrobia termotoleran dan enzim yang

termostabil akan lebih menguntungkan karena dapat mengendalikan kontaminan mikrobial lain, meningkatkan transfer masa, mengurangi viskositas dan lebih murah baik dalam skala produksi enzim maupun produksi sirup fruktosa. Hartiko (1994) mengatakan bahwa enzim termostabil dapat digunakan untuk reaksi biokonversi pada suhu tinggi tanpa kekhawatiran berlangsungnya denaturasi maupun kontaminasi oleh mikrobial lain.

Untuk mengatasi hal tersebut, maka perlu dicari alternatif mengenai sifat dan sumber enzim inulinase. Salah satunya yaitu dengan mencari enzim inulinase termostabil dari bakteri yang termofilik.

Produksi Sirup fruktosa atau *High Fructose Syrup* (HFS) di Indonesia sampai saat ini masih mempunyai beberapa kendala, 1) belum adanya produsen enzim inulinase termostabil, 2) biaya untuk mengimport enzim ini yang sangat mahal, 3) hidrolisis inulin menjadi fruktosa dengan menggunakan asam pada suhu tinggi akan menghasilkan fraksi warna yang gelap serta hasil samping yang tak diinginkan seperti difruktofuranoanhidrida. Oleh karena itu perlu diupayakan suatu penelitian untuk mencari sumber enzim inulinase termostabil yang nantinya dapat dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan industri pemanis alami. Salah satu sumber inulinase termostabil berasal dari bakteri termofilik tanaman umbi dahlia pada familia Compositae (Xiao *et al.*, 1989). Bakteri termofilik merupakan mikrobial yang mampu tumbuh pada suhu optimum 45-75 °C (Pelczar and Chan, 1994).

Seiring dengan bertambahnya penggunaan enzim pada berbagai industri semakin berkembang, baik untuk industri pangan, non pangan dan minuman. Maka perlu diupayakan mencari sumber enzim termostabil, salah satunya adalah inulinase termostabil dari bakteri termofilik umbi dahlia. Untuk meningkatkan produksi enzim termostabil maka dapat dilakukan optimasi dengan mengatur lingkungan pertumbuhan.

Adanya sifat bakteri yang termotoleran dan enzim yang termostabil akan lebih menguntungkan karena dapat digunakan untuk reaksi biokonversi pada suhu tinggi tanpa kekhawatiran berlangsungnya denaturasi maupun kontaminasi oleh mikrobial lain, dan lebih murah baik dalam skala produksi enzim maupun dalam skala produksi sirup fruktosa sebagai pemanis alami.