

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

Wijanarka*, Sri Pujiyanto

* Penelitian ini dibiayai oleh DIK-RUTIN Tahun 2002

** Staf Edukatif FMIPA-Biologi Universitas Diponegoro Semarang

ABSTRAK---Inulinase (E.C. 3.2.1.7) merupakan enzim ekstra seluler. Hidrolisis inulin akan menghasilkan fruktosa dengan bantuan enzim inulinase. Enzim ini dapat digunakan dalam produksi *High Fructose Syrup* (HFS). Penelitian ini dilakukan secara bertahap. Tahap pertama mengenai isolasi dan seleksi bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim inulinase. Tahap kedua mengenai optimalisasi produksi enzim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri B1 mampu menghasilkan enzim inulinase yang paling tinggi dari pada B2. Kondisi optimasi pH medium pada pH 4.5 dan kadar inulin pada medium sebesar 1% yang bertindak sebagai inducer.

Kata kunci: Seleksi dan optimasi, inulinase

PENDAHULUAN

Tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) penyebarannya dibawa oleh orang-orang belanda pada jaman kolonialisasi. Dahlia merupakan tanaman yang dapat menghasilkan karbohidrat (inulin) yang tersimpan dalam umbi dan termasuk dalam familia Compositae. Disamping itu tanaman tersebut dapat digunakan sebagai bunga potong. Karena mengandung inulin yang cukup, maka umbi-umbi dahlia digunakan sebagai bahan pemanis alami. Pemanis yang dihasilkan dari umbi dahlia berupa gula cair fruktosa atau *High Fructose Syrup* (HFS)

Pada saat sekarang penggunaan enzim pada berbagai industri semakin berkembang, baik untuk industri pangan, minuman atau non pangan dan minuman. Salah satu enzim tersebut adalah 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 termostabil, 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 *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556 yang tumbuh baik pada suhu 40-45 °C. dari mikrobial yang termotoleran ini diharapkan menghasilkan enzim yang termostabil. Enzim termostabil adalah enzim yang memiliki umur setengah (*half life*) lebih besar dari pada enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme mesofilik atau termofilik setelah diperlakukan suhu 50⁰ C dalam waktu yang telah ditentukan. Adanya mikrobial termotoleran dan enzim yang termostabil akan lebih menguntungkan karena dapat mengendalikan kontaminasi 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 keawatiran 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.

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 keawatiran berlangsungnya denaturasi maupun kontaminasi oleh mikrobia lain, dan lebih murah baik dalam skala produksi enzim maupun dalam skala produksi sirup fruktosa sebagai pemanis alami.

Tujuan penelitian

Untuk mengisolasi dan menseleksi bakteri termofilik 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 penghasil enzim inulinase. Diambil sejumlah umbi dahlia (1 gr) dilarutkan pada 30 ml medium enrichment. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu 45°C selama 48 jam. Isolat yang didapatkan sebagai bakteri diuji aktivitas enzim. Isolat yang mampu menghasilkan aktivitas yang tertinggi merupakan isolat yang terpilih. Tahap kedua, dari isolat yang terpilih dilakukan optimasi variasi terhadap sumber karbon inulin (1; 1,25; 1,50 dan 1,75 %), variasi pH medium 4,5; 4,75 dan 5,0. Pada tahap ini dilakukan pengamatan meliputi berat kering sel, aktivitas enzim (Xiao et al.1988), kadar protein enzim (Lowry) dan gula reduksi (DNS).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi dan Seleksi Bakteri

Telah ditemukan dua isolat bakteri yang diisolasi dari tanah disekitar umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) di daerah Bandungan – Ambarawa. Semua isolat ternyata dapat tumbuh ada media basal yang mengandung inulin sebagai satu-satunya sumber karbon. Seleksi untuk menetapkan penghasil inulinase yang potensial didasarkan atas besarnya aktivitas enzim saat umur 0 jam sampai 48 jam. Untuk jenis isolat 1 (B1) pada jam ke-40 mampu menghasilkan aktivitas enzim sebesar 37,0. 10⁻⁵ U, sedangkan untuk jenis isolat 2 (B2) mampu menghasilkan aktivitas enzim sebesar 31,7. 10⁻⁵ U pada jam ke-48. Tabel 1. Hasil pengujian aktivitas enzim untuk masing-masing isolate

Isolat	Aktivitas enzim (IU/ml). 10 ⁻⁵	Protein (mg/ml)	Aktivitas sp (IU/mg). 10 ⁻⁵	BSK (mg/ml)
B1	37,0	2,96	12,5	1,96
B2	31,7	2,83	11,2	1,39

Keterangan:

BSK : Berat Sel Kering

Berdasarkan aktivitas enzim yang dihasilkan, isolat bakteri B 1 merupakan yang terbaik dibandingkan dengan isolat yang lainnya B2 (Tabel 1). Atas dasar itulah, maka isolat bakteri B 1 dipilih untuk dilakukan optimalisasi dalam menghasilkan produksi enzim inulinase. Karakter isolat bakteri B 1 secara umum adalah: morfologi sel bentuk bulat, Gram positif, koloni besar dan koloni putih mengkilat. Sedangkan isolat bakteri B2 morfologi sel bentuk bulat, Gram positif, koloni kecil-kecil dan koloni putih mengkilat.

B. Optimalisasi Produksi Enzim Inulinase

Optimalisasi produksi enzim oleh isolat bakteri B1 dengan mengatur kondisi pertumbuhan meliputi variasi sumber karbon (inulin), dan pH medium. inkubasi.

1. Optimalisasi Sumber Karbon

Kondisi yang dipakai dalam penelitian ini yaitu suhu inkubasi 45°C, pH medium 4,5; sumber N 0,25% dan waktu inkubasi 40 jam. Pengaruh konsentrasi karbon (inulin) (1; 1,25; 1,50 dan 1,75 %) disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Optimalisasi Sumber C

Innulin (%)	Aktivitas Enzim (IU/ml). 10^{-5}	Protein (mg/ml)	Aktivitas sp (IU/mg). 10^{-5}	BSK (mg/ml)
1,00	37,3	2,97	12,60	1,98
1,25	30,1	2,56	11,76	1,29
1,50	15,3	2,37	9,67	1,12
1,75	12,4	2,16	5,70	0,99

Keterangan :

BSK : Berat Sel Kering

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi inulin yang ditambahkan dalam medium fermentasi akan menurunkan produksi enzim. Hal ini ditunjukkan dengan menurunnya berat sel kering dan aktivitas enzim. Peningkatan konsentrasi inulin yang ditambahkan dalam medium menyebabkan semakin banyak kandungan sumber karbon, yang nantinya akan menyebabkan adanya mekanisme represi katabolik. Dengan adanya peristiwa ini maka akan mengakibatkan terhambatnya sintesis enzim. Hal ini didukung dengan pernyataan dari Rounwenhort *et al.*, (1988) bahwa sintesis inulinase dipengaruhi oleh represi katabolik. Menurut Borris (1987) bahwa glukosa dan gula-gula sejenisnya dapat mengakibatkan peristiwa represi katabolik.

Sumber karbon pada konsentrasi 1% dalam proses metabolisme sel akan digunakan untuk pertumbuhan dan produksi enzim. Oleh karena itu produksi inulinase dalam pertumbuhan isolat bakteri yang akan meningkat, sedangkan diatas konsentrasi 1% yaitu 1,25; 1,50 dan 1,75% akan mengakibatkan represi katabolik.

Ditambahkan oleh Rouwnhorst *et al.* (1988) dan Xiao *et al.* (1988) bahwa produksi enzim inulinase tertinggi dihasilkan pada penggunaan induser medium bukan dari sumber karbon yang lainnya.

Sedangkan Allais *et al.* (1987) melaporkan bahwa produksi enzim inulinase tertinggi oleh bakteri hanya pada medium yang mengandung inulin. Dengan demikian jelaslah bahwa pembentukan enzim inulinase sangat bergantung dengan adanya induksi dari inulin. Hal ini berarti bahwa sintesis enzim bersifat inducibel.

2. Optimalisasi pH medium

Kondisi fermentasi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi konsentrasi inulin 1%, suhu inkubasi 45°C, sumber N 0,25%, waktu inkubasi 40 jam, variasi pH medium (4,5 ; 4,75 dan 5,0)

Pengaruh pH medium terhadap produksi inulinase menunjukkan bahwa pH medium 4,5 dan isolat bakteri B1 untuk menghasilkan inulinase yang tertinggi. Produksi inulinase ditunjukkan dengan meningkatnya aktivitas enzim (37,8 U/ml) dan berat sel kering (BSK) (2,07mg/ml), sedangkan pH 4,75 dan 5,0 menunjukkan adanya penurunan (Tabel 3).

Tabel 3. Optimalisasi pH Medium

PH medium	Aktivitas enzim (IU/ml). 10^{-5}	Protein (mg/ml)	Aktivitas sp (IU/mg). 10^{-5}	BS K (mg /ml)
4,50	37,8	3,04	12,45	2,07
4,75	24,7	2,83	8,7	1,27
5,0	21,7	2,56	8,49	1,19

Keterangan :BSK : Berat Sel Kering

Hasil tersebut diatas menunjukkan bahwa isolat bakteri B1 yang memiliki kondisi pertumbuhan optimal pada pH 4,5. Hal ini mungkin disebabkan karena pH tanah pada tanaman dahlia berkisar 4,5. Dengan kata lain pH tersebut sangat cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme, teristimewa untuk bakteri. Moat dan Foster (1979) melaporkan bahwa pH medium pertumbuhan akan mempengaruhi permiabilitas sel mikrobial dalam mensekresi enzim. Berdasarkan percobaan tersebut diatas maka pH 4,5 menghasilkan jumlah enzim dalam medium yang paling banyak dibandingkan dengan pH 4,75 dan 5,0.

Hasil pengamatan BSK (Berat sel kering) menunjukkan bahwa adanya kecenderungan pertumbuhan sel menurun dengan bertambah pH medium. BSK paling tinggi pada medium berpH 4,5 yaitu (2,07 mg/ml). Hasil tersebut kemungkinan disebabkan adanya fruktosa/gula sederhana sisa hidrolisis inulin karena adanya proses sterilisasi yang langsung digunakan oleh isolat bakteri B1

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan :

1. Telah ditemukan 2 isolat bakteri yaitu B1 dan B2 penghasil inulinase dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*).
2. Isolat bakteri B1 merupakan penghasil inulinase tertinggi dan bersifat termostabil.
3. Optimalisasi untuk menghasilkan inulinase tertinggi yaitu dengan kondisi fermentasi meliputi konsentrasi inulin 1%, suhu inkubasi 45°C, pH medium 4,5.

Ucapan terima kasih

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada bagian DIK-RUTIN UNDIP Th. 2002 sehingga terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Allais, J.J. ; S. Kammoun ; P. Blanc; C. Girard dan J. Baratti. 1986. Isolation and Characterization of Bacterial Strains with Inulinase Activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (50 : 1086 – 1090).
- _____ ; G. Hoyos-Lopez ; S. Kammoun dan J. Baratti. 1987. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacterial Strains with Inulinase Activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 53 (5) : 942 – 945.
- Bajpai, P. dan A. margaritis. 1987. Characterization of Molecular Sieve-Bound Inulinase. *J. Ferment. Technol.* 65 (2) : 239 – 247.
- Byun, S.m. dan B.H. Nahm. 1978. Production of Fructose from Jerusalem artichoke by Enzymatic Hydrolysis. *J. Food Sci.* 43 : 1871 – 1873.
- Doty, T. dan V. Vaninen. 1979. The Properties, Manufacture and Uses as an Industrial Raw Material. Dalam : C.G. Birch dan K.J. Parker (ed). *Sugar : Science and Technologi.* Appl. Sci. Publ., London.
- Dixon, M. and Webb, E. 1979. *Enzymes.* Logman Group Ltd. London.
- Kreger-van Rij, N.J.W. 1984. The yeast, A Taxonomic Study. Third revised and Enlarged Ed., Elsevier Sci. Publ. B.V., Amsterdam.
- Lutony, T.L. 1993. *Tanaman sumber Pemanis.* Penebar Swadaya, Jakarta.
- Rouwenhorst, R.J., L.E. Visser; A.a. van derbaan; W.A. Scheffer dan J.P van Dijken. 1988. Production, Distribution and Kenetic Properties of Inulinase in Continous Culture of *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (5): 1131-1137
- _____ ; W.S. Ritmeester; W.A. Scheffer dan J.P. van Dijken. 1990. A Locatization of Innulinase and Invertase in *Kluyveromyces* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (11) : 3329 – 3336.
- _____ ; M. Hensing; J. Verbakel; W.a. Scheffer dan J.P. van Dijken. 1990b. Structure and Properties of the Extracellular Inulinase of *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (11) : 3337 – 3345.
- Rukmana,R. 2000. *Dahlia Prospek Agribisnis dan Teknik Budidaya.* Penerbit Kanisius – Jogjakarta.
- Tjokroadikoesoemo, P.s. 1986. *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya.* Penerbit P.T. Gramedia, Jakarta.
- Xiao, R. ; M. Tanida dan S. Takao. 1988. Inulinase from *Cryso sporium pannorum*. *J. Ferment. Technol.* 66 (5) : 244 – 248.
- _____ ; M. Tanida dan S. Takao. 1989. Purification and Some Properties of Endoinulinase from *Cryso sporium pannorum*. *J.Ferment. Bioeng.* 67 (4) : 244 – 248.