

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. BIOLOGI *Aspergillus niger*

1. Sistematika

Kedudukan *Aspergillus niger* dalam sistematika menurut (Sharma, 1989) adalah sebagai berikut :

Divisi	:	Eumycota
Sub Divisi	:	Ascomycotina
Klass	:	Plectomycetes
Ordo	:	Eurotiales
Famili	:	Eurotiaceae
Genus	:	<i>Aspergillus</i>
Species	:	<i>Aspergillus niger</i>

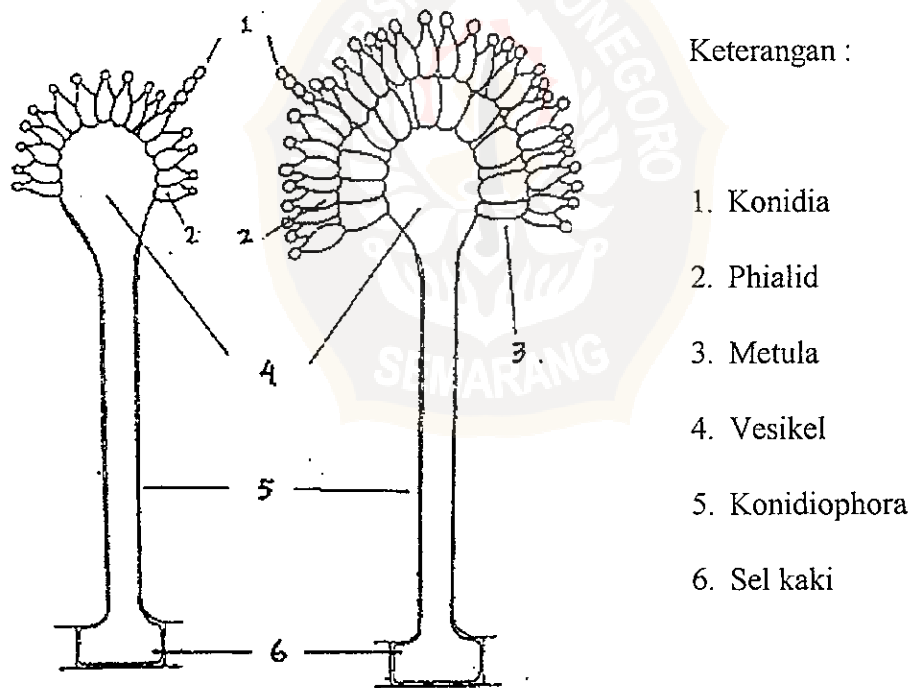
2. Diskripsi dan Morfologi

Aspergillus niger mempunyai miselium bersepta. Hifa vegetatif berada di bawah permukaan substrat digunakan untuk penyerapan makanan, sedangkan hifa yang berada di permukaan atas digunakan untuk reproduksi (Sharma, 1989). Miselium *Aspergillus niger* mengandung pigmen merah, ungu, coklat atau hitam (Raper dan Fennell, 1965).

Aspergillus memiliki sel kaki yang merupakan pembesaran sel tertentu pada miselium. Sel kaki mempunyai dinding yang kuat dan menghasilkan satu

konidiophora yang merupakan cabang tegak, panjang, dan tidak bersepta. Kebanyakan berwarna coklat dan berdinding tebal. Pada vesikel tumbuh ‘sterigmata’ secara serentak ke arah proksimal, satu seri (‘uniseriata’) atau dua seri (‘biseriata’). Konidia tumbuh pada ujung sterigmata yang biasanya tersusun seperti rantai (Fardiaz, 1989).

Konidia besar, bulat, kasar dan padat mengandung pigmen yang berbeda pada masing-masing jenis yang memberikan perbedaan warna seperti hitam kecoklatan, hitam kehijauan, hitam keunguan, hijau kebiruan atau ungu coklat. Kebanyakan galur memiliki sklerotia yang berwarna abu-abu sampai hitam (Raper dan Fennell, 1965).



Gambar 01. Struktur morfologi Aspergillus (Samson, 1995).

Aspergillus niger dapat tumbuh optimal pada suhu 25 - 30°C tetapi sebagian tumbuh baik pada suhu 35 - 37°C (Raper dan Fennell, 1965). pH yang sesuai untuk hidupnya adalah sekitar 4.7 - 9,5 dengan pH optimum 4,9 - 5,2 (Windish dan Mhatre, 1965).

Aspergillus niger telah dikenal sebagai salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan yang tinggi untuk menghasilkan enzim, seperti amilase, glucoamilase, selulase, laktase, protease, dan beberapa asam organik seperti asam sitrat serta asam glukonat (Noris dan Richmond, 1981).

3. Nilai Ekonomis

Aspergillus mempunyai daerah penyebaran yang luas dari daerah kutub sampai daerah tropik. *Aspergillus* juga menyebabkan kontaminasi pada kultur bakteriologi dan mikologi di laboratorium (Alexopoulos dan Mims, 1979).

Meskipun sebagian besar *Aspergillus* bersifat merugikan, sebagian lain bermanfaat bagi manusia karena mempunyai aktivitas enzimatik yang tinggi. Beberapa spesies *Aspergillus* juga digunakan untuk industri asam sitrat dan glutamat (Frazier dan Westhoff, 1988).

Beberapa enzim yang dapat dihasilkan oleh *Aspergillus* diantaranya : amilase (*A. niger*, *A. awanori*, *A. oryzae*), pektinase (*A. niger*), selulase (*A. niger*, *A. aculeatus*, *A. fumigatus*, *A. japonicus*, *A. nidulans*, *A. wentii*, *A. terreus*), hemiselulase (*A. foetidus*, *A. ochraceus*), proteinase (*A. niger*, *A. awanori*, *A. oryzae*, *A. nidulans*, *A. sajae*), lipase (*A. niger*, *A. awanori*), katalase (*A. niger*), glukosa oksidase (*A. niger*) dan phitase (*A. ficuum*, *A. niger*) (Berka, *et al*, 1992).

B. ENZIM AMILASE

1. Klasifikasi Enzim

Enzim amilase termasuk salah satu dari enzim hidrolase, yaitu enzim yang memindah residu glukosil pada oligosakarida, polisakarida dan alkohol sebagai 'aseptor' elektron. Pada intinya enzim amilase akan mengubah pati menjadi gula.

Enzim amilase yang dihasilkan mikroorganisme dapat dibagi dalam tiga kelompok, yaitu :

a. α -Amilase

α -Amilase mempunyai nama sistematik 1,4- α -D-glukan glukonohidrolase (EC 3.2.1.1) dan nama lain glukogenase (Webb, 1992) dihasilkan oleh bakteri dan fungi. Semua α -amilase mempunyai aktivitas sebagai endoamilase yang akan memotong ikatan α -1,4 glukosidik pada bagian tengah atau dalam molekul amilose, amilopektin dan glikogen dengan menghasilkan gula pada konfigurasi- α (Montenecourt *et al*, 1984). Cara kerja enzim α -amilase adalah pertama akan mendegradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa secara acak dan cepat yang diikuti dengan penurunan viskositas larutan. Kemudian setelah itu terjadi pembentukan maltosa dan glukosa yang berlangsung secara lebih lambat (Winarno, 1986).

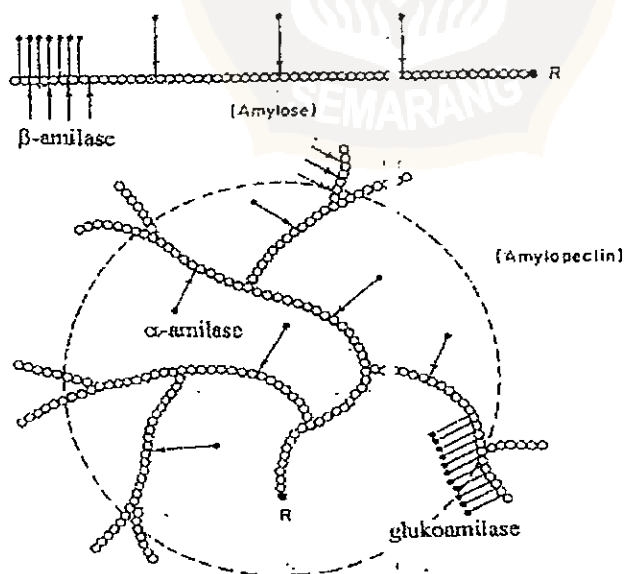
b. β -Amilase

β -Amilase dengan nama sistematik 1,4- α -glukan maltohidrolase (EC 3.2.1.2) (Webb, 1992) adalah amilase yang mempunyai aktivitas

eksoamilase, tersebar pada tumbuhan serta mikroorganisme. β -amilase akan menghidrolisa amilosa, amilopektin, dan glikogen pada tempat nonreduksi dengan menghasilkan maltosa pada konfigurasi β (Montenecourt *et al*, 1984). Akan tetapi degradasi amilopektin oleh enzim ini tidak sempurna hanya 40-60% (Winarno, 1984). β -Amilase spesifik untuk ikatan β -1,4 glukosida kedua dari ujung rantai nonreduksi (Palmer, 1995).

c. Glukoamilase

Glukoamilase dengan nama sistematik 1,4- α -D-glukan glikohidrolase (EC 3.2.1.3) (Webb, 1992) yang akan memotong amilose, amilopektin, dan glikogen pada ikatan α -1,4 dan α -1,6 dari ujung nonreduksi. Akan tetapi ikatan α -1,6 dipotong tidak sebanyak ikatan α -1,4. Hasil hidrolisa dengan amiloglukosidase adalah β -D-glukosa (Montenecourt *et al*, 1984 ; Winarno, 1984).



Gambar 02. Mekanisme reaksi enzim amilase (Windish & Mhatre, 1965).

Dari ketiga jenis enzim amilase tersebut yang dapat dihasilkan oleh *A. niger* ada dua, yaitu dari jenis α -amilase atau 1,4-glukan glukohidrolase (EC. 3.2.1.1) dan glukamilase atau 1,4- α -D-glukan glukohidrolase (EC. 3.2.1.3).

2. Struktur Enzim

Enzim merupakan suatu protein. Selain komponen protein, banyak enzim memerlukan penyusun non protein sebagai katalisator (Montgomery *et al*, 1993). Melalui proses dialisis, enzim dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya, yaitu koenzim dan apoenzim. Bagian koenzim mampu melewati membran dialisator, bersifat nonprotein dan tahan terhadap panas. Komponen ini pada enzim berupa ion logam atau molekul organik seperti vitamin, sedangkan bagian apoenzim tidak dapat melewati membran dialisator berupa koloid protein dan tidak tahan panas. Masing-masing bagian enzim tersebut bila berdiri sendiri tidak aktif, akan tetapi bila digabungkan akan menjadi enzim aktif. Gabungan kedua bagian tersebut dinamakan holoenzim (Winarno, 1983).

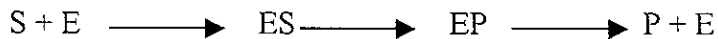
3. Mekanisme Kerja Enzim

Menurut Montgomery *et al* (1993) reaksi enzimatik terdiri dari beberapa tahap, yaitu :

- a. Pembentukan kompleks enzim substrat (ES), E adalah enzim dan S adalah substrat.
- b. Modifikasi dari substrat membentuk produk (P) yang masih terikat dengan enzim (EP).

- c. Pelepasan produk dari molekul enzim.

Secara singkat mekanisme reaksi enzimatik dapat ditulis sebagai berikut :



Penyatuan enzim dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat tersebut bersifat reversibel (dapat balik).

Shahib (1992) menyatakan kemampuan aktivitas suatu enzim sangat dipengaruhi oleh :

- a. pH, enzim dapat bekerja pada pH tertentu, bila di atas atau di bawah pH tersebut aktivitasnya akan menurun.
- b. Suhu, kenaikan suhu sampai suhu optimal akan diikuti oleh kenaikan kecepatan reaksi enzimatik. Kenaikan suhu di atas suhu optimal akan menurunkan kemampuan enzim.
- c. 'Inhibitor', merupakan senyawa penghambat kerja enzim dan jenisnya dapat berupa 'inhibitor' 'kompetitif', non 'kompetitif' maupun 'ankompetitif'.

C. ONGGOK SEBAGAI MEDIA PRODUKSI ENZIM

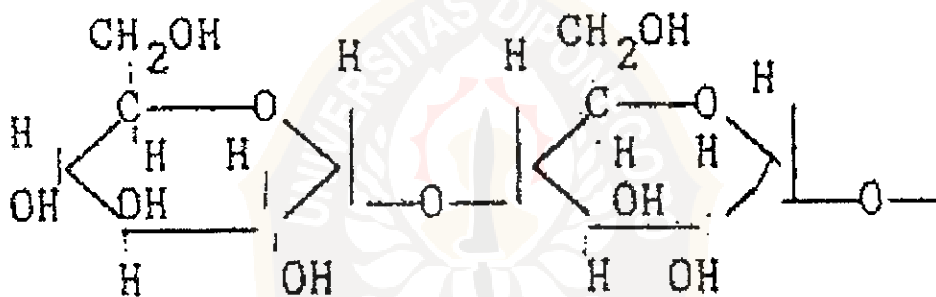
Komposisi media merupakan faktor yang penting bagi pertumbuhan mikroorganisme, sekaligus produksi enzim. Komponen media yang diperlukan adalah unsur karbon, nitrogen, vitamin dan mineral. Kapang memerlukan karbon dengan dua tujuan yaitu sebagai sumber energi dan bahan pembentuk sel (Darwis dan Sukara, 1990).

Karbohidrat yang merupakan sumber energi sekaligus sumber karbon telah lama dikenal, diantaranya pati. Dilihat dari susunannya pati merupakan

polimer dari maltosa atau glukosa. Jumlah molekul glukosa dalam pati tergantung dari jenis tanaman asalnya dan sangat bervariasi. Menurut Fessenden dan Fessenden (1984), secara garis besar pati atau amilum dapat dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu :

a. Amilosa

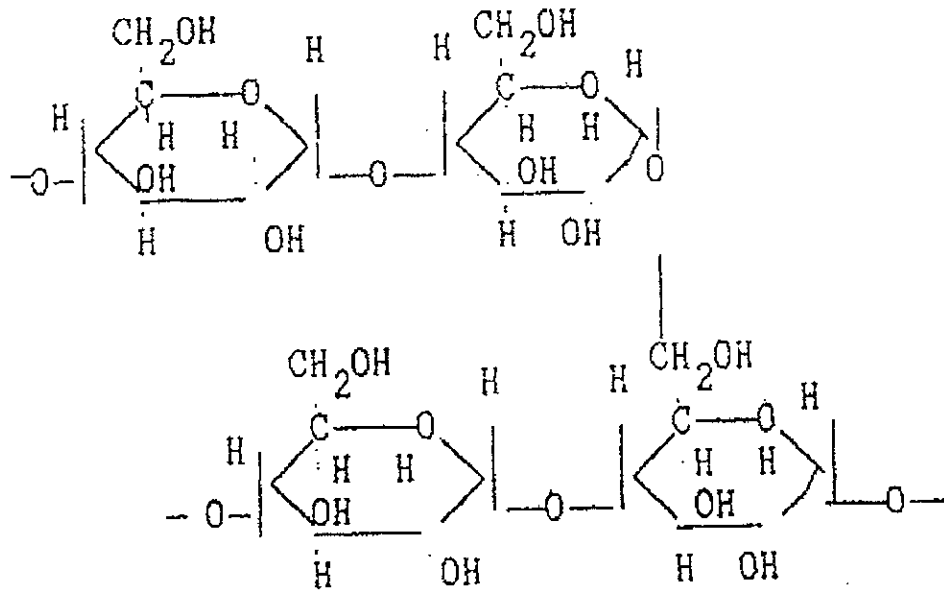
Menyusun 10% - 30% amilum, tidak larut dalam air dingin tetapi larut dalam air panas. Dengan jodium akan memberikan warna biru. BM 10.000 – 50.000. Rantai lurus tersusun atas satuan α -D-glukopiranos. Ikatan glikosidik terjadi antara atom C nomor 1 dengan atom C nomor 4.



Gambar 03. Struktur kimia amilosa (Fessenden dan Fessenden, 1984).

b. Amilopektin

Menyusun 70% - 90% dari pati, bersifat tidak larut dalam air dingin maupun air panas. Amilopektin dengan jodium akan memberikan warna merah sampai lembayung. BM sekitar 50.000 – 1.000.000 yang tersusun atas satuan α -D-glukopiranos. Ikatan glikosida pada rantai lurus seperti pada amilosa (atom C nomor 1 dengan atom C nomor 4), sedangkan ikatan cabang terjadi antara atom C nomor 1 dengan atom C nomor 6.



Gambar 04. Struktur kimia amilopektin (Fessenden dan Fessenden, 1984)

Pati merupakan sumber karbon yang tersedia melimpah di alam dan murah harganya. Pati terdapat pada berbagai hasil pertanian seperti beras, ketela pohon, jagung, ubi jalar dan gandum. Selain itu juga terdapat pada beberapa limbah industri pengolahan hasil pertanian tersebut seperti limbah industri tepung tapioka.

Ketela pohon sudah lama dikenal sebagai bahan pangan sejak jaman dahulu kala. Pengolahan ketela pohon pada industri tapioka akan menghasilkan limbah padat dan cair (Tjokroadikoesoemo, 1993), sedangkan onggok merupakan limbah industri tapioka yang berasal dari proses pengeringan dan pemerasan. Onggok tersusun oleh serat dengan kemampuan mengikat air sangat rendah, sehingga tidak mudah rusak selama penyimpanan (Albert, 1982). Onggok ini selain murah juga mudah didapat karena merupakan hasil

buangan (Sudhagul, 1972). Adapun kandungan nutrisi onggok adalah sebagai berikut :

Tabel 01. Komposisi onggok

Komposisi	Kandungan (%)
Pati	83,23
Serat Kasar	7.30
Air	6.66
Lemak	1.62
Abu	0.71
Protein	0.48

(Sutardi, 1981).

Zat pati yang terkandung dalam onggok akan diubah menjadi gula karena adanya aktivitas enzim amilase dan digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan kehidupan kapang. Pertumbuhan *A. niger* sangat dipengaruhi oleh lingkungannya. Kelimpahan substrat akan diimbangi dengan produksi enzim oleh *A. niger* untuk memanfaatkan substrat tersebut. Hasil produksi enzim amilase akan maksimum bila sumber karbon yang digunakan adalah pati atau maltosa (Berka *et al*, 1992).

C. BEKATUL SEBAGAI SUMBER NITROGEN

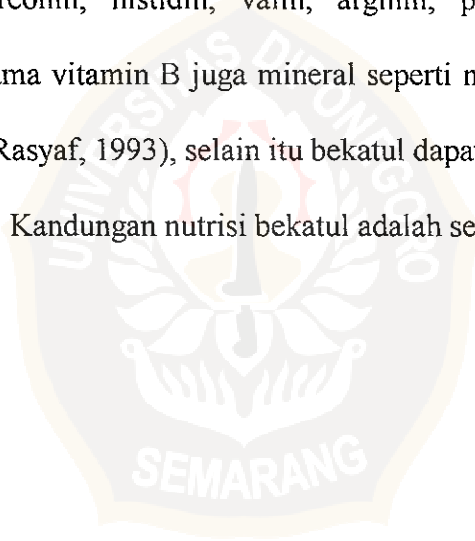
Menurut Nilasari *dkk*, (1995) sumber nitrogen yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme adalah nitrogen organik. Nitrogen organik ini dapat berasal dari asam amino atau protein. Penambahan sumber nitrogen yang biasa digunakan dalam berbagai penelitian di laboratorium adalah garam amonium dan asam amino (nitrogen organik) (Scheigel dan Schmid, 1994).

Jenis nitrogen juga mempengaruhi produktivitas enzim. Selama pertumbuhan,

kapang menggunakan senyawa nitrogen dengan cepat dan pada saat tersebut enzim mulai terdapat dalam medium. Efek protein sebagai sumber nitrogen untuk penyusunan enzim tergantung kandungan asam amino di dalamnya (Windish dan Mhatre, 1965).

Bekatul dipilih sebagai sumber nitrogen karena mengandung protein yang tinggi. Bekatul merupakan hasil samping proses penggilingan padi, yang terdiri dari lapisan dedak sebelah dalam dengan sebagian lembaga dan endosperm yang bertepung (Rasyaf, 1993).

Bekatul mengandung berbagai asam amino seperti metionin, cistine, lisin, triptopan, isoleusin, treonin, histidin, valin, arginin, phenilalanin, serta beberapa vitamin terutama vitamin B juga mineral seperti magnesium, sulfur, mangan, besi dan zink (Rasyaf, 1993), selain itu bekatul dapat diperoleh dengan murah di pasaran bebas. Kandungan nutrisi bekatul adalah sebagai berikut:



Tabel 02. Komposisi bekatul

Kandungan	Jumlah
Protein	13,5 %
Serat Kasar	13,0 %
Phospor	1,7 %
Leusin	1,2 %
Glisin	1,0 %
Magnesium	0,95 %
Lemak	0,6 %
Valin	0,6 %
Lysin	0,5 %
Arginin	0,45 %
Phenilalanin	0,41 %
Threonin	0,4 %
Isoleusin	0,39 %
Cystein	0,3 %
Histidin	0,25 %
Sulfur	0,18 %
Metionin	0,17 %
Kalsium	0,1 %
Triptopan	0,1 %
Biotin	4200,0 mg/kg
Cholin	303,0 mg/kg
Thiamin	22,8 mg/kg
Asam pantotenat	22,0 mg/kg
Riboflavin	3,0 mg/kg
Besi	190,0 ppm
Zink	29,9 ppm
Cuprum	13,0 ppm
Mangan	1,37 ppm

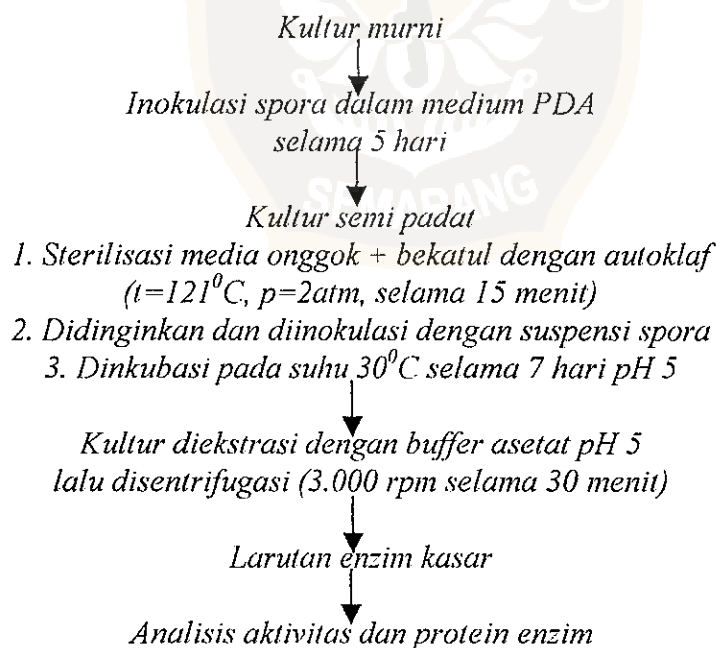
(Rasyaf, 1993)

E. PROSES PRODUKSI ENZIM

Akhir-akhir ini semakin banyak dipelajari mekanisme biosintesa berbagai komponen sel seperti biosintesa asam lemak, asam amino dan juga protein termasuk didalamnya enzim. Protein terdiri dari berbagai residu asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida yang akan membentuk rantai polipeptida yang panjang (Neilands and Stumpf, 1966).

Sintesa enzim dapat diinduksi oleh substrat yang spesifik, hal ini dapat ditemui pada mikroorganisme. Keberadaan induser di dalam substrat akan mempengaruhi sintesa enzim tersebut. Pada sintesa enzim proses pertama yang terjadi adalah pembentukan asam amino aktif yang dapat bergabung atau menempel pada RNA. Setelah itu terjadi pengurutan asam amino dan pembentukan rantai peptida yang bersama-sama dengan asam amino akan membentuk rantai polipeptida (Bronk, 1973).

Keberhasilan produksi enzim dari mikroorganisme tergantung pada kultur yang digunakan, komposisi medium, dan kondisi lingkungan fermentasi yang diberikan. Salah satu metode yang digunakan adalah kultur semi padat. Kultur ini telah diterapkan secara luas dalam memproduksi enzim secara komersial seperti enzim amilase, protease, dan selulase (Rahman, 1992).



Gambar 05. Diagram alir kultur semi padat dalam produksi enzim