

ALTERNATIF ENZIM INULINASE DARI KAPANG ENDOFIT HASIL ISOLASI KULIT UMBI DAHLIA MERAH (*Dahlia spp*) LOKAL DAN APLIKASINYA SEBAGAI SUMBER ENZIM INULINASE UNTUK PEROLEHAN SERAT INULIN

Agustine Susilowati

Pusat Penelitian Kimia – LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang 15314

Telephone +62-021-7560929

E-mail: agustine_1408@yahoo.co.id

Abstrak

Umbi dahlia merah (*Dahlia sp.*) dari Sukabumi merupakan sumber mikroba penghasil enzim inulinase diantaranya adalah kapang endofit yang diisolasi dari kulitnya setelah dilayukan beberapa waktu (74-6 hari). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis kapang endofit hasil isolasi kulit umbi dahlia merah (*Dahlia spp*) yang berpotensi sebagai penghasil enzim inulinase melalui perbedaan media selektif dan aktifitas inulinase optimum. Isolasi dilakukan melalui pertumbuhan kapang pada media PDA, koloni dominan selanjutnya ditumbuhkan pada media PDA yang diperkaya dengan inulin 1% pada suhu 30°C selama 72 jam untuk memperoleh kultur stock. Aplikasinya dalam pembuatan enzim inulinase dilakukan dengan menggunakan media selektif sebagai media A, B, C dan D selama 72 jam pada suhu 30°C disertai agitasi 160 rpm. Hasil penelitian menunjukkan diperolehnya 4 jenis kapang endofit dominan dengan aktifitas inulinase optimum pada media yang berbeda yaitu kapang *Scopulariopsis sp.-CBS₁* pada media A, *Acremonium sp.-CBS₃* pada media D, kelas *Deuteromycetes sp.-CBS₄* pada media D dan *Aspergillus sp.-CBS₅* pada media D. Aplikasinya dalam pembuatan enzim inulinase kasar melalui inkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam, pH 5 menghasilkan aktifitas inulinase berturut-turut sebesar 0,0872, 0,1843, 0,00463 dan 0,0268 U/mL. Dalam hidrolisisnya pada suhu 30°C selama 120 jam, pH 5 dengan konsentrasi 12% (v/b inulin kering) untuk perolehan serat inulin, enzim inulinase kasar dari *Acremonium sp.-CBS₃* sebagai jenis inulinase terbaik mampu meningkatkan SDF (Soluble Dietary Fiber) sebesar 86,04% dari SDF inulin (1,84% b.k) menjadi SDF pada hidrolisat inulin (13,182% b.k).

Kata-kata kunci: inulinase, *Scopulariopsis sp.-CBS₁*, *Acremonium sp.-CBS₃*, Kelas *Deuteromycetes-CBS₄*, *Aspergillus sp.-CBS₅*.

Abstract

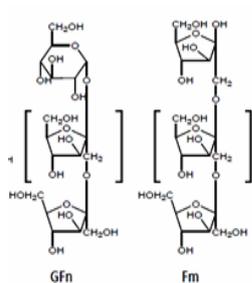
Red dahlia (*Dahlia spp.*) tuber from Sukabumi (West Java) is microbe source of inulinase enzyme producer, such as endofite fungi. Endofite fungi was isolated from its skin after wilted several time (4 – 7 days). The goal of this experiment was to find out kind of endofite fungi as a result of isolation of red dahlia tuber skin which has potential use as inulinase enzyme producer through difference in selective media and optimal inulinase activity. Isolation was performed via fungi growth in Potato Dextrose Agar (PDA) to yield colony, in which dominant colonies were then grown in inulin 1 % rich PDA media at 30 °C for 72 hours to result stock culture. Its application in preparation of inulinase enzyme was employed using selective media as media A, B, C and D at 30 °C followed by agitating 160 rpm for 72 hours. Result of experiment showed that it had been get 4 kinds of dominant endofite fungi with optimal inulinase activity in different media, fungi of *Scopulariopsis sp.-CBS₁* in media A, fungi of *Acremonium sp.-CBS₃* in media D, fungi of *Deuteromycetes sp.-CBS₄* class in media D, and fungi of *Aspergillus sp.-CBS₅* in media D. Its application in preparation of crude inulinase enzyme through incubation at pH of 5 and 30 °C for 72 hours generated subsequent inulinase activities of 0.0872, 0.1843, 0.00463 and 0.0268 U/mL. On the hydrolyzed at temperature of 30°C, 120 hour, pH 5, concentration of 12% (v/w dry inulin) for recovery dietary fiber of inuline, inulinase enzyme of *Acremonium sp.-CBS₃* as kind of enzyme would increase SDF on 86,04% from 1,84% (dry weight) as inulin to 13,182% (dry weight) as hydrolyzed inulin.

Kata-kata kunci : inulinase, *Scopulariopsis sp.-CBS₁*, *Acremonium sp.-CBS₃*, Class of *Deuteromycetes-CBS₄*, *Aspergillus sp.-CBS₅*.

PENDAHULUAN

Enzim inulinase (R-fruktosidase) bekerja dengan memotong satuan fruktosa dari inulin pada posisi terminal 0-2,1 dan digolongkan sebagai 2,1-8-D-frukto-fruktanohidrolase (EC 3.2.1.7) (Vandame dan Derycke, 1983). Kemampuan ini berperan dalam menghidrolisis inulin dari umbi dahlia untuk memperoleh fruktosa atau fruktooligosakarida (FOS) sebagai serat inulin baik SDF (Soluble Dietary Fiber/serat larut air) maupun sebagai IDF (Insoluble Dietary Fiber/serat tak larut air) untuk anti kolesterol. Enzim inulinase yang diperoleh dari tanaman (*Chycory*, *Jerusalem*, *Artichoke* dan Dahlia) kurang potensial dibandingkan dengan enzim inulinase yang dihasilkan dari mikrobia (kapang, khamir dan bakteri) (Vandame dan Derycke, 1983). Mikrobia diketahui lebih potensial sebagai penghasil enzim oleh karena pertumbuhan mikrobia yang relatif lebih cepat (Crueger dan Crueger, 1984). Kapang merupakan mikroba penghasil enzim inulinase (kapang endofit) yang dapat diisolasi dari bagian-bagian kulit umbi atau disebut sebagai kapang endofit, selain dari tanah tempat tumbuh umbi.

Untuk memperoleh FOS dari umbi dahlia sebagai SDF dan IDF, upaya isolasi kapang untuk memperoleh enzim inulinasenya merupakan salah satu tahapan penting sebagai acuan pada proses produksi baik enzim inulinase maupun FOS dalam skala yang lebih besar. Pemilihan umbi dahlia merah (*Dahlia* spp. L.) dari Sukabumi didasarkan atas keunggulan varietasnya yang lebih baik dari varietas lainnya dalam menghasilkan inulin berdasarkan atas komposisinya (Iskandar, dkk., 2011).



SDF dari inulin diyakini sebagai oligosakarida (oligoglukosa dan oligofruktosa) yang larut dalam air, sedangkan IDF adalah komponen oligosakarida tak larut dalam air berupa dekstrin atau oligosakarida yang tak terhidrolisis oleh enzim inulinase. Hidrolisis pada inulin menggunakan enzim inulinase yaitu ekso-inulinase (β -D fruktanfruktohidrolase, EC 3.2.1.80) dan endo inulinase (2,1- β -D-fruktanfruktanohidrolase, EC 3.2.1.7) akan menghasilkan fruktooligosakarida (Nakamura dkk., 1995).

Gambar 1. Struktur kimia inulin dan oligofruktosa (Leenheer and Hoebregs, 1994).

Dalam isolasi kapang, perlakuan tahapan proses dan pemilihan jenis media untuk produksi enzim inulinase akan berpengaruh pada hasil isolasi dan aktifitas enzimnya selain dari kondisi lingkungan (pH, suhu, waktu dan faktor interen kapang) dan komposisi media. Beberapa jenis kapang yang telah diisolasi diantaranya adalah *Aspergillus clavatus* dari umbi dahlia yang tumbuh di Brastagi menghasilkan aktifitas inulinase yang cukup tinggi (Saryono, dkk, 2002), selain dari enzim inulinase dari *Aspergillus niger* yang telah dikomersialkan (Anonymous, 1980). Setiap jenis kapang memungkinkan diperolehnya jenis inulinase yang spesifik (Nakamura dkk., 1978), meskipun begitu hampir seluruh inulinase bersifat sebagai pemecah sehingga hasil hidrolisisnya semuanya berbentuk monosakarida. (Snyder dan Phaff, 1962). Dalam aplikasinya untuk memperoleh fruktooligosakarida sebagai serat inulin, penggunaan enzim inulinase kasar dilakukan melalui hidrolisis dengan perkiraan kondisi terbaik sesuai dengan kondisi inkubasi dalam produksi enzim inulinase.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik kapang endofit hasil isolasi dari umbi dahlia merah lokal (Sukabumi) dan potensinya sebagai sumber enzim inulinase yang diinkubasi pada 4 jenis media selektif yaitu A, B, C dan D selama 72 jam pada suhu 30°C disertai agitasi 160 rpm. Aplikasi perolehan enzim inulinase kasar dari jenis kapang dengan aktifitas terbaik dilakukan dalam hidrolisis inulin dari umbi yang sama pada kondisi tetap yaitu pH 5, konsentrasi enzim inulinase kasar 12% v/b inulin kering, selama 120 jam pada suhu 30°C.

METODOLOGI

Bahan dan Peralatan

Bahan utama penelitian ini berupa umbi dahlia merah (*Dahlia* spp. L.) dari Sukabumi, Etanol 30 dan 50%, bahan-bahan kimia untuk proses hidrolisis, media PDA, pewarna Lactofenol cotton blue, medium selektif inulinase: $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, FeSO_4 , ZNSO_4 , CaCl_2 , H_3BO_3 ,

$(\text{NH}_4)_2\text{MO}_7\text{O}_{24}$, CuCl_2 , buffer citrat-phospat, buffer asetat, inulin komersial (Orafti) dan bahan-bahan kimia untuk analisis. Peralatan proses yang digunakan berupa peralatan hidrolisis skala laboratorium (shaker), peralatan proses mikrobiologi (Laminar flow, inkubator, vibrator, autoclave), mikroskop, sistem sel mikrofiltrasi (MF) berpengaduk (Amicon), homogenizer (Ultra-Turrax), instrument spektrofotometer dan pH-meter.

Rancangan penelitian dan analisis

Penelitian ini dilakukan dengan variasi perolehan isolat kapang yang berbeda dan hasil produksi enzim inulinasenya pada skala labu kocok yang digunakan dalam hidrolisis inulin dari umbi yang sama. Analisis dilakukan terhadap SDF, IDF, total padatan (metode Gravimetri), gula pereduksi (metode Somogyi-Nelsen), total gula (Metode Fenol-Sulfat) (Anonymous, 1995) dan aktifitas spesifik enzim inulinase (Chaplin and Kennedy, 1994) dan identifikasi kapang secara mikroskopis menggunakan melalui pewarnaan preparat menggunakan pewarna Lactofenol cotton blue. Aplikasi enzim inulinase kasar untuk perolehan serat inulin dilakukan melalui hidrolisis inulin pada kondisi tetap: pH 5,0, suhu 30°C, selama 120 jam pada konsentrasi enzim inulinase kasar 12% (v/b inulin kering) dari jenis kapang dengan aktifitas inulinase terbaik.

Tahapan proses

1. Isolasi dan identifikasi kapang.

Sejumlah mikroba (± 1 gram) yang tumbuh pada kulit umbi dahlia merah dilarutkan dalam 10 mL Tween 80 dan diencerkan dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-10} dengan aquadest steril. Masing-masing pengenceran diambil 0,1 mL dan ditumbuhkan pada media Potato Dextrose Agar (PDA) yang telah ditambah dengan inulin (komersial) 1% dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 3 x 24 jam atau sampai terlihat pertumbuhan kapang. Selanjutnya koloni kapang dipisahkan, koloni yang murni dibiakkan kembali pada agar miring PDA dan disimpan sebagai kultur stok. Identifikasi kapang kapang dilakukan melalui pembuatan dan pewarnaan preparat menggunakan Lactophenol cotton blue selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x (Fardiaz, 1998) .

2. Produksi enzim inulinase

Disiapkan kultur fermentasi dengan mengambil 0,5-1 ose kultur stock kapang dilarutkan dalam 25 mL medium PDA pada pH 5,0 selanjutnya di inkubasi dalam inkubator goyang dengan agitasi 100 rpm selama 72 jam pada suhu 30 °C. Untuk membuat/mengekstraksi enzim inulinase (kasar/crude enzim), 2,5 mL kultur fermentasi dimasukkan dalam erlemeyer volume 50 mL yang berisi 150 mL media masing-masing sebagai media A,B,C dan D yang telah disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya di inkubasi selama 120 jam pada agitasi 100 rpm pada suhu 30°C. Dari inukubasi ini akan diperoleh suspensi enzim inulinase yang selanjutnya disentrifuge pada kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Filtrat merupakan enzim inulinase kasar, selanjutnya dilakukan uji aktifitas inulinase. Komposisi masing-masing media ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi media untuk produksi enzim inulinase.

Media	Komposisi
A	Inulin Orafti 1%, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 0,5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,05%, FeSO_4 0,015%, pH 6,0.
B	Inulin Orafti 1%, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 0,5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,05%, FeSO_4 0,015% dilarutkan dalam buffer asam sitrat dan buffer pospat ($\text{Na}_2\text{HPO}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) pada pH 5,0.
C	Inulin Orafti 1%, $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 0,5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,05%, FeSO_4 0,015% dilarutkan dalam buffer sitrat dan buffer asetat pH 5,0.
D	Inulin Orafti 1%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,1%, ZnSO_4 0,02%, CaCl_2 0,01%, H_3BO_3 0,0056%, $(\text{NH}_4)_6 \text{MO}_7 \cdot \text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,0019%, $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 0,0025% , pH 5.

3. Aplikasi enzim inulinase dalam hidrolisis inulin

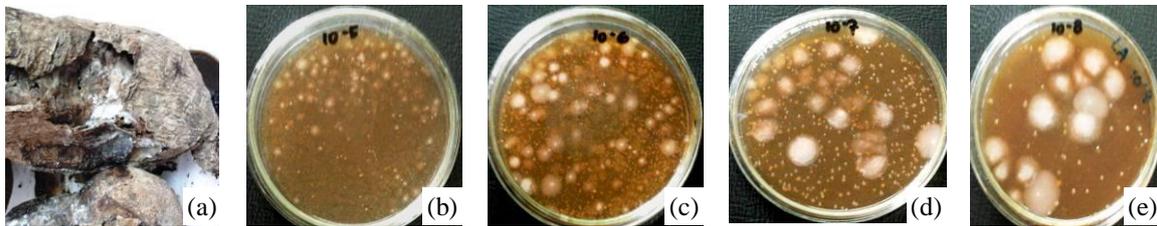
Aplikasi penggunaan enzim inulinase dalam hidrolisis inulin untuk perolehan serat pangan dilakukan pada kapang dengan aktifitas inulinase terbaik. Sejumlah inulin yang dihasilkan dari ekstraksi umbi dahlia merah (*Dahlia* spp.L) Sukabumi (rasio 1 bagian umbi dengan 2 bagian air), gelatinisasi pada suhu 85-90°C selama 30 menit, filtrasi lolos 80 mesh dan pengendapan menggunakan etanol 50%, dilakukan pengaturan pH (10) (Susilowati dkk., 2012) selanjutnya

dibubuhkan enzim inulinase kasar dari jenis kapang terpilih pada konsentrasi 12% (v/b inulin), pH 5,0 dengan pembanding tanpa pembubuhan enzim inulinase (0%). Suspensi selanjutnya dipanaskan dalam shacker disertai agitasi pada kecepatan putar 160 rpm selama 120 jam pada suhu 30°C sehingga diperoleh hidrolisat sebagai serat inulin.

HASIL PENELITIAN

1. Tingkat pertumbuhan dan karakteristik isolat kapang.

Hasil isolasi kapang endofit dari kulit umbi dahlia merah (*Dahlia* spp. L.) yang telah dilayukan pada medium PDA selama 1-7 hari pada suhu 30°C menghasilkan pertumbuhan 4 jenis isolat kapang dominan sebagai CBS₁, CBS₃, CBS₄ dan CBS₅. Gambar 2a, 2b, 2c, 2d dan 2e memperlihatkan kulit umbi dahlia yang telah dilayukan selama 1-7 hari sebagai sumber kapang endofit dan pertumbuhan mikrobia selama 3 hari pada media PDA pada berbagai tingkat pengenceran. Tampak bahwa pada pengenceran yang semakin tinggi (10^{-8}) tingkat pemisahan mikrobia semakin mudah dilakukan. Pada pengenceran $<10^{-5}$ tidak memperlihatkan pertumbuhan yang cukup baik untuk dilakukan pemisahan koloni kapang. Dari pemisahan koloni diperoleh 4 jenis koloni kapang yang dominan untuk selanjutnya diinkubasi pada PDA sebagai agar miring sebagai stok kultur.



Gambar 2. Umbi dahlia merah Sukabumi yang telah dilayukan selama 1-7 hari (a), pertumbuhan mikrobia dari suspensi kulit umbi dalam tween 80 pada pengenceran berturut-turut 10^{-5} (b), 10^{-6} (c), 10^{-7} (d) dan 10^{-8} (e) selama 3 hari pada suhu inkubasi 30°C.

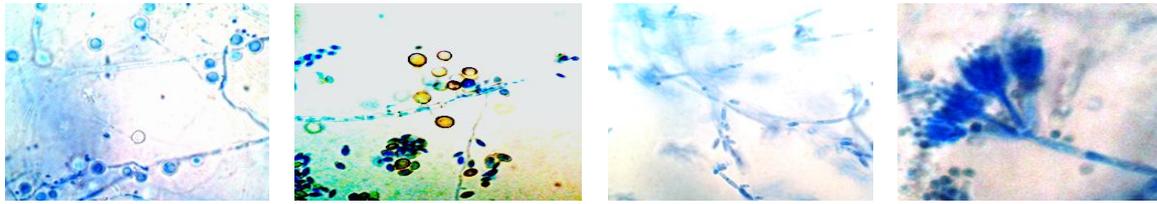
Stok kultur pada agar miring PDA memperlihatkan pertumbuhan yang semakin nyata dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Karakteristik stock kultur kapang ditunjukkan pada Gambar 3a, 3b, 3c dan 3d, sedangkan identifikasi secara mikroskopis ditunjukkan pada Gambar 4a, 4b, 4 dan 4d.



Gambar 3. Isolat kapang CBS₁ (a), CBS₃ (b), CBS₄ (c) dan CBS₅ dalam media PDA pada inkubasi 7 hari, suhu 30°C.

Isolat kapang CBS₁ pada agar miring (stok kultur) secara spesifik memperlihatkan koloni dengan pigmen terlihat berwarna coklat kehijauan dan berfilamen seperti ditunjukkan pada Gambar 3a. Konidia pada koloni tunggal membentuk bulatan (*globe*) sampai menyerupai piringan dengan kelebatan antara halus sampai kasar dan hyaline berwarna coklat. Kapang CBS₁ diidentifikasi sebagai genus *Scopulariopsis* dan termasuk dalam kingdom fungi (jamur), divisi Ascomycota, klas Sordariomycetes, ordo Microascales, family Microascaceae dan genus *Scopulariopsis*. Jamur ini secara bebas ditemukan di alam dan berkembang biak di dinding yang lembab, papan selulosa atau kertas dinding (*wall paper*), kayu, lantai dan matras. Spesies *Scopulariopsis* dapat diisolasi dari karpet, pengepakan makanan dari kayu, sepatu dan bubur kayu, namun spesies ini juga tumbuh baik pada penyimpanan daging (Anonymous, 2013). Secara mikroskopis *Scopulariopsis* sp. tampak adanya conidia sel silindris berbentuk

bulat seperti ditunjukkan pada Gambar 4a. Terdapatnya *Scopulariopsis* sp pada kulit umbi dahlia merah dimungkinkan karena spesies ini menyukai kayu (lignin, selulosa) sebagai habitatnya.

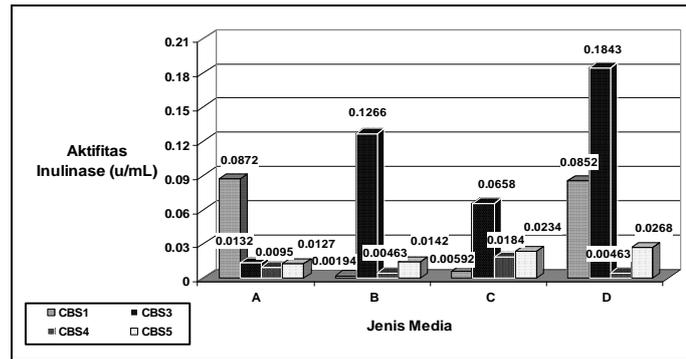


Gambar 4. *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (a), *Acremonium* sp-CBS₃ (b), Kelas *Deuteromycetes* CBS₄ (c) dan *Aspergillus* sp-CBS₅.

Isolat kapang CBS₃ menunjukkan koloni yang halus pada permukaan agar dengan gradasi warna antara putih sampai putih kecoklatan, halus dan memperlihatkan pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan isolat kapang yang lain. Sampai hari ke 7, semakin tampak gradasi warna pigmen hijau tua, mengerak pada lapisan bawah tabung dan terdapat spora pada permukaan media. Secara mikroskopis isolat ini memperlihatkan sebaran miselium dimana tampak percabangan pada bagian basal (basitonous) dengan konidia bersel satu dan memiliki hialin (berpigmen) dan dimungkinkan kapang CBS₃ ini adalah *Acremonium* sp. *Acremonium* sp termasuk dalam kingdom fungi (jamur), divisi Ascomycota, ordo Hypocreales, family Hypocreaceae dan genus *Acremonium* dan terdapat pada tanaman dan tanah dan merupakan sumber anti biotika diantaranya cephalosporin (CPC) (Sarookhani, *et al*, 2007). Keberadaannya pada kulit umbi dahlia merah dimungkinkan karena spesies ini menyukai tanaman dan tanah sebagai habitatnya. Isolat kapang CBS₄ pada agar miring secara spesifik memperlihatkan filament yang lebat berwarna putih dengan idensifikasi sebagai fungi imperfecti (tak sempurna). Tampak adanya septat dengan masing-masing hifa yang berisi inti (nucleus) 1 atau lebih. Dari tampakkan secara keseluruhan, isolat kapang CBS₄ dimungkinkan sebagai kelas *Deuteromycetes* dengan germinasi secara seksual, oleh karena terlihat askopora dalam askus dan lepasan askopora yang bertebaran disekelilingnya seperti ditunjukkan pada Gambar 4c. Tampakkan ini menjadi dugaan bahwa kapang berada pada tahapan germinasi dari kelas *Ascomycetes* pada tahapan seksual *Aspergillus* maupun *Penicillium*. Diketahui bahwa kapang-kapang imperfecti ini tersebar di alam (tanah) yang berkompetensi dengan bakteri tanah dan jamur yang lain dalam memproduksi antibiotik (Alexpoulus & Mims 1979). Fungi ini memiliki peranan penting dalam industri antibiotik misalnya *Penicillium* dan Griseofulvin yang diproduksi oleh *Penicillium*, sedangkan *Aspergillus* berperan dalam industri pangan (kecap, savory saus) dan beberapa spesies berperan dalam industri farmasi diantaranya adalah dalam produksi lovastatin sebagai senyawa anti kolesterol (Saimee, 2003). Isolat kapang CBS₅ pada agar miring secara spesifik memperlihatkan spora dan miselium berwarna hijau, halus menyerupai beludru (velvety) yang lebat dan memenuhi hampir seluruh permukaan agar seperti ditunjukkan pada Gambar 3d. Miselium tampak bercabang dan muncul pada permukaan agar dengan koloni yang kompak, konidiofora tebal dan tampak adanya konidia berwarna hijau yang spesifik. Secara mikroskopis terlihat sel banyak cabang dengan ujung miselium menyerupai gada (calvate) yang halus sehingga secara keseluruhan diidensifikasi sebagai *Aspergillus* sp dan dimungkinkan sebagai *Aspergillus clavatus* seperti ditunjukkan pada Gambar 4d. Diketahui bahwa kapang ini biasa didapat pada umbi dahlia oleh karena menunjukkan kespesifikannya sebagai sumber enzim inulinase (Saryono, 2002) dan ditemukan di daerah Brastagi, Sumatra Utara dan Bandungan, Jawa Tengah (Wijarnaka, 2004).

2. Pengaruh jenis media terhadap aktifitas enzim inulinase

Inkubasi kultur stok kapang dalam media yang berbeda dalam produksi enzim inulinase skala labu kocok setelah sentrifuge pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit menghasilkan dengan aktifitas inulinase seperti ditunjukkan pada Gambar 5.



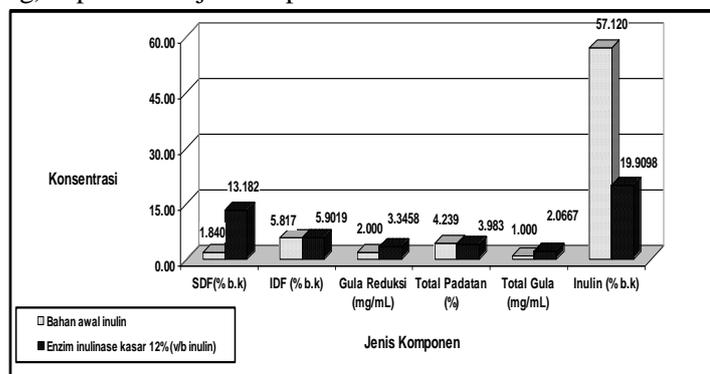
Gambar 5. Hubungan antara jenis media dan jenis kapang terhadap aktifitas inulinase dalam inkubasi pada suhu 30 °C selama 120 jam.

Tampak bahwa jenis media dan kultur kapang cenderung berpengaruh terhadap aktifitas inulinase. Aktifitas inulinase terbaik pada media A dicapai oleh kultur kapang *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (0,0872 U/mL), diikuti dengan *Acremonium* sp-CBS₃ (0,0132U/mL), *Aspergillus* sp-CBS₃ (0,0127 U/mL) dan kelas *Deuteromyces*-CBS₄(0,0095 U/mL). Penggunaan media A yang didominasi oleh komponen (NH₄)₂PO₄ (0,5%) pada pH 6, selain dari MgSO₄.7 H₂O (0,05%) dan FeSO₄ (0,015%), dengan sumber carbon inulin komersial 1% merupakan media dengan unsur N dominan sebagai sebagai sumber protein, dengan kata lain diketahui bahwa *Scopulariopsis* sp-CBS₁ lebih memerlukan sumber protein untuk metabolisme pertumbuhannya sehingga dihasilkan aktifitas inulinase terbaik. Telah diketahui bahwa *Scopulariopsis* sp juga merupakan mampu mengasilkan enzim xylanase (Afsal dkk., 2005) dan sumber enzim β-glukosidase (Pastore dan Park, 1980) sejalan dengan kemampuannya sebagai sumber inulinase. Penggunaan media B yang didominasi komponen (NH₄)₂PO₄ (0,5%) juga menghasilkan aktifitas inulinase terbaik pada *Acremonium* sp-CBS₃ (0,1266 U/mL), lebih tinggi dibandingkan dengan *Aspergillus* sp- CBS₃ (0,0142 U/mL), kelas *Deuteromyces* - CBS₄(0,00463 U/mL) dan *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (0,00194 U/mL). Perbedaan pH (5) dan penggunaan buffer asam sitrat dan buffer pospat dibandingkan dengan media A menjadikan perolehan aktifitas inulinase yang lebih baik. Diduga, penggunaan larutan buffer (asam sitrat dan buffer pospat) dalam inkubasi ini menjadikan pH lebih stabil sehingga pertumbuhan dan aktifitas inulinase lebih tinggi selain dari faktor viabilitas dan faktor interen *Acremonium* sp-CBS₃. Diketahui beberapa spesies *Acremonium* (*A. butiry* dan *A.strictum* dapat mendegradasi polisakarida (pectin, CMC), sedangkan *A. kiliense* mampu mendegradasi pati (Peberdy, 1987). Kapang *Acremonium* sp. juga mampu memproduksi enzim glukoamilase, enzim phytase dari tanaman kedele yang mendegradasi asam phytat pada kedele (Marlida, 2001), dan enzim sellulase yang mendegradasi bahan berlignoselulosa (Astutik, dkk, 2005). Pada fungsinya sebagai sumber antibiotik CPC (Cephalosporine), tampak bahwa pertumbuhannya memerlukan sumber gula (Sukrosa 20%) selain dari komponen lainnya (DL-Methionine, Na₂SO₄.2H₂O, MgSO₄.7H₂O dan soy bean meal) pada suhu 27°C selama 72 jam (Sarookhani dkk., 2007). Inkubasi dengan media C dengan komponen yang sama dengan media A dan B, namun menggunakan larutan buffer sitrat dan buffer asetat pada pH 5, juga menghasilkan optimisasi jenis kapang yang dicapai oleh *Acremonium* sp-CBS₃ (0,0658 U/mL) diikuti oleh *Aspergillus* sp- CBS₃ (0,0234 U/mL), kelas *Deuteromyces*-CBS₄(0,0184U/mL) dan *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (0,00592U/mL). Kecenderungan yang sama juga tampak pada inkubasi dengan media D dengan komponen yang lebih bervariasi dan pengaturan pH tanpa pembubuhan larutan buffer menghasilkan optimisasi aktifitas inulinase yang dicapai oleh *Acremonium* sp-CBS₃ (0,1843U/mL) diikuti oleh *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (0,0852 U/mL), *Aspergillus* sp-CBS₃ (0,0268 U/mL) dan kelas *Deuteromyces*-CBS₄(0,00463/mL). Hal ini menunjukkan bahwa inkubasi *Acremonium* sp-CBS₃ baik dengan menggunakan media B maupun C membutuhkan buffer asam sitrat, buffer pospat, buffer asetat untuk kestabilan pH media (5,0) yang berpengaruh pada pertumbuhan dan aktifitas inulinase, sedangkan dengan media D optimisasi dicapai dengan penambahan komponen-komponen lain yaitu ZnSO₄ 0,02%, CaCl₂ 0,01%, H₃BO₃ 0,0056%,

$(\text{NH}_4)_6 \text{MO}_7 \cdot \text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,0019%, $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 0,0025%, selain dari Inulin 1% (Orafti), $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,1% pada pH yang sama (5,0). Secara keseluruhan, jenis media terbaik adalah media D pada aktifitas inulinase optimum sebesar 0,1843U/mL yang dicapai oleh *Acremonium* sp-CBS₃.

3. Pengaruh hidrolisis enzim inulinase kasar terhadap komposisi hidrolisat inulin.

Aplikasi dilakukan dari jenis kapang dengan aktifitas inulinase terbaik yaitu dari kapang *Acremonium* sp-CBS₃ melalui hidrolisis inulin dari umbi yang sama pada pH 5, konsentrasi enzim inulinase kasar 12% (v/b inulin kering), agitasi 160 rpm, selama 120 jam pada suhu 30°C dengan pembandingan bahan awal inulin tanpa proses hidrolisis. Komposisi inulin sebagai substrat menunjukkan total padatan sebesar 4,239%. Gula reduksi 2,0 mg/mL, inulin 57,12% (berat kering), total gula 1,0 mg/mL, SDF 1,84% (berat kering) dan IDF 5,817% (berat kering). Proses hidrolisis inulin menggunakan enzim inulinase kasar dari *Acremonium* sp-CBS₃ (12% b/v inulin) menghasilkan hidrolisat dengan komposisi total padatan sebesar 3,983 %. Gula reduksi 3,3458 mg/mL, inulin 19,9098% (berat kering), total gula 2,0667 mg/mL, SDF 13,182% (berat kering) dan IDF 5,9019% (berat kering) seperti ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pengaruh jenis bahan terhadap konsentrasi komponen hidrolisat inulin menggunakan enzim inulinase kasar dari *Acremonium* sp-CBS₃ pada suhu 30°C, pH 5, 160 rpm selama 120 jam.

Pada keadaan ini, hidrolisis meningkatkan SDF, IDF, Gula reduksi, total gula, berturut-turut sebesar 86,04, 1,46, 67,29 dan 51,61% namun menurunkan inulin dan total padatan masing-masing sebesar 65,14 dan 6,04% pada hidrolisat dibandingkan dengan tanpa hidrolisis. Peningkatan SDF, IDF, Gula reduksi dan total gula disebabkan oleh aktifitas inulinase dalam menghidrolisis inulin yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan (pH, suhu, waktu hidrolisis) dan konsentrasi enzim. *Acremonium* sp memiliki kondisi terbaik hidrolisis pada suhu 30°C, pH 5 meskipun demikian kapang ini juga memiliki aktifitas enzim glukamilase dan α -Amylase pada kondisi yang sama (Marlida, 2001) sehingga dimungkinkan peningkatan ini tidak sepenuhnya oleh enzim inulinase saja. Perubahan komposisi SDF, IDF, Gula reduksi dan total gula menyebabkan terjadinya penurunan inulin dan total padatan. Penurunan total padatan disebabkan oleh kondisi proses, diantaranya suhu dan waktu (30°C, 120 jam) menyebabkan semakin tinggi tingkat kelarutan seluruh komponen, sedangkan penurunan inulin disebabkan oleh sebagian inulin telah terhidrolisis menjadi gula sebagai SDF dan IDF. Meskipun demikian tidak seluruh inulin dapat terhidrolisis dengan enzim ini dan menyisakan 65,14% dari keseluruhan inulin setelah hidrolisis. Hal ini disebabkan selain tingkat kemurnian inulinase juga oleh faktor-faktor lingkungan hidrolisis.

KESIMPULAN

Isolasi kapang endofit pada kulit umbi dahlia merah dalam media PDA dengan pengkayaan inulin 1% dan idensifikasinya secara mikroskopik menghasilkan 4 jenis kapang sebagai *Scopulariopsis* sp-CBS₁, *Acremonium* sp-CBS₃, kelas *Deuteromycetes* -CBS₄ dan *Aspergillus* sp-CBS₅. Potensinya sebagai sumber enzim inulinase masing-masing dari jenis media terbaik yaitu kapang *Scopulariopsis* sp-CBS₁ pada media A, *Acremonium* sp-CBS₃ pada media D, kelas

Deuteromyces sp-CBS₄ pada media D dan *Aspergillus* sp-CBS₅ pada media D berturut-turut dengan aktifitas optimal sebesar 0,872, 0,1843, 0,00463 dan 0,0268 U/mL. Berdasarkan optimisasi aktifitas enzim inulinase, *Acremonium* sp-CBS₃ adalah jenis kapang dominan yang menghasilkan aktifitas inulinase pada media B, C dan D berturut-turut sebesar 0,1266, 0,0658 dan 0,1843U/mL. Dalam hidrolisisnya pada inulin dari umbi yang sama dengan suhu 30°C selama 120 jam, pH 5 dengan konsentrasi 12% (v/b inulin kering) untuk perolehan serat inulin, enzim inulinase kasar dari *Acremonium* sp-CBS₃ mampu meningkatkan perolehan SDF (Soluble Dietary Fiber) sebesar 86,04% dari SDF inulin awal (1,84% b.k) menjadi SDF pada hidrolisat inulin (13,182% b.k).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Bidang Bahan Alam, Pangan dan Farmasi, Pusat Penelitian Kimia –LIPI. Penulis juga mengucapkan terimakasih pada Melissa W, Ssi, Novika Primasari, Aspiyanto, Ir dan Yati Maryati, ST atas bantuan teknisnya sehingga penelitian ini terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1980. Enzyme Information. Novo Nordisk Industries, Denmark.
- Anonymous. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry, AOAC Inc., Washington D.C.
- Anonymous. 2013. Mold & Bacteria Consulting Laboratories (MBL) Inc 1020 Brevik Place, Unit 1A • Mississauga, ON L4W 4N7 • Canada. Available online on 28 Maret 2013.
- Alexpoulos C.J & Mims C.W. 1979. Introductory Micology. New York: John Wiley & Son's.
- Afzal, A.J, Ali, S, Latif, F., Rajoka, M.I. and Siddiqui, K.S. 2005. Innovative Kinetic and Thermodynamic Analysis of a Purified Superactive Xylanase From *Scopulariopsis* sp. Applied Biochemistry and Biotechnology. Vol. 120. Available online on 19 Maret 2013.
- Astutik, R. P., Kuswyasari, N. D. dan Shovitri, M. 2005. Uji aktivitas enzim selulase dan xylanase isolate kapang tanah Wonorejo, Surabaya. Paper. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Gedung H Kampus ITS Sukolilo, Surabaya - 60111. Available online on 19 Maret 2013.
- Crueger, W and Crueger, A. 1984. Biotechnology: A Text Book of Industrial Microbiology. Science Tech., Inc., Madison. Wisconsin.
- Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy. 1994. Carbohydrate Analysis : A Practical Approach. 2nd. Edition. Oxford University Press. Oxford.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Leenheer, D and Hoebregs, H. 1994. Inulin and Oligofruktose in Anne M.E. Franck, ORAFIT Active Food Ingredients, Research and Development, Belgium, LFRA Ingredients Handbook, Prebiotics and Probiotics, Glen Gibson & Fiona Angus, LFRA Limited Randalls Roads, Leatherhead, Surrey KT22 7RY. 2000.
- Iskandar, Y.M, *dkk.* 2011. Inulin dari umbi dahlia yang ditanam pada jenis tanah vertisols, inceptisols dan andisol, Proseding Seminar Nasional PATPI, 2011, PATPI Cabang Sulawesi Utara, Manado, 16-18 September 2011, ISBN 978-602-98902-1-1.
- Nakamura, T., Ogata, Y., Shitasa, A., Nakamura, A. & Ohta, K. 1995. Continuous production of fructose syrups from inulin by immobilized inulinase from *Aspergillus niger* Mutan 817. Journal of Fermentation and Bioeng 80: 164-169.
- Marlida, Y. 2001. Isolation and purification of starch degrading enzyme from endophytic fungi and its application for flucose production. Thesis. Universiti Putra Malaysia, Malaysia.
- Pastore, G.M. and Park, Y.K. 1980. Production of galactooligosaccharide by *Scopulariopsis* sp. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. 2009, vol.29, n.3, pp. 682-689. ISSN 1678-457X . <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000300035>., Wikipedia Diunduh 14 November 2012.
- Peberdy, J. F. 1987. Penicillium and Acremonium, Biotechnology Handbooks , ISBN 0-306-42345-6, Plenum Press, New York, N.Y. 10013. E-books, Diakses 9 April 2013.

- Saryono, Atria Martina, Chainulfifah AM. 2002. Isolasi dan karakterisasi jamur penghasil inulinase yang tumbuh pada umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). *Jurnal Natur Indonesia* 4(2):171-177. ISSN 1410-9379.
- Susilowati, A, Lotulung, P.D. dan Sujarwo. 2012. Karakteristik serat inulin (Dietary Fiber) dari umbi dahlia merah (*Dahlia* spp. L.) lokal melalui proses gelatinisasi sebagai pangan fungsional, Prosiding Seminar Nasional Jaringan Kerjasama Kimia Indonesia (JSKIAI) XV, Yogyakarta, 6 September 2012, ISSN 0854-4778.
- Snyder dan Phaff, 1962. The pattern of action of inulinase from *Saccharomyces fragillis* on inulin. *J. Biological Chemistry*.237:2438-2444.
- Sarookhani, Mohamed Reza and Moazzami, Nasrin. 2007. Isolation of *Acremonium* species producing cephalosporine C (CPC) from forest soil in Gilan province, Iran. *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (22).pp.2006-2510. Available online at <http://www.academicjournals.org/AJB>. ISSN 1684-5315@2007.
- Saimae, S.M. 2003. Screening of lovastatin production by filamentous fungi. *Biomed Journal* 7 (1):29-33.
- Vandamme dan Derycke. 1983. Microbial inulinases process, properties and applications. *Adv. Appl. Microb.* 29 : 139 -176.
- Wijanarka, Rejeki Siti Ferniah dan Salamah. 2004. Produksi Inulinase *Pichia alni* DUCC-W4 pada Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd) dengan Variasi Konsentrasi Ammonium Nitrat dan Waktu Inkubasi. *Jurnal BIOMA*, Vol. 10, No. 2, Hal. 58 – 64, Desember, ISSN 1410-8801.