

SELEKSI DAN UJI AKTIVITAS JAMUR PENGHASIL INULINASE DARI UMBI DAHLIA ASAL BEBERAPA TEMPAT DI PULAU JAWA

Atria Martina¹ dan Saryono²

¹ Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

² Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Email : tria_mt05@yahoo.com

ABSTRACT

Inulinases is an important enzymes for production of fructose and fructooligosaccharides, which are extensively used in pharmaceutical and food industry. This study was conducted to select the inulolytic fungi. Ten fungal isolates that isolated from dahlia tubers, produced an extrasellular inulinase. The isolates genus were *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Acremonium* and *Fusarium*. Eight of the isolates produced moderate and high inulinase activity at 30°C and three of these isolates can grow at 45°C but only one has high inulinase activity at 45°C. The highest inulinase isolat was identified as *Aspergillus sp1*. This isolate produced 1,76 mg fructose/ml.

Key word: inulinase, inulin, fungi, dahlia tubers

ABSTRAK

Inulinase merupakan enzim penting untuk produksi fruktosa dan fruktooligosakarida yang banyak digunakan untuk industri farmasi dan makanan. Penelitian ini dilakukan untuk menyeleksi jamur penghidrolisis inulin. Sepuluh isolat jamur yang diisolasi dari umbi dahlia menghasilkan enzim inulinase ekstraselular. Isolat tersebut terdiri dari genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Acremonium* dan *Fusarium*. Delapan isolat memiliki aktivitas inulinase yang sedang dan tinggi pada suhu 30°C dan tiga diantaranya dapat tumbuh pada suhu 45°C, tetapi hanya satu yang memiliki aktivitas inulinase yang tinggi pada 45°C. Isolat *Aspergillus sp1* memiliki aktivitas inulinase tertinggi dengan memproduksi 1.76 mg fruktosa/mL.

Kata kunci: inulinase, inulin, jamur, umbi dahlia

PENDAHULUAN

Inulin adalah cadangan karbohidrat yang dapat ditemukan pada tumbuhan seperti Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), dahlia (*Dahlia pinnata*), chicory (*Cichorium endivia*). (Chi *et al.*, 2011). Polimer ini dikenal sebagai sumber penghasil sirup fruktosa tinggi dengan kandungan fruktosa lebih dari 95% (Rocha *et al. cit.* Gong *et al.*, 2007).

Mikroorganisme merupakan sumber terbaik untuk produksi inulinase secara komersial karena mudah dikultivasi dan banyak menghasilkan enzim. Mikroba dengan hanya satu tahap reaksi hidrolisis enzimatik inulin dapat menghasilkan 95% fruktosa murni. Mikroba yang telah diketahui mampu memproduksi inulinase yang tinggi antara lain adalah *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, *Bacillus* spp, *Pseudomonas* spp, *Xanthomonas* spp, *Kluyveromyces* spp, *Cryptococcus* spp, *Pichia* spp, *Sporotrichum* spp dan *Candida* spp (Chi *et al.*, 2007). Inulinase adalah β-fruktosidase non-spesifik yang menghasilkan molekul fruktosa atau fruktooligosakarida dari hidrolisis inulin. Inulin dihidrolisis oleh 2 tipe inulinase yaitu eksoinulinase (β-D-fruktan fruktohidrolase, EC 3.2.1.80) menghasilkan fruktosa sedangkan endoinulinase (2,1-β-D-fruktan fruktanohidrolase EC 3.2.1.7) menghasilkan fruktooligosakarida (Sandya *et al.*, 2008). Fruktosa merupakan pemanis dengan kekuatan 70% lebih tinggi dari sukrosa sehingga sangat baik bagi penderita diabetes, meningkatkan penyerapan besi pada anak-anak dan membantu mengeluarkan alkohol dari darah pada pecandu alkohol. Frukto-oligosakarida (FOS) merupakan makanan berpengaruh positif terhadap komposisi mikoflora usus, meningkatkan populasi bifidobakteria dan juga digunakan sebagai serat yang larut membantu mencegah konstipasi dan kanker kolon (Kaur *et al.*, 2002).

Oleh karena itu mikroba penghasil inulinase sangat diperlukan untuk mendegradasi molekul inulin karena sampai saat ini enzim inulinase yang memiliki arti komersial masih sedikit dipasarkan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jamur penghasil enzim inulinase dan memberikan informasi tentang kemampuan enzim inulinase isolat lokal.

METODE PENELITIAN

Sampel umbi dahlia diambil di beberapa tempat di pulau Jawa yaitu Lembang Jawa Barat, Baturaden Jawa Tengah dan Batu, Malang Jawa Timur. Medium yang digunakan untuk isolasi adalah PDA sedangkan medium untuk uji aktivitas adalah inulin dari umbi dahlia ditambah mineral $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05%, FeSO_4 0,015% pada pH5 (Allais *et al.* 1986).

Umbi dahlia dibiarkan busuk secara alamiah. Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran dan diinokulasi pada medium PDA. Kultur diinkubasi selama 60 jam pada suhu 30°C. Inulin dari umbi dahlia diperoleh dengan cara ekstraksi air panas untuk melarutkan inulin. Larutan inulin diendapkan kembali dengan etanol 1:1 (Gupta *et al.* 1989).

Isolat murni diinokulasi ke medium mengandung inulin dan diinkubasi selama 60 jam, koloni yang tumbuh dilihat aktivitas inulinase dengan menempatkan cawan petri dalam ruangan dingin selama satu minggu. Isolat yang mempunyai aktivitas inulinase akan membentuk zona bening disekitar koloni (Vullo *et al.*, 1991). Tiap isolat diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis.

Aktivitas enzim secara kualitatif dilakukan pada media uji padat kemudian diukur rasio diameter zona terang dengan diameter koloni (rasio Z/K). Isolat tersebut dikelompokkan ke dalam kriteria tinggi, sedang dan rendah berdasarkan uji nilai tengah. Isolat yang mempunyai kriteria sedang dan tinggi dilakukan fermentasi secara "batch" dalam erlenmeyer 50ml dengan volume medium 25ml. Dua ose jamur dimasukan dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 x 24 jam Biomasa yang terbentuk ditentukan secara gravimetri dan gula pereduksi yang dihasilkan ditentukan dengan metoda orto-toluidin (Saryono *et al.*, 1999; Bonciu *et al.*, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi jamur pendegradasi inulin pada umbi dahlia mendapatkan 10 isolat yang terdiri dari genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Acremonium* dan *Fusarium*. Isolat yang diperoleh merupakan kelompok jamur yang mempunyai habitat di rizosfer. Sebagian besar isolat termasuk ke dalam Deuteromycotina yang didominasi oleh genus *Aspergillus*, *Fusarium* dan *Penicillium*, Hasil penelitian yang sama juga didapatkan oleh Motta *et al.* (2003).

Kesepuluh isolat membentuk zona bening disekitar koloni menandakan bahwa isolat menghidrolisis molekul inulin menjadi fruktosa atau fruktooligosakarida dengan memutus ikatan $\alpha(2-1)$ fruktofuranosida pada molekul inulin sehingga menimbulkan zona bening apabila ditempatkan pada suhu dingin (Vullo *et al.*, 1991). Kriteria kemampuan isolat terhadap degradasi inulin dapat dilihat pada tabel 1.

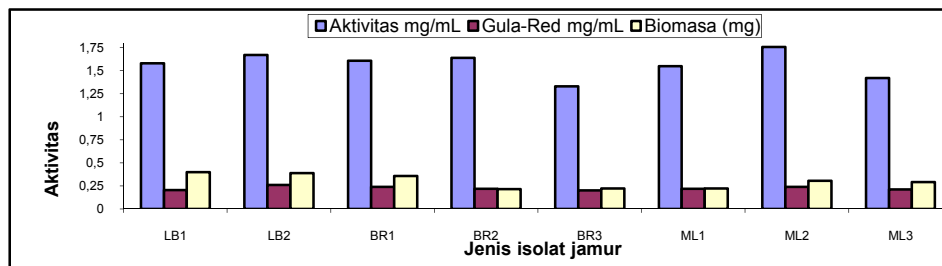
Tabel 1. Kriteria jamur pendegradasi inulin pada medium padat waktu inkubasi 60 jam

No	Nama isolat	Kode isolate	Asal isolat	Kriteria		
				30°C	45°C	60°C
1	<i>Penicillium</i> sp5	LB1	Lembang	Tinggi	-	-
2	<i>Fusarium</i> sp4	LB2	Lembang	Tinggi	-	-
3	<i>Rhizopus stolonifer</i>	LB3	Lembang	Rendah	-	-
4	<i>Acremonium</i> sp1	BR1	Baturaden	Tinggi	Rendah	-
5	<i>Fusarium</i> sp2	BR2	Baturaden	Tinggi	-	-
6	<i>Penicillium</i> sp6	BR3	Baturaden	Sedang	-	-
7	<i>Aspergillus niger</i>	BR4	Baturaden	Rendah	Rendah	-
8	<i>Aspergillus niger</i>	ML1	Batu	Sedang	-	-
9	<i>Aspergillus</i> sp1	ML2	Batu	Sedang	Tinggi	-
10	<i>Fusarium oxysporum</i>	ML3	Batu	Sedang	-	-

Ket: Kriteria tinggi : > 2,26 ; sedang : 1,25-2,25 ; rendah : < 1,24

Hanya tiga isolat yang mampu tumbuh pada suhu 45°C, dengan aktivitas tertinggi oleh *Aspergillus* sp1, namun pada suhu 60°C terlihat tidak satupun isolat mampu tumbuh. Hal ini mungkin disebabkan oleh kenaikan suhu akan menguapkan molekul air yang ada pada medium pertumbuhan sedangkan pada proses hidrolisis pemutusan ikatan glikosida dari inulin memerlukan molekul air. Menurut Dinarvand *et al.* (2012) hal ini juga dapat disebabkan oleh berkurangnya kelarutan oksigen dalam medium. Isolat yang mampu tumbuh pada suhu 45°C merupakan isolat yang termotoleran, karena mempunyai kisaran suhu pertumbuhan dibawah 20 hingga 55°C (Maheshwari *et al.*, 2000). Saryono *et al.* (1999) mendapatkan *A. niger* strain lokal memiliki suhu inkubasi optimum 35°C, tetapi aktivitas optimum enzim pada 45°C. Hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan proses yang terjadi, yaitu proses produksi enzim oleh suatu jamur dan kondisi proses hidrolisis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur tersebut.

Pada uji aktivitas dengan fermentasi secara "batch", kemampuan masing-masing isolat dapat dilihat pada Gambar 1 berikut. Penelitian ini mendapatkan bahwa isolat dengan aktivitas inulinase tertinggi adalah *Aspergillus* sp1 dengan menghasilkan 1,76 mg fruktosa/mL. Kemudian diikuti oleh *Fusarium* sp4 dan *Fusarium* sp2 masing-masing 1,67 dan 1,64 mg fruktosa/mL.



Gambar 1. Aktivitas enzim inulinase isolat jamur dari umbi Dahlia yang diinkubasi pada suhu 30°C dengan kecepatan 100 rpm selama 72 jam

Menurut Pandey *et al.* (1999), *Aspergillus* merupakan jamur penghasil inulinase yang paling umum. Biomasa tertinggi dihasilkan oleh *Penicillium sp5* yaitu 0,4013 mg sel namun biomassa yang diperoleh lebih rendah dari *A. niger* ATCC 20611 (Dinarvand *et al.*, 2012). Dari hasil terlihat bahwa aktivitas enzim tertinggi tidak dihasilkan oleh jumlah sel yang lebih banyak pula. Hal ini sangat dipengaruhi banyak faktor yang diantaranya jenis mikroba, kondisi lingkungan dan genetiknya.

KESIMPULAN

Jamur pendegradasi inulin yang berhasil diisolasi sebanyak 10 isolat. Semuanya mampu menghasilkan enzim inulinase ekstraselular pada suhu 30°C, namun hanya empat yang memiliki aktivitas tinggi. Pada inkubasi pada suhu 45°C hanya tiga isolat yang mampu menghasilkan enzim inulinase dengan aktivitas tertinggi adalah *Aspergillus sp1*, pada suhu 60°C tidak satupun mempunyai aktivitas inulinase. Aktivitas inulinase tertinggi didapatkan pada *Aspergillus sp1* yaitu 1,76 mg fruktosa/mL, namun biomasa tertinggi dihasilkan oleh *Penicillium sp5*.

DAFTAR PUSTAKA

- Allais J., Kammoun, J.S., Blance, P., Birard, C., Baratti, J.C. 1986. Isolation and Characterization of Bacteria Strains With Inulinase Activity. *Appl. and Environ. Microbiol.* 52: 1086-1090.
- Chi Z., Chi, Z., Zhang, T., Liu, G., Yue, L. 2009. Inulinase-expressing Microorganisms and Applications of Inulinases. *Appl Microbiol Biotechnol* (2009) 82: 211–220..
- Bonciu C., Struta, V., Bahrim, G. 2010. Isolation and Screening of New Mould Strains able for Inulinase Biosynthesis and Inulin from Jerusalem Artichoke Hydrolysis. *Innov. Romanian Food Biotechnol.* 7: 77-81.
- Dinarvand, M., Ariff, A.B., Moeini, H., Masomian, M., Mousavi, S.S., Nahavandi, R., Mustafa, S. 2012. Effect Of Extrinsic and Intrinsic Parameters on Inulinase Production by *Aspergillus niger* ATCC 20611. *Microbial Biotech.* 15(4).
- Gong F., J.Sheng, Z., Li, J.C., 2007. Inulinase Production by a Marine Yeast *Pichia guilliermondii* and Inulin Hydrolysis by The Crude Inulin. *J. Ind. Microbiol. Biotech.* 34: 179–185.
- Gupta A.K., Rathore, P., Kaur, N. and Singh, R. 1990. Production Thermal Stability and Immobilization of Inulinase From *Fusarium oxysporum*. *J. Chem. Tech. Biotech.*: 245-251.
- Maheshwari R., Bharadwaj, G.G., Bhat, M.K. 2000. Thermophilic Fungi: Their Physiology and Enzymes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64(3): 461-488
- Kaur, N., Gupta, K. 2002. Applications of Inulin and Oligofructose in Health and Nutrition. *J Biosci* 27: 703–714.
- Motta, C.M.S., Cavalcanti, M.A.Q, Fernander, M.J.S, Lima, D.M.M., Nascimento, J.P., Laranjeira, J. 2003. Identification and Characterization of Filamentous Fungi Isolated from the Sunflower (*Helianthus annus* L.) Rhizosphere According to Their Capacity to Hydrolyse Inulin. *Brazilian J. of Microbiol.* 34: 273-280
- Pandey, A, Soccol, C.R., Selvakumar, P., Soccol, V.T., Krieger, N., Jose, D., Fontana, J.D. 1999. Recent Developments in Microbial Inulinases, Its Production, Properties and Industrial Applications. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 81: 35–52
- Saryono, Chainulfiffah A.M., Soekartadiredja, E.M., Supriatna, Hadiman, H.R., 1999, Kemungkinan Pemanfaatan Inulin Umbi Dahlia untuk Pembuatan Sirup Fruktosa (HFS) dan Fruktooligosakaroda (FOS) Menggunakan Inulinase dari *Aspergillus niger* Galur Lokal. *Seri Kajian Ilmiah* 9(2): 1-10.
- Vullo O.L., Coto, C.E., Sineriz, F. 1991. Characteristic of an Inulinase Produced by *Bacillus substillis* 430A a Strain Isolated from the Rhizosphere of *Vironena herbacca* (*Vee Rusby*). *Appl. and Environ. Microbiol.* 57(8): 2392-2394.