

## SELEKSI KAPANG PEKTINOLITIK TERMOTOLERAN DARI KULIT JERUK DAN TANAH DI KEBUN JERUK

Atria Martina<sup>1)</sup>, Silvera Devi<sup>2)</sup> dan Rodesia M. Roza<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau

<sup>2)</sup> Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau

### ABSTRAK

Enzim pektinase sangat penting bagi industri makanan dan kimia untuk pemrosesan material tumbuhan, industri jus, tekstil, kulit, anggur dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi kapang pektinolitik termotoleran dan kemampuannya menghasilkan pektinase. Teknik inokulasi langsung digunakan dengan menginokulasikan kulit jeruk yang telah membusuk dan tanah dari kebun jeruk ke medium yang mengandung pektin. Kultur diinkubasi pada suhu 50°C selama 5-7 hari. Isolat diseleksi terhadap kemampuan menghasilkan enzim pektinolitik. Zona bening yang terbentuk sekitar koloni berhubungan dengan aktivitas enzimatis. Aktivitas pektinolitik setiap isolat dihitung sebagai rasio diameter zona bening terhadap diameter koloni. Sebanyak 7 dari 8 isolat menghasilkan zona bening yaitu *Aspergillus* sp.1, *Aspergillus* sp.2, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus fumigatus* TT, *Aspergillus fumigatus* KK and *Aspergillus fumigatus* KP. Aktivitas pektinolitik yang paling tinggi diperoleh dari *Aspergillus* sp.2 KP dengan rasio 2,2.

**Kata Kunci:** jeruk, kapang, pektinolitik, termotoleran

### PENDAHULUAN

Enzim pektinolitik yang mengkatalis penguraian pektin sangat penting bagi dunia industri. Pektinase digunakan untuk penjernihan jus buah dan anggur (wine), mengurangi rasa pahit pada jus buah (Fawole et al., 1992; Kashyap et al., 2001), berperan pada fermentasi teh dan coklat (Yarkani et al., cit Rashmi, 2008), ekstraksi minyak dari biji tumbuhan (Buenrostro & Lopez-Munguia, 1986). Pektinase juga digunakan pada industri pembuatan kertas, tekstil, detergen, roti, kulit, produk kimia dan linen biomedis (Baracat et al., 1989; Guimarães et al., 2006).

Hussain et al. (1999) mengisolasi jamur penghasil pektinase dari tanah dan memperoleh jamur *Rhizopus stolonifera*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium moniliforme*, dan *Cephalosporiopsis*. Aktifitas pektinase yang tertinggi dihasilkan oleh *R. Stolonifer*. Fawole dan Odunfa (1992) mendapat bahwa isolat kapang yang mempunyai aktivitas pektolitik tertinggi adalah dari genera *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* dan *Rhizopus*. Guimarães et al. (2006) mengisolasi kapang dari tanah, humus dan tumbuhan, mendapatkan produksi enzim pektinase terbaik dihasilkan oleh *Rhizopus stolonifer* IF II dan C8.

Jamur termofilik dan termotoleran sangat penting bagi dunia industri daripada mesofilik karena dapat digunakan pada bioproses yang lebih luas (Prasongsuk et al., 2009). Jamur termofilik sangat potensial untuk berbagai industri enzim termostabil karena umumnya penggunaan enzim di bidang industri dilakukan pada suhu tinggi. Riau merupakan daerah yang memiliki biodiversitas yang tinggi. Penelitian tentang jamur penghasil pektinase masih sedikit dan sampai saat ini belum diperoleh jamur penghasil pektinase strain lokal yang termotoleran. Hal ini menjadi dasar dilakukannya penelitian untuk memperoleh isolat lokal yang diharapkan lebih potensial dalam menghasilkan pektinase dan bersifat termotoleran.

## METODE PENELITIAN

**Pengambilan sampel.** Sampel kulit jeruk diperoleh dari kebun jeruk yang terdapat di Bangkinang dan pasar Arengka yang ada di Pekanbaru. Masing masing tempat diambil tiga titik dengan tiga kali ulangan, kemudian sampel ulangan dikompositkan. Sampel 1 yaitu jeruk madu (*Citrus sinensis* L.) berasal dari pasar Arengka, sampel 2 yaitu jeruk siam (*C. nobilis* L.) dari perkebunan jeruk yang terdapat di Bangkinang. Sampel 3 yaitu tanah dari perkebunan jeruk yang terdapat di Bangkinang. Sampel tanah diambil pada tiga titik dengan tiga kali ulangan sampai kedalaman 10 cm, kemudian sampel ulangan dikompositkan.

**Pembuatan Medium isolasi.** Komposisi medium isolasi adalah pektin 10 gr, sukrosa 2 gr, tripton 3 gr, ekstrak yeast 2 gr, KCl 0,5 gr, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,5 gr, MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,01 gr, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 gr. Semua bahan dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades kemudian ditambahkan 1 ml garam mineral (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,04 gr, FeSO<sub>4</sub> 0,08 gr, ZnSO<sub>4</sub> 0,8 gr, MnSO<sub>4</sub> 0,008 gr yang dilarutkan ke dalam 100 ml aquades). pH medium diatur sekitar 5,5-6,0 dan agar ditambahkan sebanyak 17 gr. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit (Phutela *et al.*, 2005). Ampisilin 10% ditambahkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri (1 ml/l medium).

**Isolasi Jamur dari Kulit Jeruk.** Kulit jeruk dimasukkan ke dalam kantong plastik steril untuk mengurangi kontaminasi. Kulit jeruk dibiarkan membusuk pada suhu kamar selama tiga-lima hari sampai terlihat tanda-tanda kerusakan biologis (tumbuh jamur). Isolasi jamur dengan cara kulit jeruk dihancurkan, kemudian dibuat pengenceran. Sampel ditumbuhkan pada medium isolasi secara *pour plate* dan diinkubasi pada 50°C selama 5-7 hari.

**Isolasi kapang dari Tanah Kebun Jeruk.** Sampel tanah di ambil sampai kedalaman 10 cm. Sebanyak 1 gr tanah disuspensikan ke dalam 9 ml NaCl 0,85%, kemudian dibuat pengenceran sampai 10<sup>-6</sup> dan diinokulasikan pada medium isolasi secara *pour plate* dan diinkubasi pada 50°C selama 5-7 hari.

**Seleksi Kapang Termotoleran Untuk Aktivitas Pektinase.** Isolat yang diperoleh dikultur pada medium isolasi (Phutela *et al.*, 2005) dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 – 10 hari. Setelah pertumbuhan koloni berdiameter 1 cm, isolat ditetesi larutan Iodine-Potassium Iodide (Rashmi *et al.*, 2008). Larutan ini akan memberi warna pada medium mengandung pektin dan menghasilkan zona bening. Zona bening yang terbentuk merupakan indikator aktivitas pektinolitik. Zona bening kemudian diukur dan dihitung Indeks Enzimatik berdasarkan Phutela *et al.* (2005) dan Taskin *et al.* (2008)

**Identifikasi Isolat.** Identifikasi isolat yang tumbuh dilakukan dengan menggunakan medium PDA dan Czapek Dox (Rao, 1994). Identifikasi ini meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi menggunakan acuan Larone (2002), Ganjar *et al.* (1999), Ellis dan Ellis (1985), Domsch (1980), Barnett dan Hunter (1972), Raper dan Fennell (1965).

**Analisis Data.** Isolat yang diperoleh dikelompokkan berdasarkan perhitungan Indeks Enzimatik yaitu rasio Z/K (Phutela *et al.*, 2005 dan Taskin *et al.*, 2008). Kriteria rasio Z/K berdasarkan uji nilai tengah (Sudjana, 1996).

## HASIL DAN DISKUSI

Sebanyak 7 isolat mampu menghasilkan enzim pektinase dari 8 isolat yang tumbuh pada medium isolasi (Tabel 1). Isolat pektinolitik akan mengubah pektin yang terdapat di dalam medium menjadi asam pektin, sehingga pada zona bening tersebut pektin telah terurai.

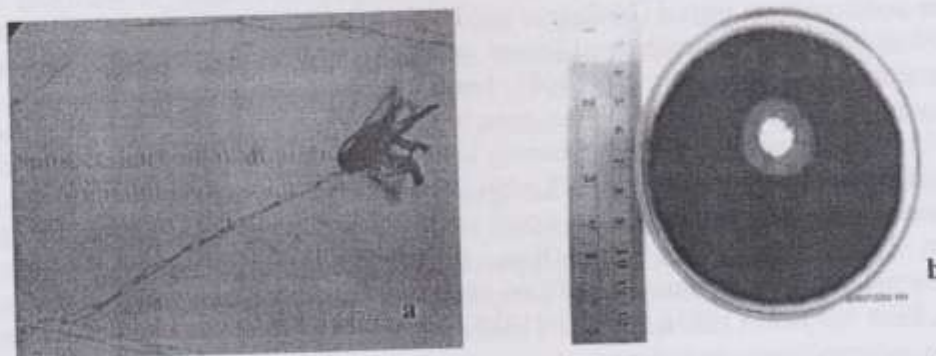
Tabel 1. Kemampuan kapang pektinolitik termotoleran berdasarkan indeks enzimatik pada suhu 50°C

No	Jenis	Sumber isolat	Diameter (mm)		Indeks enzimatik (Rasio Z/K)	Kriteria
			Zona bening (Z)	Koloni (K)		
1	<i>Aspergillus</i> sp.1 TT	Tanah kebun	26	20	2,0	Sedang
2	<i>Aspergillus</i> sp.2 TT	Tanah kebun	36	17	2,1	Tinggi
3	<i>Aspergillus</i> sp.2 KP	Jeruk madu	29	13	2,2	Tinggi
4	<i>Aspergillus candidus</i>	Tanah kebun	26	15	1,7	Sedang
5	<i>Aspergillus fumigatus</i> TT	Tanah kebun	51	43	1,1	Rendah
6	<i>Aspergillus fumigatus</i> KK	Jeruk siam	50	38	1,3	Sedang
7	<i>Aspergillus fumigatus</i> KP	Jeruk madu	48	35	1,4	Sedang

Keterangan: Kriteria tinggi (>2,04), sedang (1,16-2,04), rendah <1,16

Isolat yang tidak membentuk zona bening tersebut hanya mampu menggunakan sukrosa sebagai sumber karbon namun tidak mampu menggunakan pektin. Selain itu juga dapat disebabkan kemampuan isolat ini menggunakan pektin sebagai sumber karbon untuk menghasilkan enzim pektinase sangat kecil sekali. Penelitian Bocass *et al.* (1994) mendapatkan bahwa diantara 248 isolat yang diseleksi hanya 48% yang membentuk zona bening.

Tabel menunjukkan bahwa rasio Z/K tertinggi dihasilkan oleh *Aspergillus* sp.2 KP (Gambar 1) yaitu 2,2 yang merupakan isolat yang berasal dari kulit jeruk madu. Hal ini dapat dipengaruhi oleh pektin pada kulit jeruk madu lebih tinggi dibandingkan kulit jeruk siam sehingga aktivitas isolat menjadi lebih baik. Menurut Tampubolon (2001) rendemen pektin kulit jeruk madu yaitu 1,4795% sedangkan kulit jeruk siam 0,886%. Pada penelitian Fawole dan Odunfa (1992) mendapatkan bahwa persentase aktivitas pektinolitik yang tertinggi dihasilkan oleh jamur dari genus *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* dan *Rhizopus*.



Gambar 1. Morfologi mikroskopis *Aspergillus* sp.2KP (a) dan Zona bening yang dibentuk *Aspergillus* sp.2 KP (b)

Rasio Z/K pada penelitian ini lebih tinggi dari yang diperoleh Boccas *et al.* (1994) dan Rashmi *et al.* (2008). Boccas *et al.* (1994) yang mendapatkan jamur penghasil pektinase yang diinkubasi pada suhu 35°C dengan rasio diatas 1,0. Rasio yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan kultur referensi yaitu *Aspergillus niger* CH4. Rashmi *et al.* (2008) menyeleksi 34 isolat *Aspergillus niger* penghasil pektinase dari biji kacang tanah. Kisaran rasio yang peroleh antara 1,0 sampai 1,88. Isolat yang mempunyai rasio diatas 1,5 dikategorikan sebagai isolat potensial menghasilkan enzim pektinase.

Zona bening yang terbentuk pada penelitian ini juga lebih tinggi dari penelitian yang dilakukan Guimarães *et al.* (2006) dari 10 isolat yang diperolehnya. Isolat C-8, IF II, *Rhizopus microporus* var. *rhizopodiformis* dan *R. stolonifer* yang tergolong ke dalam penghasil pektinase tinggi. Zona bening yang dihasilkan berturut-turut yaitu 19, 18, 17 dan 16 mm.

Kapang pektinolitik termotoleran yang didapat semuanya adalah *Aspergillus* spp. Hal ini disebabkan karakteristik enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus* merupakan pektinase campuran yaitu pektinase bersifat asam dan basa sehingga *Aspergillus* merupakan sumber pektinase secara industri (Fogarti dan Kelly cit. Ramachandran, 2005). Pada penelitian Fawole dan Odunfa (1992) yang mengisolasi jamur penghasil pektinase dari kulit jeruk telah membusuk dan tanah diinkubasi pada suhu 30°C. Genus *Aspergillus* merupakan paling banyak ditemukan yaitu sebesar 17-50% dari 34 isolat pektinolitik. Genus *Aspergillus* banyak diketahui bersifat pektinolitik. Boccas *et al.* (1994) mendapatkan bahwa isolat yang memiliki aktivitas pektinase tergolong ke dalam *Penicillium* dan *Aspergillus*.

### KESIMPULAN

Hasil penelitian tentang identifikasi dan skrining jamur termotoleran strain lokal penghasil pektinase dapat disimpulkan bahwa: (1) Kapang termotoleran penghasil pektinase dari tanah kebun jeruk, kulit jeruk madu dan kulit jeruk siam diperoleh 7 isolat, (2) *Aspergillus* sp.2 KP6 merupakan isolat dengan aktivitas pektinolitik tertinggi dengan rasio Z/K yaitu 2,2. *Aspergillus fumigatus* TT3 memiliki rasio Z/K yaitu sebesar 1,1 yang merupakan isolate dengan kemampuan rendah.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Israwati Harahap yang telah banyak terlibat dalam penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Baracat M.C., Valentim, C., Muchovej, J.J., and Silva, D.O. 1989. Selection of pectinolytic fungi for degumming of natural fibers. *Biotechnology Letters* 11: 899-902.
- Barnett and Hunter. 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Co, Minneapolis
- Boccas F., Roussos, S., Gutierrez, M., Serrano, L., and Viniegra, G.G. 1994. Production of pectinase from coffee pulp in solid state fermentation system: selection of fungal isolate of high potency by a simple three-step screening technique. *J. Food Sci. Technol.* 31: 22-26
- Buenrostro, M. and Lopez-Munguia, A. 1986. Enzymatic extraction of avocado oil. *Biotechnology Letter* 8: 505-506.
- Domsch, K.H., Gams, W., and Anderson, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*, Vol 1 and 2. Academic Press. London.
- Ellis, M.B. and Ellis, J.P. 1985. *Microfungi on Land Plant. An Identification Handbook*. Macmilan Publishing Company. New York
- Fawole, O.B. and Odunfa, S.A. 1992. Pectolytic moulds in Nigeria. *Letters in Applied Microbiology* 15: 266-268
- Gandjar, I., Samson, R.A., Tweelvermeulen, K., Oetari, A., and Santoso, I. 1991. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.

- Guimarães S., Nogueira-peixoto Michelin, C.S., Rizzati, M., Sandrim, S., Zanoelo, C., Aquino, F., Junior, M.M., and Polizeli, B.** 2006. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian Journal of Microbiology* 37:474-480.
- Hussain, A., Khan, Z.I., and Rasul, E.** 1999. Isolation and screening of amylolytic and pectinolytic fungi from soil. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2:974-975.
- Kasyap, D.R., Vohra, P.K., Chopra, S., and Tewari, R.** 2001. Application of pectinase in the commercial sector. *Bioresource Technology* 77:215-227
- Prasongsuk, S., Lotrakul, P., Imai, S., and Punnapayak, H.** 2009. Decolourization of pulp mill wastewater using thermotolerant white-rot fungi. *Science Asia* 35:35-41.
- Ramachandran, S.** 2005. Isolation, purification & characterization of pectinase from *Penicillium citrinum*. *Disertation*. Mahatma Gandhi University.
- Rashmi, R., Siddalinga, M.K.R., Sneha, G., Shabana, S., Syama, A., and Radhika, V.S.** 2008. Partial purification and biochemical characterization of extracellular pectinase from *Aspergillus niger* isolated from groundnut seeds. *Journal of Applied Bioscience* 9:378-384.
- Raper, K.B. and Fennell, D.I.** 1965. *The Genus Aspergillus*. USA. The Waverly Press.Inc.
- Sudjana.** 1996. *Metode Statistika*. Bandung. Tarsito
- Tampubolon, H.** 2001. Ekstraksi pektin dari kulit buah beberapa varietas jeruk (*Citrus* spesies). *Skripsi*. Jurusan Agronomi. Fakultas Pertanian. Universitas Riau
- Taskin, E., Eltem, R., da Silva, E.S., and de Souza, J.V.B.** 2008. Screening *Aspergillus* strains isolated from vineyards for pectinase production. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 6:412-414