

# Seleksi Mikroorganisme Potensial untuk Fermentasi Pati Sagu

## Selection of potential microorganism for sago starch fermentation

RUTH MELLIAWATI<sup>▼</sup>, ROHMATUSSOLIHAT, FERRA OCTAVINA

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911.

Diterima: 19 Nopember 2005. Disetujui: 14 Maret 2006.

### ABSTRACT

Fermentation process of sago starch for the production of bioproduct requires potential microorganism that have ability to hydrolyze sago starch. The purpose of this research was to get the potential of amylolytic microorganisms for their capability of amyloglucosidase activity and to know the sugar strains of the fermentation result. Eleven amylolytic microorganisms (9 strains of mold and 2 strains of yeast) were obtained from the collection Research Centre for Biotechnology – Indonesian Institute of Sciences (LIPI), Cibinong-Bogor were used. The selection step was carried out based on their capability of starch hydrolysis to reducing sugar. The best result indicates that the production of reducing sugar reached the highest 18.485 ppm and amyloglucosidase activities was 3.583 units by KTU-1 strain. The highest total acid obtained was 5.85 mg/mL by *Rhizopus* IFO.R5442. The cell biomass was obtained between 0.5 to 1.74 g dry weight/100 mL and pH of the final fermentation (72 h) were 3.57 to 8.38.

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** sago starch, fermentation, potential microorganism, bioproduct.

### PENDAHULUAN

Indonesia sangat berlimpah dengan bahan berpati seperti ubi kayu, ubi jalar, sagu, jagung, talas, pisang, dan sebagainya. Penggunaan pati terutama pati sagu sudah sangat luas, bukan hanya sebagai bahan dasar industri makanan seperti misalnya mie tetapi juga untuk keperluan lain seperti sirup fruktosa (untuk keperluan farmasi, tekstil, lem, dan sebagainya) dan industri bioteknologi (monosodium glutamat, dekstrosa dsb). Sirup glukosa adalah derivat dari pati jagung, tapioka, gandum, padi, kentang, zat tepung dan sagu. Produktivitas tepung sagu tertinggi di antara padi padian dan biji-bijian dan hampir tiga kali lebih besar dari padi, jagung dan gandum dan hampir 17 kali dari tapioka (Ishizaki, 1996). Pengembangan pati menjadi produk biologis melalui proses fermentasi, sudah dilakukan di banyak industri, namun enzim yang digunakan sebagian besar masih import, karena enzim yang ada belum memenuhi kebutuhan. Dalam proses fermentasi pati diperlukan enzim amylase dari mikroba potensial yang mampu menghidrolisis pati menjadi gula.

Beberapa kegunaan amilase adalah sebagai suplemen dalam aktivitas diastatik (Whitaker, 1972), menyempurnakan dalam mencerna beberapa bahan makanan ternak sehingga membuat makanan lebih berguna (Rutten dan Daugulis, 1987). Kegunaan lain adalah sebagai bahan mentah untuk membantu pencernaan makanan (Pamatong, 1991), degradasi pati dalam proses pembuatan tekstil (Bajpai dan Bajpai, 1987) dan memperbaiki tekstur roti (Lowry *et al.*, 1951).

Di antara sumber biologis yang ada di alam, beberapa kelompok bakteri dan kapang mampu memproduksi  $\beta$ -amilase atau amiloglukosidase (Zeikus dan Jhonson, 1991). Kelompok kapang *Aspergillus* merupakan kelompok mikroba yang paling dominan dalam menghidrolisis pati. Borris (1987) melaporkan bahwa *A. Niger* potensial dalam memproduksi  $\alpha$ -amilase dan amiloglukosidase dalam media dan pati kentang sebagai inducer. Kapang *A. niger* juga dilaporkan sebagai produser dalam menghasilkan  $\beta$ -glukosidase, baik ekstraseluler maupun intraseluler dan telah dipurifikasi serta dikarakterisasi. Dilaporkan pula oleh Mega dan Matsushima (1983) bahwa kapang *A. oryzae* diketahui menghasilkan  $\beta$ -glukosidase ekstraseluler. Kuswanto dan Wedhastri (2001) melaporkan bahwa aktivitas  $\beta$ -glukosidase tertinggi ditemukan pada *A. oryzae* kemudian diikuti oleh *A. sojae*, dan campuran antara *Rhizopus oligosporus* dan *R. oryzae*. Beberapa penelitian yang telah dilakukan (Melliawati dan Sukara, 1987; Prana dan Sukara, 1992; Melliawati dkk., 1993, 1995) menggunakan bahan pati singkong dengan bantuan kapang *Aspergillus* sp. KT-11 untuk produksi enzim amiloglukosidase dan pemurniannya. Ahmad (2003) melakukan penelitian menggunakan pati sagu yang difermentasi oleh *Endomycopsis fibuligera* untuk menghasilkan amiloglukosidase. Selain jenis kapang dan bakteri dilaporkan pula oleh Lodder (1970) bahwa dari 400 jenis khamir yang telah diketahui, 90 jenis di antaranya mampu menggunakan pati sebagai satu satunya sumber karbon dan energi. Holt (1977) melaporkan, lebih dari 142 jenis bakteri mampu menggunakan pati sebagai sumber karbon dan energi. Indonesia selain berlimpah dengan bahan berpati juga kaya dengan sumber daya mikroba, namun pemanfaatannya belum maksimal. Dalam rangka menyeleksi mikroorganisme amilolitik potensial dan mendapatkan informasi tentang jenis gula serta aktivitas enzim amiloglukosidase, maka penelitian ini dilakukan.

#### ▼ Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong-Bogor 16911.  
Tel.: +62-21-8754587 Fax.: +62-21-8754588  
e-mail: ruth.melliawati@lipi.go.id

## BAHAN DAN METODE

### Mikroorganisme

Mikroorganisme amilolitik (9 jenis kapang, 2 jenis khamir) diperoleh dari koleksi kultur Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong-Bogor. Kultur kapang dan khamir dipelihara pada media PDA yang diinkubasikan pada 30°C selama 3 hari.

**Table 1.** Jenis mikroorganisme amilolitik yang diuji.

No.	Jenis mikroorganisme
1.	<i>Rhizopus</i> UQM 186 F
2.	<i>Rhizopus</i> IFO. R 5442
3.	<i>Aspergillus</i> sp. KT-11
4.	<i>Aspergillus terreus</i>
5.	<i>Aspergillus awamori</i>
6.	<i>Aspergillus fumigatus</i>
7.	<i>Aspergillus oligosporus</i>
8.	Kapang KTU-1
9.	Kapang KTU-2
10.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
11.	<i>Zigosaccharomyces balii</i>

### Proses fermentasi

Proses fermentasi dilakukan dalam erlenmeyer 500 mL yang berisi 100 mL media dengan komposisi seperti yang dilaporkan oleh Melliawati dkk. (1993) yaitu pati sagu 5%, Urea 0,3%, MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O 0,1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1% dan pH ditentukan 4,0. Media diinokulasi dengan 3% (v/v) suspensi kultur umur 72 jam, kemudian diinkubasi pada inkubator yang dilengkapi dengan pengocok (rotary shaker) agitasi 150 rpm, pada suhu (28-30°C) selama 72 jam.

### Pengujian aktivitas enzim

Biomasa dipisahkan dari kultur melalui filtrasi menggunakan kertas Whatman No. 1 atau melalui sentrifugasi 3000 rpm selama 5 menit. Filtrat yang terpisah diasumsikan sebagai enzim kasar. Satu unit aktivitas enzim setara dengan 1 µg gula pereduksi per mL yang terbentuk pada kondisi di atas (Sukara, 1987). Gula pereduksi dianalisis menggunakan metode Somogyi-Nelson (Nelson, 1941). Total asam dideteksi melalui metode tritasimetri. Biomasa sel dikeringkan selama 24 jam pada suhu 60°C untuk menentukan berat keringnya.

### Kromatografi lapis tipis (KLT)

Filtrat diekstraksi dan selanjutnya dideterminasi melalui kromatografi lapis tipis dengan menggunakan silika gel 60 (Merk, Darmstadt, Germany) dalam pelarut dengan perbandingan butanol: pyridine: air (8:1:1), metoda pengembangan dua kali. Pelat silika gel dideteksi menggunakan pemanasan dalam oven 100°C, setelah itu dimasukkan dalam larutan pengembang etanol-asam sulfat (9:1, v/v). Metode KLT dilakukan karena mempunyai kelebihan yaitu pemisahan senyawa lebih sempurna, kepekaan lebih tinggi dan dapat dilakukan dalam waktu yang relatif cepat (Adnan, 1997)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kesebelas jenis mikroorganisme amilolitik tumbuh subur di media padat yang mengandung pati sagu 2% sebagai satu satunya sumber karbon dan energi. Selain dapat tumbuh dengan baik, mikroorganisme tersebut juga dapat

memecah pati menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga di sekitar mikroorganisme tersebut terlihat zona jernih apabila di atas permukaan media tersebut ditetesi larutan jodium. Zona jernih terlihat karena area tersebut sudah tidak mengandung pati (Gambar 1) Kapang isolat KTU-1 dan KTU-2 merupakan mikroorganisme yang menghasilkan zona jernih cukup luas.

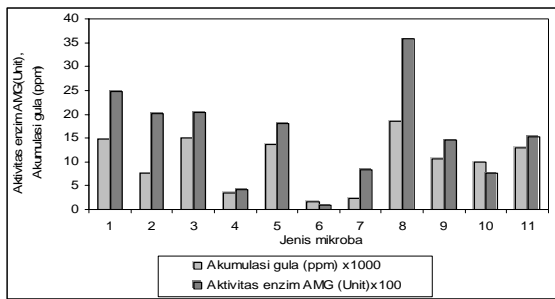
Seleksi mikroorganisme dilanjutkan di media semi padat (kental), dengan harapan meselium kapang atau sel khamir akan lebih berkembang di dalam media tersebut sehingga penguraian pati akan lebih sempurna. Proses fermentasi berlangsung selama 72 jam. Selama proses fermentasi, pengambilan sampel dan pengamatan terhadap perubahan media dilakukan. Hasil pengamatan 48 jam terhadap tekstur media, sebagian besar telah terjadi perubahan dari semi padat (kental) menjadi agak cair, kecuali di media yang berisi kapang *A. terreus*, *A. fumigatus* dan *R. oligosporus* hanya terlihat sedikit perubahan. Pada 72 jam fermentasi perubahan itu sangat jelas, karena media menjadi cair. Hal ini menunjukkan bahwa kapang dan khamir tersebut mampu menghidrolisis pati walaupun kemungkinan kesempurnaan dalam menghidrolisis pati akan berbeda. Hal tersebut diperkuat pada waktu pemisahan biomasa dari filtrat. Tidak semua sampel mudah disaring, karena kemungkinan unsur pati masih belum terurai dengan sempurna. Pemisahan antara filtrat dan biomasa akan menjadi mudah apabila pati telah terurai dengan sempurna menjadi gula oleh adanya enzim amilase yang disekresikan oleh sel kapang atau khamir ke dalam media.

*A. fumigatus* merupakan kapang yang paling sedikit dalam menghasilkan akumulasi gula, hal ini ditunjang dari hasil aktivitas enzim amiloglukosidase (AMG) yang sangat kecil. Di antara mikroorganisme yang diuji, kapang kode KTU-1 memberikan hasil tertinggi, baik gula yang terakumulasi (18.485 ppm) maupun aktivitas enzim amiloglukosidase (3.583 unit). Kapang tersebut terseleksi sebagai kandidat potensial untuk produksi enzim AMG dan akumulasi gula (Gambar 2) Kandidat lain adalah *Aspergillus* sp. KT-11 dan *Rhizopus* UQM 186 F. Aktivitas enzim dan akumulasi gula yang diperoleh *Aspergillus* sp. KT-11 sebesar 2. 024 unit dan 5. 018 ppm, kemudian 2. 469 unit dan 14. 691 ppm oleh *Rhizopus* UQM 186 F. Hasil penelitian sebelumnya (Melliawati dan Sukara, 1989; Prana dan Sukara, 1992, Melliawati dkk., 1993) melaporkan bahwa kapang *Aspergillus* sp. KT-11 merupakan kapang jenis lokal yang potensial untuk menghidrolisis pati singkong dan memproduksi enzim amiloglukosidase. Dalam penelitian ini, kapang KTU-1 dan KTU-2 memberikan harapan baru sebagai jenis kapang lokal yang mampu menghidrolisis pati sagu lebih baik dari pada kapang *Aspergillus* sp. KT-11 dan *Rhizopus* UGM 186 F.

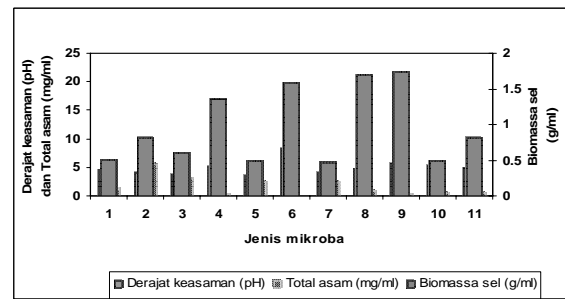
Gambar 3 memperlihatkan bahwa hampir semua pH pada akhir fermentasi meningkat dari pH awal (4,0) kecuali *Aspergillus* sp. KT-11 dan *A. awamori* pH mengalami penurunan (3,85 dan 3,57). Kondisi media mengalami perubahan selama proses fermentasi berlangsung, hal ini terjadi karena terbentuknya senyawa asam yang merupakan hasil fermentasi. Total asam tertinggi dicapai 5,85 mg/mL oleh *Rhizopus* IFO R 5442, sedangkan media yang diinokulasi oleh *Aspergillus fumigatus* tidak terdeteksi adanya asam dan pH pada akhir fermentasi tercatat 8,38. Biomasa sel tertinggi dicapai 1,74 g berat kering/100 mL media oleh KTU-2 dan sebaliknya hasil terendah adalah 0,47 g berat kering/100 mL media oleh *Rhizopus oligosporus*.



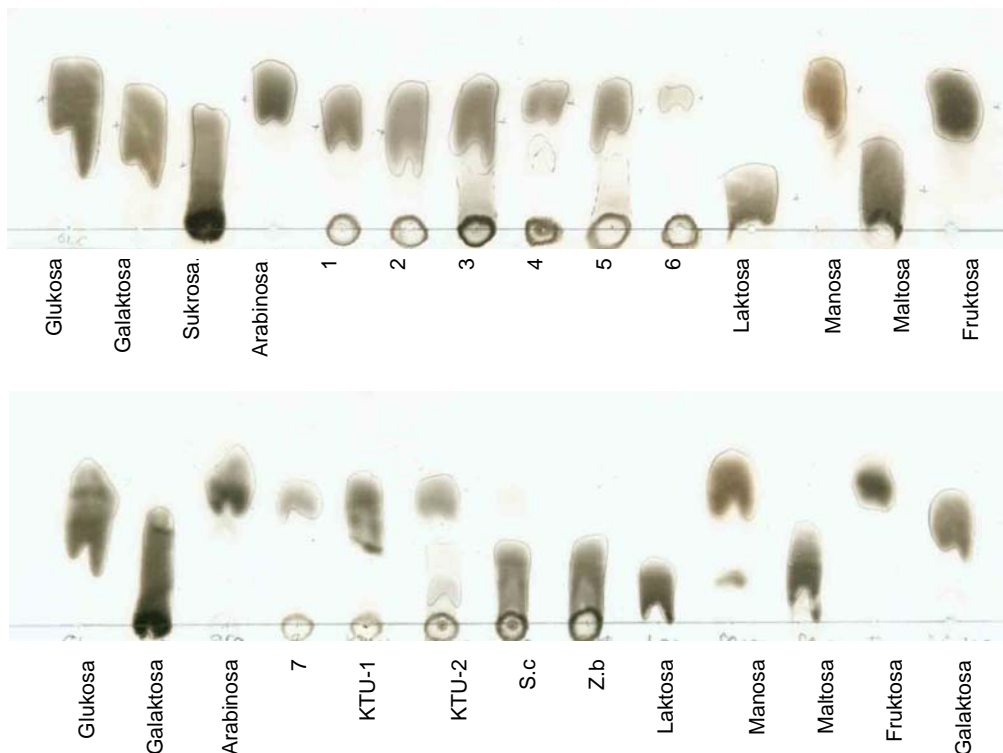
**Gambar 1.** Formasi zona jernih oleh kapang KTU-1 (A) dan KTU-2 (B) di media selektif yang mengandung 2% pati sagu.



**Gambar 2.** Aktivitas enzim dan akumulasi gula pada fermentasi pati selama 72 jam.



**Gambar 3.** Derajat keasama(pH), total asam dan biomassa sel pada akhir fermentasi (72 jam).



**Gambar 4.** Deteksi gula melalui kromatografi lapis tipis menggunakan silica gel.

Hasil deteksi gula melalui kromatografi lapis tipis menggunakan silica gel disajikan pada Gambar 4. Sebagai gula standar digunakan glukosa, sukrosa, galaktosa, manosa, maltosa dan arabinosa. Setiap jenis mikroorganisme memberikan hasil gula yang berbeda. Hasil fermentasi oleh *Rhizopus* UQM 186 F, *Rhizopus* IFO.R. 5442, dan KTU-1 diperoleh galaktosa, sementara dari *Aspergillus awamori*, *Aspergillus fumigatus* dan *Rhizopus oligosporus* diperoleh glukosa, sedang *Aspergillus* sp KT-11, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zigosaccharomyces balii* dan KTU-2 menghasilkan laktosa, tetapi *Aspergillus terreus*, kapang KTU-1 dan KTU-2 menghasilkan fruktosa, adapun sukrosa dihasilkan oleh *Aspergillus terreus*, kapang KTU-2, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Zigosaccharomyces balii*.

Dari hasil kromatografi lapis tipis, diperoleh informasi tentang gula yang terbentuk dari hasil fermentasi oleh beberapa kapang dan khamir. Data ini memberi gambaran dari jenis kapang atau khamir tertentu akan menghasilkan jenis gula tertentu. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kapang KTU-1 adalah kapang lokal yang mempunyai potensi sebagai kapang terbaik yang menghasilkan enzim amiloglukosidase dan gula di samping *Aspergillus* sp. KT-11 dan *Rhizopus* UQM 186 F. Kapang KTU-2 juga kapang lokal yang mempunyai kemampuan sebagai penghidrolisis pati sagu menjadi sukrosa, fruktose dan laktosa pada kondisi tersebut.

### KESIMPULAN

Kapang dan khamir yang diuji mampu menghidrolisis pati sagu menjadi gula monosakarida dan atau disakarida. Kemampuan mikroorganisme dalam menghidrolisis pati sagu berbeda di antara jenis kapang dan khamir. Kapang KTU-1 adalah kapang lokal yang mempunyai potensi sebagai kapang terbaik yang menghasilkan enzim amiloglukosidase dan gula. Akumulasi gula tertinggi diperoleh 18.485 ppm dan aktivitas amiloglukosidase dicapai 3. 583 unit. Gula yang dihasilkan pada akhir fermentasi adalah galaktosa dan fruktosa. Kapang KTU-2 mempunyai kemampuan sebagai penghidrolisis pati sagu menjadi 3 jenis gula monosakarida (sukrosa, fruktosa dan laktosa). *Rhizopus* IFO. R. 5442 menghasilkan asam tertinggi 5,85 mg/mL dan biomasa sel diperoleh antara 0,5-1,74 g berat kering/100 mL media.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Pimpinan Proyek Penelitian Bioteknologi LIPI dan kerjasama penelitian dengan proyek JSPS yang memberikan kesempatan dan

dana untuk melakukan penelitian ini. Ucapan terima kasih kami sampaikan pula kepada semua pihak yang membantu kalancaran penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Ahmad, A. 2003. Purification and characterization of amyloglucosidase enzyme from *Endomycopsis fibuligera*. *ISTECS Journal* 4: 47-55.
- Bajpai, D. and P.K. Bajpai. 1987. High temperature alkaline  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* TCRDC-B13. *Biotechnology & Bioengineering* 33: 72-78.
- Borris, R. 1987. Biological role of enzymes. In: Rehm, H.J. and G. Reed (eds.). *Biotechnology*. Volume VIIa. Berlin: UCH Germany.
- Holt, J.G. 1977. *The Shorter Bergeys Manual Determinative Bacteriology*. 8th edition. Baltimore: The Williams and Wilkins Co.
- Ishizaki, A. and P. Vonkaveesuk. 1996. Optimization of substrate for continuous production of lactic acid by *Lactococcus lactis* IO-1. *Biotechnology Letters* 18 (10): 11-14.
- Kuswanto, K.R. and S. Wedhastri. 2001. Production of  $\beta$ -glucosidase in the cassava-liquid waste and velvet bean (*Mucuna pruriens* DC). *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics*. Vol.15. JSPS-NRDC/DOST/LIPI/VCC. Bangkok, Thailand, November 7-9, 2001.
- Lodder, J. (ed.) 1970. *The Yeast, a Taxonomic Study*. Amsterdam: North Holland Publ. Co.
- Lowry, O.H., N. Rosenbrough, N. Farm, and R. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275.
- Mega, T. and Y. Matsushima. 1983. Energy of binding of *Aspergillus oryzae*  $\beta$ -glucosidase with the substrate and mechanism of its enzymic action. *Journal of Biochemistry* 94: 1637-1647.
- Melliawati, R dan E. Sukara, 1989. Isolasi dan karakterisasi isolat-isolat mikroba yang mempunyai potensi amilolitik. *Kongres Nasional V Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*, Yogyakarta, 4-5 Desember 1989.
- Melliawati, R., A.M. Fuad., J. Rachmat, dan N.R. Prayitno. 1995. Penggantian skala produksi enzim amiloglukosidase oleh *Aspergillus* sp. KT-11 pada media ubi kayu parut segar. *Prosiding Seminar dan Pameran Ilmiah; Peranan MIPA dalam Menunjang Pengembangan Industri dan Pengelolaan Lingkungan*. Bogor, 5-6 Desember 1995.
- Melliawati, R., N. Rosalinda, dan E. Sukara. 1993. Pengaruh magnesium sulfat dan kalium dihidrogen fosfat terhadap produksi enzim amiloglukosidase dari pati singkong oleh *Aspergillus* sp. KT-11. *Kongres Nasional VI Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Surabaya, 2-4 Desember 1993.
- Nelson, N. 1941. A photometric adaptation of the somogy method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry* 153: 375-380.
- Pamatong, F.U. 1991. *Enzymatic Production of Maltodextrin from Cassava Starch*. [M.Sc.-Thesis]. Chiang Mai: University of Chiang Mai.
- Prana, T.K. and E. Sukara. 1992. Studi pendahuluan dan pemurnian amiloglukosidase dari isolat kapang *Aspergillus* sp. KT-11. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi*. Bogor, 11-12 Pebruari 1992.
- Rutten, R. and A.J. Daugulis. 1987. Continuous production of  $\alpha$ -amylase by *Bacillus amyloliquefaciens* in a two-stage fermentor. *Biotechnology Letters* 9: 505-510.
- Sukara, E. 1987. *Production of Single Cell Protein from Cassava by Microfungy* [M.Sc. Thesis]. Brisbane: Queensland University, Australia.
- Whitaker, J.R. 1972. *Principles of Enzymology for the Food Sciences*. New York: Marcell Dekker, Inc.
- Zeikus, G. and E.A. Jhonson. 1991. *Mixed Cultures in Biotechnology*. New York: McGraw Hill, Inc.