

## ISOLASI DAN KARAKTERISASI JAMUR PENGHASIL INULINASE YANG TUMBUH PADA UMBI DAHLIA (*Dahlia variabilis*)

Saryono\*, Atria Martina\*\*, Chainulfifah AM\*

\*Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau

\*\*Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Riau

Diterima 27-1-2002

Disetujui 19-3-2002

### ABSTRACT

Twenty-three fungi isolates with inulinase activity were isolated from dahlia tuber rhizosphere. Fungi were inoculated in PDA medium containing inulin. Isolates were identified macroscopic and microscopes. These isolates were selected for their inulase activities in the solid liquid culture on medium that content inulin as the sole carbon and energy source. An Inulinase activity in the solid culture was measured on clear zone while in the liquid culture on sugar reduction. One of the isolate was identified as *Aspergillus clavaties* having higher inulinase activity (2.94 mg fructose ml<sup>-1</sup>). This fungus has potential uses in preparation of fructose syrup from inulin.

**Keywords:** *Aspergillus clavaties*, dahlia tuber, inulinase, rhizosphere

### PENDAHULUAN

Inulinase adalah enzim hidrolitik yang mengkatalisis reaksi hidrolisis polisakarida inulin menjadi fruktosa dan atau fruktooligosakarida. Enzim ini dapat dihasilkan oleh bakteri, jamur maupun tumbuh-tumbuhan. Namun demikian penggunaan enzim mikroba dan aplikasi biokatalisnya banyak mendapatkan perhatian khususnya pada bidang bioteknologi mikroba (Vandamme & Derycke 1983).

Inulin adalah suatu polisakarida

yang dibangun oleh unit-unit monomer fruktosa melalui ikatan  $\beta$ -2-1 fruktofuransida yang diawali oleh satu molekul glukosa. Karbohidrat ini dihasilkan oleh tanaman jenis komposit seperti *Chicory*, *Jerusalem artichoke* dan dahlia. Polifruktosa dengan derajat polimerisasi 30 keatas disebut dengan inulin (Nakamura *et al*, 1995). Inulin tidak dapat larut dalam air dingin tetapi suhu 50<sup>0</sup>C dapat melarutkan 50% inulin. Molekul ini dapat mengendap dalam campuran etanol-air (Vandamme & Derycke 1983).

\* Penulis untuk korespondensi. Telp. 081276-35762.

Pada tanah tempat tumbuh tanaman komposit penghasil inulin juga merupakan tempat berkembangnya mikroorganisme penghasil inulinase (Vandamme & Derycke 1983). Pada artikel ini dijelaskan aktivitas inulinase dari jamur-jamur hasil isolasi rizosfir umbi dahlia yang berpotensi sebagai penghasil enzim dengan aktivitas tinggi.

#### **BAHAN DAN METODE**

Umbi dahlia diperoleh secara acak dari berbagai tempat yang banyak ditumbuhi oleh tanaman dahlia, seperti kebun bunga Brastagi (BG) Sumatra Utara; Padang Panjang (PP), Bukittinggi (BT) dan Payakumbuh (PK), Sumatra Barat; Pekanbaru (PB), Riau. Umbi dimasukkan ke dalam kantong plastik dan ditutup untuk menghindari kontaminasi. Sampel dibawa ke laboratorium untuk analisis selanjutnya, dengan urutan isolasi dan identifikasi jamur penghasil inulinase dilanjutkan dengan uji aktivitas inulinase dari jamur hasil isolasi.

Pada proses isolasi dan identifikasi jamur serta proses produksi digunakan berbagai bahan kimia yang berderajat murni (pro-analisis) kecuali bila disebutkan lain. Spesifikasi bahan kimia yang digunakan dijelaskan pada setiap tahap isolasi dan analisis.

Isolasi jamur menggunakan medium PDA (*Potato Dextrose Agar*)

yang dibuat sendiri. Sebanyak 200 g kentang yang telah dikupas dan dibersihkan kemudian diiris tipis-tipis. Kentang direbus selama 15-20 menit dengan aquades secukupnya, kemudian disaring dengan kain. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditambahkan 20 g dekstrosa dan volumenya dijadikan satu liter. Medium padat dibuat dengan menambahkan 20 g agar. Medium disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 120<sup>0</sup>C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Umbi dahlia dibiarkan membusuk pada suhu kamar selama beberapa hari sampai terlihat tanda-tanda kerusakan biologis (tumbuh jamur). Setiap jamur yang tumbuh diinokulasikan pada media PDA menggunakan ose, kemudian diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu kamar. Setiap jamur yang tumbuh diinokulasikan kembali dengan cara memindahkan pada media PDA yang mengandung inulin 1% pH 5,0. Koloni dan miselium yang telah terpisah diamati bentuk dan ukurannya secara makroskopis dan mikroskopis serta dilakukan foto mikroskop. Biakan murni ini sebagai isolat dipindahkan ke agar miring (PDA ditambahkan dengan 1% inulin) dengan pH 5,0 untuk disimpan dan dipelihara sebagai kultur stok. Semua biakan murni yang didapat ditentukan genus atau spesiesnya berdasarkan bentuk dan ukuran koloninya.

Jamur ditumbuhkan pada cawan petri di dalam media dengan inulin (ekstrak umbi dahlia 1%) sebagai satu-satunya sumber karbon, selama 2-3 hari pada suhu 30°C. Penentuan aktivitas inulinase dilakukan dengan cara meletakkan biakan di tempat dingin pada 0°C selama satu minggu. Pada kondisi ini inulin akan mengendap sedangkan di sekitar koloni jamur penghasil inulinase akan terbentuk zona bening sebagai akibat telah terhidrolisisnya senyawa polimer inulin di sekitar koloni oleh inulinase yang dihasilkan jamur. Aktivitas inulinase dikelompokkan ke dalam 5 kategori yaitu aktivitas sangat rendah dengan nisbah luas zona bening terhadap luas koloni < 1-1 diberi simbol (+), aktivitas rendah > 1-2 (++) , aktivitas sedang > 2-3 (+++), aktivitas tinggi dengan nisbah > 3-4 (++++) dan aktivitas sangat tinggi nisbahnya > 4 dengan simbol (+++++) (Alla & Omar 1998; Basuki *et al*, 1995).

Produksi enzim dilakukan terhadap kapang yang positif menghasilkan inulinase dengan aktivitas tinggi. Sebanyak 1-2 ose kultur stok (biakan murni) diinokulasikan ke dalam 25 ml medium PDA pH 5,0 di dalam erlenmeyer 50 ml. Media yang telah diinokulasi tersebut diinkubasi dalam inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm selama 3 hari pada suhu

30°C (Saryono *et al*, 1999). Kultur tersebut digunakan untuk percobaan fermentasi selanjutnya.

Sebanyak 2,5 ml kultur fermentasi dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 25 ml medium pH 5,0 yang terdiri dari inulin 1%, diamonium hidrogen fosfat 0,5%, magnesium sulfat hepta hidrat 0,05% dan ferro sulfat 0,015% (Byun & Nahm 1978). Campuran diinkubasi selama 5 hari di dalam inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm dan suhu 30°C. Aktivitas inulinasenya ditentukan dengan mengukur gula pereduksi yang terbentuk dengan metode ortotolidin dan biomasa ditentukan secara gravimetri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah di isolasi jamur penghasil inulinase dari berbagai tempat di Pulau Sumatra menghasilkan 23 isolat. Enam isolat berasal dari Brastagi (Sumatra Utara), empat isolat berasal dari Pekanbaru (Riau), empat isolat dari Payakumbuh (Sumatra Barat), empat isolat berasal dari Bukittinggi (Sumatra Barat) dan lima isolat dari Padang Panjang (Sumatra Barat) seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Dari 23 isolat jamur penghasil inulinase yang didapat, terdiri atas 15 spesies, 13 di antaranya merupakan spesies yang untuk pertama kali dilaporkan sebagai penghasil inulinase

Tabel 1. Jamur penghasil inulinase yang diisolasi dari 5 lokasi di Pulau Sumatra.

Jenis Jamur	Kode	Zona halo
		30°C
<i>Cunninghamella elegans</i>	BG1	++
<i>Rhizopus stolonifer</i>	BG2	++
<i>Trichoderma sp.</i>	BG3	++
<i>Fusarium sp1.</i>	BG4	++
<i>Aspergillus clavatus</i>	BG5	+++++
<i>Penicillium sp2.</i>	BG6	++
<i>Aspergillus clavatus</i>	PB1	+++
<i>Fusarium culmorum</i>	PB2	+++
<i>Fusarium solani</i>	PB3	++++
<i>Cylindrocephalum aureum</i>	PB4	++
<i>Fusarium culmorum</i>	PK1	+++
<i>Cunninghamella elegans</i>	PK2	++
<i>Rhizopus sp2.</i>	PK3	++
<i>Penicillium luidum</i>	PK4	+++
<i>Penicillium rubrum</i>	BT1	++
<i>Penicillium melinii</i> Thom	BT2	+++
<i>Rhizopus sp1.</i>	BT3	++
<i>Humicola grisea</i>	BT4	++
<i>Oidiodendron griseum</i>	PP1	++
<i>Geotrichum candidum</i>	PP2	++
<i>Geotrichum sp.</i>	PP3	++
<i>Penicillium sp1.</i>	PP4	+++
<i>Aspergillus niger</i>	PP5	++

+: aktivitas sangat rendah, ++: aktivitas rendah, +++: aktivitas sedang, ++++: aktivitas tinggi  
+++++: aktivitas sangat tinggi, BG: Brastagi, PB: Pekanbaru, PK: Payakumbuh, BT: Bukittinggi,  
PP: Padang Panjang.

spesies tersebut adalah *Cunninghamella elegans*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus clavatus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Cylindrocephalum aureum*, *Penicillium melinii* Thom, *Humicola grisea*, *Oidiodendron griseum*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum sp.*, *Penicillium citreogringum*, dan *Fusarium culmorum*.

Populasi jamur pada tanah yang subur  $\pm 119 \times 10^3$  sel/g tanah (Subba

Rao 1994). Melalui penelitian ini ditemukan antara tiga sampai enam isolat untuk setiap lokasi. Hal ini disebabkan karena jamur yang diisolasi hanya kapang (multi sel) saja, sedangkan jamur unisel (khamir) tidak diisolasi. Selain itu pengkayaan kultur dilakukan dengan membiarkan umbi dahlia busuk pada suhu kamar. Jamur yang dapat menghasilkan inulinase akan mampu mendekom-

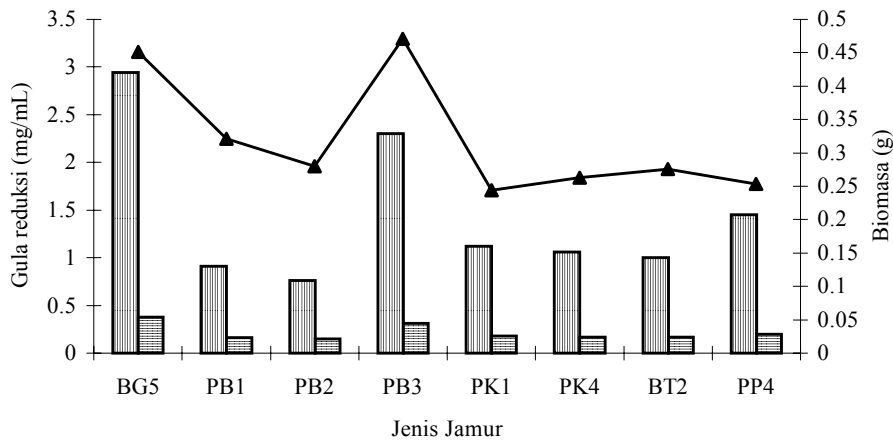
posisi umbi dahlia untuk digunakan sebagai sumber karbonnya, sehingga jamur tersebut akan tumbuh dengan baik, sedangkan jamur yang tidak dapat menghasilkan enzim inulinase pertumbuhannya akan terhambat. Proses isolasi jamur dilakukan memakai medium PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang terdiri dari kentang 20%, dekstrosa 2% dan agar 2%. Media dibuat pH 5,0 untuk mengurangi kemungkinan kontaminasi oleh bakteri pada saat isolasi. Jamur lebih tahan terhadap pH suasana asam jika dibandingkan dengan bakteri atau aktinomisetes, sehingga dengan cara ini juga telah terjadi seleksi terhadap mikroba yang sedang diisolasi (Ernest *et al*, 1991).

Tabel 1. menunjukkan 23 isolat jamur hasil isolasi yang memiliki aktivitas inulinase. Setelah dilakukan uji aktivitas berdasarkan pembentukan zona halo, didapatkan 15 isolat jamur dengan aktivitas rendah, 6 isolat memiliki aktivitas sedang, satu isolat yang memiliki aktivitas tinggi dan satu isolat memiliki aktivitas sangat tinggi yaitu *Aspergillus clavatus* (BG5) dari Sumatra Utara. Isolat yang terakhir ini lebih prospektif bila dibandingkan dengan isolat lainnya. Menurut Stanbury & Whitaker (1984), spesies mikroba berbeda dapat menghasilkan kerja enzim yang berbeda untuk reaksi yang sama,

sehingga *strain* suatu mikroba yang paling aktif dalam menghasilkan suatu enzim tertentu dapat dipilih.

Sifat-sifat enzim yang dihasilkan oleh suatu mikroba juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya. Spesies jamur yang sama tetapi berasal dari daerah berbeda memiliki aktivitas inulinase berbeda. *Aspergillus clavatus* yang berasal dari daerah Brastagi memiliki aktivitas inulinase sangat tinggi, sementara itu *Aspergillus clavatus* yang berasal dari Pekanbaru, memperlihatkan aktivitas sedang.

Selanjutnya terhadap jamur yang memiliki aktivitas (++++) hingga (+++++) pada pengujian zona halo, dilakukan uji aktivitas menggunakan fermentasi terendam. Medium fermentasi menggunakan inulin sebagai satu-satunya sumber karbon dan energinya dan diberi mineral. Gambar 1 memperlihatkan bahwa *A. clavatus* (BG5) dari Brastagi memiliki aktivitas inulinase tertinggi dengan menghasilkan gula pereduksi 2,94 mg/ml, maka inulinase dari *A. clavatus* prospektif untuk diteliti lebih lanjut. Biomassa tertinggi sebesar 0,471 g dihasilkan oleh *Fusarium solani* dari Pekanbaru. Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat Sa'id (1987) yang mengatakan bahwa produksi enzim yang tinggi tidak selalu sejalan dengan banyaknya biomasa yang dihasilkan.



Gambar 1. Diagram aktivitas inulinase, kadar gula reduksi dan biomassa yang dihasilkan oleh jamur hasil isolasi pada proses fermentasi terendam. PP4: *Penicillium sp.*, BG5: *Aspergillus clavatus*, BT2: *Penicillium melini* Thom, PK1: *Fusarium culmorum*, PK4: *Penicillium luvidum*, PB1: *Aspergillus clavatus*, PB2: *Fusarium culmorum*, PB3: *Fusarium solani*.



Gambar 2. Foto mikroskopis jamur *A. clavatus* Gmn11.3 (pembesaran 200x).

Dari pengamatan pada saat penanaman di dalam cawan petri, ternyata pertumbuhan *A. clavatus* Gmn11.3 relatif lebih cepat dari isolat-isolat lainnya. Koloni jamur ini seperti beludru (*velvety*), berlipat membentuk garis berwarna hijau kebiruan. Warna belakangnya putih be-

ning dan vesikel (kepala konidia) seperti gada (*clavate*) serta konidia elip, licin (halus) seperti dapat dilihat pada Gambar 2.

## KESIMPULAN

Dari lima tempat di pulau Sumatera telah berhasil diisolasi 23 isolat

jamur yang dapat menghasilkan inulinase. Sebanyak 13 isolat di antaranya merupakan isolat jamur yang untuk pertama kali dilaporkan sebagai jamur penghasil inulinase yaitu *Cunninghamella elegans*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus clavatus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Cylindrocephalum aureum*, *Cunninghamella elegans*, *Penicillium melinii* Thom, *Humicola grisea*, *Oidiodendron griseum*, *Geotricum candidum*, *Geotricum sp.*, dan *Penicillium citreonigrum*. Jamur *A. clavatus* (BG5) memiliki aktivitas inulinase tertinggi dengan nisbah zona halo 4,2 dan 2,94 mg gula pereduksi/ml. *A. clavatus* (BG5) memproduksi inulinase ekstrak-selular secara induktif dengan inulin merupakan induser terbaik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alla-Abd, N.H. & Omar, A.** 1998. Wheat straw and cellulolytic fungi application increase production, nodule efficiency and growth of Fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) grow in saline soil. *Biol. Fertil. Soil* **26**: 58-65.
- Basuki, I.A., Hadioetomo, R.S. & Purwadaria, T.** 1995. Isolasi dan seleksi kapang termotoleran penghasil selulase untuk pengomposan tandan kosong kelapa sawit. *Jurnal Mikrobiologi Industri* **V**: 15-19.
- Byun S.M. & Nahm, B.H.** 1978. Production of fructose from Jerusalem artichoke by enzymatic hydrolysis. *J. of Food Science* **43**: 1871-1873.
- Ernest, J.M., Joseph, L. & Adelberg, E.A.** 1991. *Medical Microbiology*. USA: Prentice Hall.
- 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.
- Sa'id, E.G.** 1987. *Bioindustri: Penerapan Teknologi Fermentasi*. Jakarta: PT Mediatama Sarana Perkasa.
- Saryono, Chainulfiffah A.M., Soekartadiredja, E.M., Supriatna & Hadiman.** 1999. Kemungkinan pemanfaatan inulin umbi dahlia *Dahlia variabilis* untuk pembuatan sirup Fruktosa (HFS) dan Fruktooligosakarida (FOS) menggunakan inulinase dari *Aspergillus niger* strain lokal. *Seri Kajian Ilmiah Unika Soegijapranata* **9**: 1-10.
- Saryono, Chainulfiffah, A.M., Silvera, D., Monalisa H.S. & Dasli.** 1999. Kemungkinan Pemanfaatan Umbi Dahlia, *Dahlia variabilis* untuk pembuatan sirup fruktosa (HFS) dan Fruktooligosakarida (FOS). *Jurnal Teknologi Indonesia* **XXII**: 67-74.
- Stanbury, P.F. & Whitaker, A.** 1984. *Principles of Fermentation Technology*. New York: Pergamon Press.
- Subba Rao, N.S.** 1994. *Soil Microorganisms and Plant Growth*. New Delhi: Oxford and IBH Publishing Co.
- Vandamme E.J. & Derycke, D.G.** 1983. Microbial inulinase: fermentation process, properties and applications. *Advances in Appl. Micro* **29**: 139-176.



