

**SCREENING BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL INULINASE
ISOLAT AIR PANAS BUKIT GADANG KABUPATEN SOLOK**

SKRIPSI

Diajukan sebagai Salah Satu Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains



Oleh

**WETRI RAMADANI
NIM. 84072**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2011**

PERSETUJUAN SKRIPSI

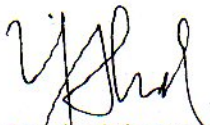
SCREENING BAKTERI TERMOFILIK PENGHASIL INULINASE ISOLAT AIR PANAS BUKIT GADANG KABUPATEN SOLOK

Nama : Wetri Ramadani
NIM : 84072
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 8 Februari 2011

Disetujui Oleh

Pembimbing I,



Dr. Yuni Ahda, M.Si
NIP. 19690629 199403 2 003

Pembimbing II,



Dra. Minda Azhar, M.Si
NIP. 19641124 199112 2 001

PENGESAHAN

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Program Studi
Biologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Judul : *Screening Bakteri Termofilik Penghasil Inulinase Isolat Air Panas Bukit Gadang Kabupaten Solok*

Nama : Wetri Ramadani

NIM : 84072

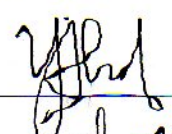
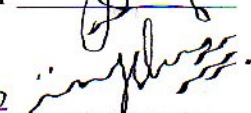
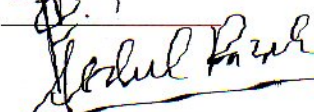
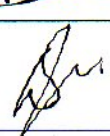
Program Studi : Biologi

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 8 Februari 2011

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Yuni Ahda, M.Si	1 
2. Sekretaris	: dr. Elsa Yuniarti, S.Ked	2 
3. Anggota	: Dr. Ramadhan Sumarmin, M.Si	3 
4. Anggota	: Dr. Abdul Razak, M.Si	4 
5. Anggota	: Dra. Des M, M.S	5 

ABSTRAK

Wetri Ramadani : *Screening* Bakteri Termofilik Penghasil Inulinase Isolat Air Panas Bukit Gadang Kabupaten Solok

Fruktosa merupakan monosakarida yang dapat digunakan sebagai bahan pemanis pengganti sukrosa. Fruktosa dapat dihidrolisis dari inulin atau pati. Hidrolisis dari inulin lebih menguntungkan daripada hidrolisis dari pati. Hidrolisis fruktosa dari inulin membutuhkan suatu enzim inulinase. Enzim inulinase dapat ditemukan pada tumbuhan maupun mikroorganisme. Enzim termostabil saat ini sangat dibutuhkan untuk proses industri. Enzim termostabil dapat diproduksi dari mikroorganisme termofilik, diantaranya adalah bakteri termofilik yang terdapat pada sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri termofilik penghasil inulinase dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok.

Penelitian ini merupakan penelitian survey. Data dianalisis secara deskriptif untuk melihat isolat bakteri termofilik yang didapatkan dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok melalui proses *screening*. Medium yang digunakan terdiri dari medium cair dan padat.

Dari hasil penelitian ditemukan satu isolat bakteri termofilik penghasil inulinase dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok. Isolat bakteri termofilik ini memiliki karakteristik koloni berbentuk rhizoid, tepian koloni bercabang-cabang dan warna putih. Dengan prosedur pewarnaan Gram terlihat bahwa isolat bakteri termofilik ini memiliki sel berbentuk batang (basilus) dan memperlihatkan reaksi Gram negatif.

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya serta memberikan pengetahuan bagi seluruh umat manusia. Semoga limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya tetap ada pada Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan orang-orang yang mengikuti jejaknya sampai hari akhir.

Skripsi ini berjudul “*Screening* Bakteri Termofilik Penghasil Inulinase Isolat Air Panas Bukit Gadang Kabupaten Solok”, merupakan hasil penelitian penulis yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA-UNP. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terwujud tanpa ada bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si. sebagai dosen Pembimbing I dan Ibu Dra. Minda Azhar, M.Si. sebagai dosen Pembimbing II yang telah banyak membimbing dan membantu penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Ramadhan Sumarmin, M.Si., Bapak Dr. Abdul Razak, M.Si., Ibu Dra. Des M., M.S. dan dr. Elsa Yuniarti, S.Ked. sebagai dosen Penguji yang telah memberikan masukan, saran dan kritikan yang sangat berharga kepada penulis.

3. Ibu Dr. Hj. Ulfa Syukur, M.Si. sebagai Penasehat Akademik sekaligus Ketua Jurusan Biologi FMIPA-UNP.
4. Sekretaris Jurusan Biologi FMIPA-UNP
5. Ketua Program Studi Biologi FMIPA-UNP
6. Koordinator Seminar dan Tugas Akhir Jurusan Biologi FMIPA-UNP
7. Bapak/Ibu seluruh staf pengajar Jurusan Biologi FMIPA-UNP
8. Seluruh mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA-UNP dan seluruh pihak yang telah membantu penulis selama perkuliahan, penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis mengharapkan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca. Oleh karena itu saran dan kritikan sangat diperlukan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menambah pengetahuan semua pihak yang membacanya.

Padang, Februari 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Inulin	6
B. Bakteri Termofilik	8
C. Mikroorganisme Penghasil Inulinase	10
1. Jamur	11
2. Yeast	12
3. Bakteri	13
D. <i>Screening</i> Mikroorganisme	14

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian	17
B. Waktu dan Tempat	17
C. Alat dan Bahan	17
D. Prosedur Penelitian	18
1. Persiapan penelitian	18
2. Pelaksanaan penelitian	18
3. Pengamatan	23
E. Teknik Analisis Data	23

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. <i>Screening</i> Bakteri Termofilik Penghasil Inulinase	24
B. Morfologi dan Mikroskopik Koloni Bakteri	29

BAB VI. PENUTUP

A. Kesimpulan.....	33
B. Saran.....	33

DAFTAR PUSTAKA	34
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	37
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur kimia inulin	7
2. Bentuk-bentuk koloni bakteri termofilik yang didapatkan dari inokulasi pertama	28
3. Isolat bakteri termofilik (WT) yang berhasil di- <i>screening</i> dengan bentuk koloni rhizoid (perbesaran 400x)	30
4. Hasil pengamatan pewarnaan Gram isolat bakteri termofilik (WT) yang didapatkan (perbesaran 2500x)	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lokasi sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok	37
2. Titik lokasi tempat pengambilan sampel	38
3. Tiga titik lokasi tempat pengukuran temperatur air.....	39
4. Pembuatan larutan NaCl 145 mM	40
5. Tabel komposisi media	41

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Fruktosa merupakan kelompok gula sederhana (monosakarida) dari golongan karbohidrat yang dapat digunakan sebagai bahan pemanis. Bahan pemanis yang biasa digunakan sehari-hari oleh masyarakat saat ini adalah sukrosa. Seperti halnya sukrosa, konsumsi fruktosa juga aman bagi kesehatan. Penggunaan fruktosa sebagai bahan pemanis alami biasanya dalam bentuk *high fructose syrup* sebagai alternatif pengganti pemanis sukrosa yang saat ini ketersediaannya makin tidak mencukupi kebutuhan masyarakat. Konsumsi fruktosa lebih disenangi masyarakat karena fruktosa 1,7 kali lebih manis daripada sukrosa (Wijanarka dkk, 2007).

Fruktosa dapat dihidrolisis dari pati atau inulin. Hidrolisis fruktosa dari molekul pati kurang efektif daripada hidrolisis dari inulin. Hidrolisis fruktosa dari molekul pati minimal memerlukan tiga tahapan reaksi enzimatis, yaitu menggunakan enzim α -amilase, amiloglukosidase dan invertase. Fruktosa yang dihasilkan dari hidrolisis molekul pati ini adalah sekitar 45%. Sedangkan hidrolisis fruktosa dari inulin tidak memerlukan tahapan reaksi yang panjang. Disamping itu fruktosa yang dihasilkan juga cukup tinggi yaitu mencapai 98% (Saryono dkk, 1999). Oleh karena itu hidrolisis fruktosa dari inulin lebih banyak dilakukan.

Inulin dapat dihidrolisis menjadi fruktosa oleh inulinase. Inulinase adalah enzim hidrolitik yang mengkatalisis reaksi hidrolisis inulin menjadi fruktosa dan atau fruktooligosakarida. Enzim ini dapat dihasilkan oleh bakteri, jamur maupun tumbuh-tumbuhan penghasil inulin (Widowati, 2006). Hidrolisis inulin secara enzimatis lebih menguntungkan karena lebih murah, mudah diekstraksi, produk yang dihasilkan jernih dan lebih manis (Allais *et al*, 1986).

Sebagian besar inulin pada tanaman terdapat pada umbi dahlia (*Dahlia* spp.), umbi *Jerusalem artichoke* (*Helianthus tuberosus*), *chicory* (*Chicoryum intybus*), dandelion (*Taraxacum officinale*), umbi *yacon* (*Smallanthus sanchifolius*) dan dalam jumlah kecil terdapat pada bawang merah, bawang putih, asparagus, pisang dan gandum (Widowati, 2006). Inulin yang diekstraksi dari beberapa tanaman diatas dapat digunakan sebagai media bagi pertumbuhan bakteri penghasil inulinase.

Dibanding dengan tanaman, produksi inulinase akan lebih menguntungkan jika menggunakan mikroba karena pertumbuhannya yang relatif lebih cepat dan dapat diinduksi (Crueger, 1984 dalam Wijanarka dkk, 2004). Pendapat yang sama juga dinyatakan oleh Akhdiya (2003) yang menyatakan bahwa mikroorganisme adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Sebagai sumber enzim, mikroorganisme lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik serta mampu menghasilkan enzim yang ekstrim.

Saat ini pemakaian enzim pada bidang industri makin berkembang, terutama industri di bidang pangan dan bioteknologi. Proses dan kegiatan industri pada umumnya dilakukan pada suhu tinggi. Suhu tinggi dapat mengakibatkan denaturasi pada enzim yang digunakan. Sehubungan dengan hal ini, perlu diupayakan produksi enzim yang termostabil. Enzim termostabil adalah enzim yang memiliki umur (kemampuan untuk tetap aktif dan bertahan) setengah kali lebih besar daripada enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme mesofilik setelah diperlakukan pada suhu 50°C dalam waktu yang telah ditentukan. Enzim termostabil dapat digunakan untuk reaksi biokonversi pada suhu tinggi tanpa terjadinya denaturasi maupun kontaminasi oleh mikroba lain (Wijanarka dan Pujiyanto, 2002). Enzim termostabil sesuai untuk digunakan pada kegiatan di bidang industri dan bioteknologi (Haki dan Rakshit, 2003).

Enzim termostabil dapat diproduksi dari mikroorganisme termofilik. Mikroorganisme termofilik adalah mikroorganisme yang mampu hidup pada temperatur yang tinggi yaitu antara rentangan suhu 42-68°C dengan suhu optimal 60°C (Madigan dan Martinko, 2006: 151). Diantara mikroorganisme termofilik yang mampu menghasilkan inulinase adalah bakteri termofilik. Bakteri ini dapat diisolasi dari lingkungan yang bersuhu tinggi, salah satunya adalah pada sumber air panas. Allais *et al* (1987) telah berhasil mengisolasi empat strain bakteri termofilik dari sampel tanah yang memiliki aktivitas inulinase. Setelah diidentifikasi semua strain bakteri tersebut termasuk kedalam genus *Bacillus*.

Provinsi Sumatera Barat yang terletak di Pulau Sumatera memiliki cukup banyak dataran tinggi. Pada dataran tinggi ini banyak dijumpai sumber air panas.

Sumber air panas ini berpotensi untuk diketahui keanekaragaman hayati bakteri termofiliknya. Selanjutnya keanekaragaman jenis bakteri termofilik tersebut perlu dieksplorasi sifat-sifat, potensi dan kegunaannya bagi kehidupan manusia terutama dalam bidang teknologi dan industri. Salah satu potensi tersebut adalah pemanfaatan enzim inulinase termostabil yang dihasilkan bakteri tersebut.

Diantara sumber air panas yang terdapat di dataran tinggi Sumatera Barat adalah sumber air panas Bukit Gadang yang terletak di Kabupaten Solok. Lingkungan ini merupakan habitat berbagai jenis bakteri termasuk diantaranya bakteri termofilik. Diharapkan dari sumber air panas Bukit Gadang ini didapatkan bakteri termofilik penghasil inulinase. Bakteri termofilik ini didapatkan dengan cara *screening* dengan menumbuhkan di laboratorium menggunakan media inulin. Inulin berperan sebagai substrat dan satu-satunya sumber karbon bagi pertumbuhan bakteri.

Untuk mengidentifikasi suatu spesies bakteri, ada beberapa cara yang dapat dilakukan, antara lain pendekatan secara morfologi, mikroskopis dan molekuler. Pendekatan morfologi dan mikroskopis lebih mudah, murah dan sederhana dibanding pendekatan secara molekuler. Identifikasi secara morfologi dan mikroskopis dapat dilakukan hanya dengan pengamatan bentuk koloni dan sel bakteri yang ditumbuhkan pada suatu medium. Untuk itu identifikasi bakteri dengan pendekatan morfologi dan mikroskopis lebih sering dilakukan.

Berdasarkan uraian diatas dan sehubungan dengan belum adanya penelitian mengenai hal ini, maka dilakukan penelitian dengan judul ***“Screening***

bakteri termofilik penghasil inulinase isolat air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok”.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: Bakteri termofilik penghasil inulinase apa saja yang dapat *di-screening* dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan dan menentukan karakteristik bakteri termofilik penghasil inulinase yang *di-screening* dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

1. Sebagai informasi awal untuk penelitian selanjutnya, terutama dalam hal mencari informasi tentang berbagai jenis bakteri termofilik lainnya yang berpotensi menghasilkan inulinase termostabil.
2. Sebagai masukan bagi pihak-pihak yang terkait.
3. Untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan.

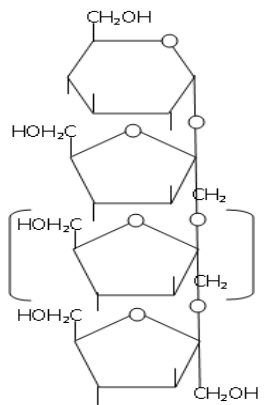
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Inulin

Inulin termasuk golongan polisakarida yang merupakan polimer dari unit-unit fruktosa. Inulin banyak terdapat pada tanaman *Jerusalem artichoke*, dandelion, *chicory*, dahlia dan beberapa anggota famili Asteraceae lainnya. Inulin berfungsi sebagai karbohidrat cadangan bagi tanaman yang banyak tersimpan dalam umbi (Allais *et al*, 1986).

Molekul inulin berupa sebuah rantai lurus dari residu fruktosa yang dihubungkan dengan ikatan $\beta(2-1)$ glikosida. Sebuah glukosa terikat dengan ikatan $\beta(2-1)$ glikosida pada ujung fruktosa. Panjang rantai biasanya terdiri dari 25-35 residu (Allais *et al*, 1986). Inulin merupakan polimer dari unit-unit fruktosa dalam karbohidrat. Penyusun utama inulin adalah fruktosa dengan ikatan $\beta(2-1)$ glikosida antara unit fruktosanya. Inulin dengan rantai linier ikatan $\beta(2-1)$ -fruktosyl-fruktosa yang mengandung satu unit terminal glukosa di ujungnya disebut dengan β -D-glukopyranosil [β -D-fruktofuranosil] (n-1)-D-fruktofuranosida disingkat dengan Gpyfn. Sedangkan inulin tanpa glukosa disebut dengan β -D-fruktopyranosil [β -D-fruktofuranosil] (n-1)-D-fruktofuranosida disingkat dengan Fpyfn. Huruf n menunjukkan jumlah residu fruktosa pada inulin, py merupakan singkatan pyranosil (Widowati, 2005 dalam Myranti, 2007).



Gambar 1. Struktur kimia inulin
(Gambar: Ohta *et al*, 2004)

Inulin bersifat larut dalam air panas. Suhu 50°C dapat melarutkan inulin hingga 5%, sedangkan pada suhu rendah inulin akan mengendap. Molekul inulin juga dapat mengendap dalam campuran air dan etanol (Vandamme dan Derycke, 1983 dalam Saryono dkk, 2002). Inulin larut dalam air, tetapi tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim dalam sistem pencernaan mamalia sehingga mencapai usus besar tanpa mengalami perubahan struktur. Meskipun demikian, inulin dapat mengalami fermentasi akibat aktivitas mikroflora yang terdapat di dalam usus besar sehingga berimplikasi positif terhadap kesehatan tubuh. Di dalam usus besar, hampir seluruh inulin difermentasi menjadi asam-asam lemak rantai pendek dan beberapa mikroflora spesifik menghasilkan asam laktat. Hal ini menyebabkan penurunan pH kolon sehingga pertumbuhan bakteri patogen terhambat. Mekanisme seperti ini berimplikasi pada peningkatan kekebalan tubuh (Widowati, 2006).

Hidrolisis inulin terutama menghasilkan fruktosa walaupun juga dihasilkan beberapa glukosa. Hidrolisis inulin secara kimia atau enzimatis terbukti telah menghasilkan sirop dengan kadar fruktosa yang tinggi. Pada awalnya hidrolisis inulin dilakukan secara kimia, tetapi cara ini ternyata lebih mahal dan menghasilkan bahan-bahan sampingan yang tidak diinginkan dibandingkan hidrolisis secara enzimatis. Enzim yang digunakan adalah β -fruktofuranosidase, yang aktif pada inulin dan sukrosa. Enzim tersebut berasal dari tanaman, jamur dan khamir yang telah dipelajari secara intensif. Sebaliknya, masih sangat sedikit perhatian untuk mempelajari inulinase bakteri dan sangat sedikit informasi yang tersedia tentang kejadian mereka di alam serta sifat enzimatisnya (Allais *et al*, 1986).

B. Bakteri Termofilik

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Sel-sel bakteri berbentuk seperti bola, batang atau spiral. Bakteri berdiameter sekitar 0,5 sampai 1,0 μm dan panjang 1,5 sampai 2,5 μm . Reproduksi terutama dilakukan secara aseksual melalui pembelahan biner sederhana. Beberapa bakteri dapat tumbuh pada suhu 0°C dan ada pula yang tumbuh dengan baik pada sumber air panas yang suhunya 90°C atau lebih. Akan tetapi kebanyakan tumbuh pada berbagai suhu diantara kedua kondisi ekstrim ini (Pelczar dan Chan, 2006: 46).

Seperti halnya semua makhluk hidup, mikroorganisme menyesuaikan diri dengan kondisi yang mana mereka dapat bertahan dan hidup. Bakteri termofilik

adalah bakteri yang menyukai suhu yang tinggi, sering tumbuh pada suhu diatas 40°C. Bakteri termofilik biasanya ditemukan pada lingkungan yang panas. Bakteri termofilik mampu hidup pada rentangan suhu 42-68°C dengan suhu optimal 60°C. Salah satu contoh bakteri termofilik adalah *Bacillus stearothermophilus* (Madigan dan Martinko, 2006: 151).

Bakteri termofilik ditemukan pada sumber air panas seperti halnya pada lingkungan panas lainnya. Pada sumber air panas yang suhunya seperti air mendidih, secara berangsur-angsur suhu menurun karena arus air yang mengalir mambentuk suatu gradien. Disepanjang gradien ini akan tumbuh berbagai jenis mikroba dengan rentangan suhu yang berbeda, sehingga akan terbentuk kelompok mikroba dengan batas suhu toleran yang berbeda pula.

Bakteri termofilik juga telah ditemukan pada lingkungan panas buatan seperti pada oven pemanas air yang berskala rumah tangga maupun industri. Misalnya pada oven pemanas air yang memiliki suhu antara 55-80°C merupakan habitat yang baik untuk pertumbuhan bakteri termofilik. Sebagai contoh, *Thermus aquaticus* yang merupakan bakteri pada sumber air panas, telah berhasil diisolasi dari oven pemanas air (Madigan dan Martinko, 2006: 155-156).

Bakteri termofilik mengandung protein yang termostabil dan tahan terhadap denaturasi dan proteolisis. Hal ini karena membran sel bakteri termofilik tersusun atas asam lemak jenuh. Asam lemak bersifat hidrofubik dan menjaga agar sel tetap kuat dan kaku pada temperatur yang tinggi (Haki dan Rakshit, 2003). Enzim dan protein yang dihasilkan oleh bakteri termofilik lebih stabil terhadap panas daripada yang dihasilkan oleh bakteri mesofilik. Bahkan beberapa

enzim termostabil dalam hal perubahan urutan asam amino hanya berbeda sedikit daripada enzim labil yang mengkatalis reaksi yang sama oleh bakteri mesofilik. Oleh karena itu, enzim yang dihasilkan oleh bakteri termofilik ini telah sering diterapkan pada kegiatan-kegiatan di bidang industri (Madigan dan Martinko, 2006: 156). Saat ini penggunaan enzim termostabil pada bidang industri dan bioteknologi makin luas. Hal ini dalam kaitannya dengan fakta bahwa enzim tersebut lebih sesuai untuk proses industri kasar (Haki dan Rakshit, 2003).

C. Mikroorganisme Penghasil Inulinase

Peranan enzim dalam banyak proses telah lama diketahui. Keberadaannya dihubungkan dengan sejarah bangsa Yunani kuno. Mereka menggunakan enzim dari mikroba dalam membakar, produksi alkohol, produksi keju dan sebagainya. Seiring dengan perkembangan ilmu, penggunaan enzim pun makin meningkat (Haki dan Rakshit, 2003).

Inulinase adalah suatu enzim hidrolase yang mampu menghidrolisis polisakarida inulin menjadi fruktosa atau fruktooligosakarida. Enzim ini mampu dihasilkan oleh tanaman, jamur dan bakteri. Akan tetapi saat ini produksi enzim dari mikroba serta aplikasi biokatalisisnya lebih banyak mendapat perhatian, khususnya pada bidang bioteknologi mikroba (Vandamme dan Derycke, 1983 dalam Saryono dkk, 2002).

Sebagian besar inulinase ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Disamping tumbuhan, enzim inulinase telah diketahui juga dapat dihasilkan oleh mikroba. Beberapa mikroba yang mampu menghasilkan inulinase telah dipelajari

dan diketahui spesiesnya. Kelompok mikroba yang mampu memproduksi inulinase diantaranya adalah jamur, yeast dan bakteri.

1. Jamur

Untuk dapat memanfaatkan inulin sebagai sumber karbon dan energinya maka suatu mikroorganisme harus mampu mengeluarkan enzim ekstraselular (inulinase) yang dapat mendegradasi molekul besar (inulin) menjadi bentuk yang lebih sederhana (fruktosa), sehingga dapat diserap oleh sel untuk selanjutnya dimetabolisme (Saryono dkk, 1999). Jamur yang dapat menghasilkan inulinase akan mampu mendekomposisi umbi dahlia untuk digunakan sebagai sumber karbon, sehingga jamur tersebut akan tumbuh dengan baik. Sedangkan jamur yang tidak dapat menghasilkan enzim inulinase pertumbuhannya akan terhambat (Saryono dkk, 2002).

Pengujian aktivitas inulinase terhadap jamur dapat dilakukan dengan menumbuhkan jamur pada medium yang mengandung inulin sebagai satu-satunya sumber karbon dan energinya. Hasil pengujian berdasarkan pembentukan zona halo. Pembentukan zona halo terjadi sebagai akibat telah dipecahnya ikatan $\beta(2-1)$ glikosida pada molekul substrat (inulin) oleh aktivitas inulinase yang dihasilkan oleh jamur tersebut. Semakin tinggi aktivitas inulinase yang dikeluarkan ke medium pertumbuhan, maka zona halo yang terbentuk juga semakin lebar (Vullo dkk, 1991; Basuki dkk, 1995 dalam Saryono dkk, 1999).

Secara teoritis, pada tanah sangat banyak terdapat jamur. Misalnya pada tanah yang subur dapat mengandung jamur hingga ribuan jenis. Sirisansaneeyakul *et al* (2006) menyebutkan bahwa beberapa spesies jamur diantaranya telah

diketahui menghasilkan inulinase, yaitu: *Aspergillus niger*, *Aspergillus ficuum*, *Chrysosporium pannorum* dan *Penicillium purpurogenum*. Jamur ini memproduksi endoinulinase maupun eksoinulinase.

Saryono dkk (1999) telah berhasil mengisolasi 3 jenis jamur yang optimal dalam menghasilkan inulinase, yaitu *Humicola grisea*, *Geotrichum* sp. dan *Aspergillus niger*. Ketiga jenis jamur ini memiliki aktivitas inulinase, walaupun dengan aktivitas yang berbeda-beda. Pada penelitian berikutnya, Saryono dkk (2002) berhasil mengisolasi 23 isolat jamur penghasil inulinase yang diisolasi dari lima tempat di Pulau Sumatera. Ke-23 isolat tersebut berasal dari genus *Cunninghamella*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cylindrocephalum*, *Humicola*, *Oidiodendron* dan *Geotrichum*. Tetapi masing-masing isolat jamur tersebut memiliki aktivitas inulinase yang berbeda.

2. Yeast

Dari kelompok yeast telah diketahui beberapa diantaranya yang mampu memproduksi inulinase secara baik yaitu: *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefyr*, *Debaryomyces cantarellii* dan *Pichia polymorpha* (Sirisansaneeyakul *et al*, 2006). Meskipun aktivitas hidrolisis inulin telah dilaporkan dari berbagai strain mikroba, yeast jenis *Kluyveromyces* spp. telah terbukti sebagai sumber inulinase yang serba guna.

Aktivitas inulinase oleh yeast telah diketahui terutama oleh *K. fragilis* dan *K. marxianus*. Inulinase yang dimurnikan secara parsial telah dilaporkan pada *K. fragilis* yang secara optimal aktif pada suhu 45°C dan pH 5,0 (Singh dan Gill,

2006). *K. marxianus* merupakan yeast termotoleran penghasil inulinase ekstraseluler yang diisolasi dari tanah di rizosfer *D. pinnata* (Zul dkk, 2003).

Produksi inulinase endoseluler dan eksoseluler juga dilaporkan pada *Kluyveromyces* sp. strain Y-85. Massa molekul enzim endoseluler adalah 42 dan 65 kDa, sedangkan enzim eksoseluler adalah 57 kDa protein. Enzim-enzim tersebut masing-masing secara optimal aktif pada pH 4,5 dan 4,6 serta pada suhu 52°C dan 55°C.

Aktivitas inulinase juga telah diketahui oleh *K. marxianus* var. *bulgaricus* yang memproduksi inulinase ekstraseluler. Hal ini dilakukan dengan menumbuhkan *K. marxianus* pada inulin, sukrosa, fruktosa dan glukosa sebagai sumber karbon. Inulinase yang dihasilkan ini berfungsi secara optimal pada pH 4,75 serta temperatur 55°C dengan massa molekul 57 kDa. Kondisi ini sama halnya dengan inulinase ekstraseluler yang telah dilaporkan lebih awal dari *Kluyveromyces* sp. strain Y-85.

3. Bakteri

Produksi inulinase oleh bakteri lebih menguntungkan dibandingkan dengan yeast dan jamur. Hal ini terlihat dari adanya kemampuan bakteri untuk dapat bertahan hidup pada suhu tinggi. Sehubungan dengan hal ini telah diusahakan untuk memproduksi inulinase termostabil. Singh dan Gill (2006) menyebutkan bahwa Tanaka *et al* (1972) dan Nakayama (1983) telah berhasil mengisolasi beberapa mutan *Arthrobacter ureafaciens* yang menunjukkan variasi inulinase termostabil. Inulinase yang dihasilkan oleh beberapa strain *A. ureafaciens* stabil pada suhu 70°C. Suatu β - fructofuranosidase telah berhasil

dimurnikan dari *Arthrobacter* sp. yang optimal pada pH 6 dan suhu 50°C. Hal yang sama juga pernah dilaporkan oleh Takahashi *et al* (1985) yang telah berhasil memurnikan suatu eksoinulinase (β -D-Fructan Fructohydrolase) dari *Streptococcus salivarius*. Enzim ini bekerja secara optimum pada pH 7.

Allais *et al* (1987) juga telah mengisolasi suatu strain *Bacillus* termofilik penghasil inulinase yang diinduksi dari inulin. Inulinase dimurnikan secara parsial dari *Bacillus subtilis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi fruktosa oleh inulin lebih tinggi dibandingkan produksi oleh sukrosa. Sebuah isolat *B. stearothermophilus* termofilik yang tumbuh pada temperatur antara 41-69°C memproduksi inulinase ekstraseluler dengan masa molekul 54 kDa dan pH 5,0.

Park *et al* (1999) juga melaporkan sebuah strain inulinolitik dari *Xanthomonas* sp. mampu memproduksi endoinulinase. Endoinulinase tersebut aktif pada temperatur 45°C dan pada pH 6,0. Selanjutnya juga berhasil dimurnikan *X. oryzae*. Bakteri ini mampu memproduksi endoinulinase ekstraseluler dengan berat molekul 139 kDa. Enzim ini mampu mengubah inulin menjadi inulooligosakarida. Enzim ini aktif maksimal pada suhu 50°C dan pH 7,5.

D. Screening Mikroorganisme

Di alam, hampir semua jenis bakteri atau jamur, termasuk jenis yang patogen, secara alami hidup dengan berasosiasi dengan jenis lainnya. Oleh karena itu, kultur yang pertama kali diambil dari suatu sumber merupakan suatu kultur campuran yang terdiri dari beberapa jenis yang berbeda. Berbagai jenis bakteri yang berbeda tersebut dapat dipisahkan antara satu jenis dengan jenis lainnya dan

ditumbuhkan sendiri di laboratorium. Suatu kultur mikroba yang hanya berisi satu jenis disebut kultur murni (Burdon, 1966).

Biakan murni terdiri dari satu populasi sel yang semuanya berasal dari satu sel induk (Pelczar dan Reid, 1958). Suatu mikroorganisme yang akan dipelajari harus dalam bentuk kultur murni. Proses untuk memperoleh suatu kultur murni dengan pemisahan satu jenis bakteri atau fungi dari suatu campuran dengan jenis lainnya disebut dengan isolasi mikroba (Burdon, 1966).

Untuk mengisolasi suatu spesies mikroorganisme dikenal beberapa cara, yaitu:

1. Dengan pengenceran

Cara ini pertama kali dilakukan oleh Lister pada tahun 1865. Suatu sampel dari suatu suspensi yang berupa campuran bermacam-macam spesies diencerkan dalam suatu tabung yang tersendiri. Dari hasil pengenceran ini kemudian di ambil kira- kira 1 ml untuk diencerkan lebih lanjut. Jika dari pengenceran yang ketiga ini diambil 0,1 ml untuk disebarkan pada suatu medium padat, kemungkinan besar kita akan mendapatkan beberapa koloni yang akan tumbuh dalam medium tersebut, akan tetapi mungkin juga kita hanya akan memperoleh satu koloni saja. Dalam hal ini, koloni yang didapatkan dapat kita jadikan biakan murni. Jika kita belum yakin bahwa koloni tunggal yang kita peroleh tersebut merupakan koloni yang murni, maka kita dapat mengulang pengenceran dengan menggunakan koloni ini sebagai sampel.

2. Dengan penuangan

Teknik isolasi mikroorganisme dengan penuangan pertama kali diperkenalkan oleh Robert Koch (1843- 1905). Metode ini dilakukan dengan mengambil sedikit sampel campuran bakteri yang mudah diencerkan, dan kemudian di sebar di dalam suatu medium. Dengan demikian akan diperoleh suatu biakan campuran. Setelah medium tersebut mengental maka selang beberapa jam kemudian akan terbentuk koloni yang masing-masing dapat dianggap murni. Dengan mengulang pekerjaan di atas, akan diperoleh biakan murni yang lebih terjamin.

(Anonymous, 2009)

BAB V

PENUTUP

A. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, hal yang dapat disimpulkan adalah: satu isolat bakteri termofilik penghasil inulinase dapat di-*screening* dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok. Isolat memiliki karakteristik koloni berbentuk rhizoid, tepian koloni yang bercabang-cabang dan berwarna putih. Dengan prosedur pewarnaan Gram, terlihat bahwa sel berbentuk batang (basilus) dan termasuk kedalam golongan bakteri Gram negatif.

B. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan untuk menguji aktifitas inulinase oleh bakteri termofilik yang berhasil didapatkan dari hasil *screening* dari sumber air panas Bukit Gadang Kabupaten Solok.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhdiya, A. (2003). "Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease Alkalik Termotabil". *Buletin Plasma Nutrafah*. Vol.9 No.2 Th.2003. Hlm. 38-44.
- Allais, J.J. *et al.* (1986). "Isolation and Characterization of Bacterial Strains with Inulinase Activity". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 52 No. 5. Hlm. 1086-1090.
- Allais, J.J. *et al.* (1987). "Isolation and Characterization of Thermophilic Bacterial Strains with Inulinase Activity". *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 53 No. 5. Hlm. 942-945.
- Anonimous. (2009). "Teknik Isolasi Mikroorganisme". <http://www.firebiology07.wordpress.com>. Diakses 29 Mei 2010.
- Burdon, K.L. (1966). *Microbiology* 5th edition. USA: The Macmillan Company.
- Castro, G.R., Baigori, M.D. & Sineriz, F. (1995). "A Plate Technique for Screening of Inulin Degrading Microorganism". *Journal of Microbiological Methods*. Vol. 22. Hal 51-56.
- Haki, G.D. & Rakshit, S.K. (2003). "Developments in Industrially Important Thermostable Enzymes: a Review". *Bioresource Technology*. No.89. Hal. 17-34.
- Madigan, M.T. & Martinko, J.M. (2006). *Biology of Microorganisms* 11th edition. USA: Pearson Prentice Hall.
- Myranti. (2007). "Karakteristik Set Yogurt yang Ditambahkan Inulin dari Umbi Dahlia Segar (*Dahlia pinnata* Cav.)". *Skripsi tidak diterbitkan*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang.
- Ohta, K., Akimoto, H. & Moriyama, S. (2004). "Fungal Inulinases: Enzymology, Molecular Biology and Biotechnology". *Japanese Applied Glycoscience*. Vol.51. Hlm. 247-254.
- Park, J.P. *et al.* (1999). "Production of inulo-oligosaccharides from inulin by a novel endoinulinase from *Xanthomonas* sp." *Biotechnology Letter* 21. Hal. 1034-1046.