

TEKNOLOGI ENZIM: PEMANFAATAN TEKNOLOGI ENZIM DALAM UPAYA
UNTUK MEINGKATKAN NILAI GUNA KARBOHIDRAT KHUSUSNYA BAHAN
BERPATI

Koordinator: Endang Sukara

Pelaksana : E.Jusuf, T.K Prana, R. Melliawati. D.R. Permana,
dan T.Anindyawati.

RINGKASAN

Untuk meningkatkan nilai tambah bahan berpati, penelitian difokuskan kepada produksi enzim. Untuk itu biak-biak bakteri, khamir dan kapang unggulan penghasil enzim amilase dikarakterisasi dan dioptimasi produktivitasnya.

Studi mikroskopis dan biokimia terhadap isolat bakteri dengan nomor sandi R1-A memberikan petunjuk, bahwa biak ini mempunyai kemiripan sifat-sifat dengan *Bacillus stearothermophilus*. Sementara itu isolat khamir dengan nomor sandi TJ-1 mempunyai karakter seperti *Saccharomycopsis* dan isolat kapang dengan nomor sandi KT-11 diketahui sebagai *Aspergillus* sp.

Bacillus stearothermophilus biak R1-A dipilih sebagai unggulan karena mampu tumbuh dan menghasilkan enzim pada suhu tinggi. Sementara itu *Saccharomycopsis* (?) memperlihatkan daya hidrolitik tertinggi di antara khamir-khamir hasil seleksi pada suhu 44°C dan kapang *Aspergillus* merupakan kapang amilolitik terbaik di antara kapang amilolitik yang berhasil diisolasi dan diseleksi pada tahun lalu.

Medium yang dideskripsikan oleh Gogoi dkk. (1987) terpilih sebagai medium terbaik untuk *Saccharomycopsis* (?) dalam memproduksi enzim. Sedang medium yang terbaik bagi kapang untuk tujuan yang sama adalah medium sederhana yang hanya terdiri atas dedak, sekam dan pati ubi kayu.

Bakteri dalam aplikasinya juga mampu diimobilisasi pada Ca-alginat dan diketahui sama efektifnya dalam menghidrolisis pati dengan sel dalam keadaan bebas bila larutan pati mengandung cukup yeast extract dan pepton. Penggunaan buffer fosfat dan sitrat harus dihindarkan untuk

mencegah hancurnya gel dan sebagai pengganti digunakan buffer Tris-HCl.

Sementara itu dibuktikan pula bahwa enzim amiloglukosidase dapat diimobilisasi pada batuan tufa sekalipun aktivitasnya mengalami penurunan setelah 4 kali pemakaian. Jumlah enzim yang terikat tertinggi adalah 5060 unit atau sekitar 86,58%. Penelitian selanjutnya menunjukkan, bahwa Celite mengikat enzim lebih baik yaitu 5834 unit atau sekitar 99,49%, tetapi juga menurun menjadi 1179 atau 20,77% setelah 4 kali pemakaian. Pengikatan enzim menjadi lebih baik bila ditambahkan larutan glutaraldehyde 0.1 ml per gram batuan.

PENDAHULUAN

Usaha untuk mengoptimasi pemanfaatan pati sekaligus meningkatkan nilai tambahnya dapat dicapai dengan menerapkan teknologi enzim. Enzim sendiri dapat diproduksi secara besar-besaran melalui proses fermentasi dengan menggunakan jasad renik. Saat ini enzim terutama enzim amilase digunakan secara luas tidak saja dalam proses pengolahan pati menjadi gula cair, maltosa, dekstrin dan derivat-derivatnya tetapi juga dalam berbagai industri seperti alkohol, makanan, minuman, tekstil, detergent, farmasi, pabrik kertas dan asam organik. Karena sifat enzim yang unik (biokatalisator, spesifik, diperlukan dalam jumlah yang sangat sedikit karena efektifitas tinggi, bekerja pada kondisi biasa dan tidak toksik), penggunaannya dalam berbagai industri akan semakin berkembang. Dari data yang dikeluarkan oleh Biro Pusat Statistik tahun 1986, penggunaan enzim di

Indonesia dari tahun ke tahun meningkat dengan tajam.

Untuk itu pula Kelompok Teknologi Enzim - Puslitbang Bioteknologi-LIPI melakukan kegiatan penelitian meliputi isolasi dan karakterisasi biak mikroba penghasil enzim dan melakukan upaya pemanfaatan biak-biak terpilih untuk menghasilkan enzim serta memanfaatkan langsung mikroba terpilih tersebut untuk merombak pati menjadi gula monomer yang nilai gunanya lebih baik (tidak saja sebagai pemanis tapi juga sebagai bahan baku berbagai industri kimia). Pada laporan terdahulu telah disampaikan bahwa beberapa isolat mikroba amilolitik berhasil diseleksi. Uji coba produksi enzim dari dua isolat terseleksi yaitu *Aspergillus* sp KT-11 dan *Penicillium* sp 527-3K telah dilakukan dimana keduanya menunjukkan aktivitas amilase yang tinggi. Isolat *Aspergillus* sp. KT-11 bahkan telah dioptimasi dengan mencari pH dan suhu optimum pada substrat padat (campuran sekam, dedak dan pati). Suhu 40°C dan pH 4.3 dengan masa inkubasi 4 hari memberikan hasil terbaik. Dalam laporan ini dikemukakan hasil-hasil tambahan yang diperoleh selama tahun anggaran 1990/1991 yang meliputi usaha optimasi biak unggul dengan cara merekayasa medium pertumbuhannya, mengimmobilisasi sel atau enzimnya untuk meningkatkan efektivitas kerja dalam menghidrolisis pati.

BAHAN DAN CARA KERJA

Reevaluasi biak unggul

Biak-biak bakteri hasil seleksi penelitian terdahulu direvaluasi untuk menetapkan biak yang akan dieksplorasi lebih lanjut. Untuk itu sebanyak 12 isolat bakteri thermofil dan 10 bakteri mesofil hasil seleksi sebelumnya diuji kembali dengan menumbuhkan semua isolat tersebut pada medium cair yang dideskripsi menurut Yoo dkk. (1988) selama 24 jam. Aktivitas enzimnya diuji pada pH 7.2 dengan suhu reaksi 60°C. Aktivitas likuifikasi enzim yang dihasilkan dihitung menurut metoda kolorimeter Smith and Roe (1949) dan aktivitas sakarifikasi diukur dengan menghitung jumlah gula pereduksi yang dibebaskan dengan metoda Nelson (1944). Reevaluasi juga dilakukan terhadap kamir dengan menumbuhkan 11 isolat pada medium padat yang terdiri dari 1% pati dan ekstrak kentang yang dipadatkan dengan 2% agar dan diinkubasi pada variasi suhu dan pH. Dalam pengujian ini khamir *Lypomyces kononenkoe* 5608 yang diperoleh dari central Bureau voor Schimmel Culture, Holland dipergunakan sebagai biak pembanding.

Karakterisasi dan identifikasi biak-biak unggul

Biak bakteri terpilih unggul diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan melakukan beberapa uji yang meliputi kemampuan tumbuh dalam variasi suhu, dan ketahanan pada salinitas. Disamping itu juga dilakukan observasi mikroskopis terhadap bentuk sel, bentuk dan posisi spora, pewarnaan GRAM dan motilitasnya. Test biokimia yang meliputi reaksi katalase daya pemecah pati, kemampuan memfermentasi glukosa, kemampuan memproduksi indol, kemampuan mereduksi nitrat dan menggunakan sitrat juga dilakukan. Untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan sifat-sifat yang diperoleh kunci determinasi yang dideskripsikan oleh Laskin & Lechevalier (1974) serta Wolf & Baker (1968), dipakai.

Produksi enzim

Biak bakteri thermofilik yang terpilih unggul ditumbuhkan dalam 5 macam medium masing masing medium Mendosa & Joson (1987), medium Yoo dkk (1988) dengan variasi pati yang dipakai, medium Crueger & Crueger (1984) dan medium yang dideskripsi Alam dkk (1989), masing-masing dengan pH 7.2 diinkubasi pada suhu 60°C dalam bejana dengan aerasi memakai pompa udara. Sedang biak kapang terpilih yaitu *Aspergillus niger* KT 11 ditumbuhkan dalam 5 macam media padat yang

terdiri dari 4 macam media yang dideskripsikan oleh Mitchell dkk. (1988) yang divariasikan komposisinya dan 1 macam medium yang dideskripsikan oleh Fujio (komunikasi pribadi 1989) diinkubasi pada suhu 40° selama 4 hari. Untuk biakan padat enzim diekstraksi dengan penambahan aquadest diikuti dengan penyaringan dan dialisis.

Khusus untuk mendeterminasi aktivitas glukamilase dari khamir, digunakan metoda yang dikembangkan oleh Sill dkk (1984) yang telah dimodifikasi.

Imobilisasi sel

Untuk mengoptimasi produksi enzim dan penggunaan biokatalis, imobilisasi sel bakteri dan khamir penghasil enzim dilakukan dengan menggunakan alginat. Isolat bakteri *B. stearothermophilus* dan isolat khamir dengan nomor sandi TJ-1 (*Saccharomycopsis* ?) ditumbuhkan pada agar miring dan diinkubasi menurut suhu yang diperlukan untuk pertumbuhannya selama 48 jam untuk bakteri dan 72 jam untuk khamir. Sel yang tumbuh memenuhi permukaan agar dipanen dengan cara disuspensikan dengan 3 ml 0.85% NaCl per tabung. Jumlah populasi sel diukur dengan spektrofotometer. Sebanyak 0.1 ml

suspensi bakteri disebarkan dalam 5 ml larutan Na alginat dalam variasi kepekatan 0.5, 1, 2.25, 3.5 dan 4%. Gelasi dilakukan dengan menggunakan larutan CaCl_2 dalam 5 variasi molaritas 0,05, 0,1, 0,225, 0,35 dan 0,4 M. Kombinasi antara kadar Na-alginat dan CaCl_2 dilakukan sedemikian rupa mengikuti methoda yang dikembangkan oleh Mc Daniel dkk. (1976). Kualitas butiran berbagai campuran variasi kepekatan Na alginat dan CaCl_2 diamati secara visual. Kemampuan hidrolisis pati dari sel terimobilisasi dilakukan dengan mereaksikan sel imobil tersebut dengan larutan pati dalam bufer dengan atau tanpa yeast extract dan pepton. Perhitungan aktivitas amilolitik sama seperti yang telah diuraikan sebelumnya. Sementara itu sel khamir diimobilisasi sebagai berikut: Sebanyak 2 ml suspensi sel dicampurkan dengan 18 ml larutan Na alginat 2,25%. Sebanyak 1 ml dari campuran ini diteteskan ke dalam 10 ml larutan 0.2 M CaCl_2 sehingga terbentuk butiran. Kemampuan hidrolitik, baik dari sel bebas maupun sel yang terimobilisasi dilakukan dengan 5 macam medium yaitu medium Bergman dkk. (1988), Gogoi dkk. (1987), Melliawati dan Sukara (1989), Laluce dkk. (1987) dan Sill dkk. (1984). Semua medium berisi 1 % pati dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C . dengan pengocokan pada

kecepatan 250 rpm. Pengukuran aktivitas sel khamir baik yang bersifat bebas maupun yang bersifat imobil dilakukan sama seperti cara-cara yang telah diuraikan di atas.

Imobilisasi enzim

Untuk mengoptimasi penghematan pemakaian enzim dalam skala industri, enzim amiloglukosidase dari kapang *A. niger* (Dyazyme Novo) yang diperoleh dari pabrik gula cair (HFS) PT. Puncak Gunung Mas, Jakarta, dicoba diimobilisasi. Proses imobilisasi dilakukan pada batuan tufa dan zeolit lokal asal Sukabumi yang diperoleh dari Puslitbang Geoteknologi-LIPI. Metoda yang dilakukan untuk imobilisasi enzim adalah sebagaimana yang dikerjakan oleh Solomon & Levins (1974): Sebanyak 0,1 gram gelatin disuspensikan dalam 5 ml 0,2 M buffer asetat pH 4,8, dipanaskan hingga larut kemudian didinginkan dan ditambah 5 ml larutan enzim amiloglukosidase (yang telah diencerkan 100 kali). Kedalam larutan ini dimasukkan 1 gram tufa dan kemudian ditambahkan 0,5 ml glutaraldehyd 25%. Setelah penyimpanan semalam dalam suhu dingin dicuci dengan 0,02 M buffer asetat dan enzim imobil diuji aktivitasnya. Pengujian aktivitas enzim dilakukan dengan cara seperti diuraikan di atas. Pengaruh pemberian glutaraldehyd dipelajari dengan perlakuan mulai dari 0,1,

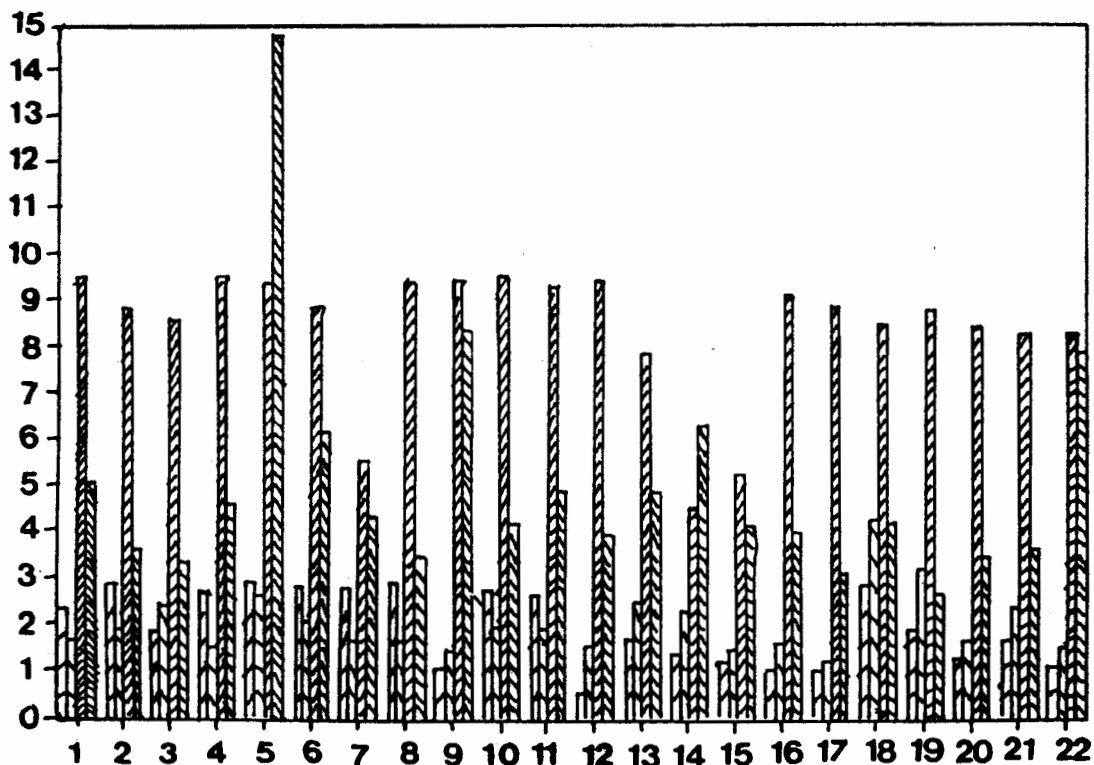
0,2, 0,3, 0,4 dan 0,5 ml glutaraldehyd per gram batuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reevaluasi biak terpilih





Dalam laporan terdahulu telah disampaikan bahwa 2 isolat bakteri thermofilik masing-masing dengan nomor sandi R2-A dan R2-26 terpilih sebagai biak terbaik. Namun dari hasil reevaluasi dengan mengikut sertakan biak-biak terpilih yang baru, diketahui, bahwa satu isolat dengan nomor sandi R1-A menunjukkan daya amilase tertinggi dibandingkan dengan bakteri lain yang diujikan (GAMBAR 1). Isolat R1-A ini ternyata juga mampu tumbuh pada suhu dan pH ekstrim (70°C dan pH 9.8) serta pada medium yang mengandung 7% NaCl. Dengan dasar ini isolat dengan nomor sandi R1-A dipilih sebagai biak unggul penghasil enzim amilase.

Sementara itu pengujian aktivitas 11 isolat khamir yang mampu merombak pati menunjukkan bahwa isolat khamir dengan nomor sandi TJ - 1, merupakan isolat yang mampu tumbuh dan menghidrolisis pati paling baik pada suhu 44° dengan pH awal 6,9 dengan zona jernih tertinggi yaitu $10,5 \text{ cm}^2$ (TABEL 1) atau jauh lebih baik dari pada biak pembandingnya *Lypomyces kononenkoe* 5608 dengan zona jernih tertinggi hanya $0,83 \text{ cm}^2$ pada suhu 30°C dengan pH awal 6,9.



Gambar 1. Profil hidrolisis pati yang dilakukan oleh beberapa jenis bakteri amilolitik yang ditumbuhkan pada medium Yoo dkk.(1988) yang terdiri dari 0.1 % K^2HPO^4 , 0.05% Na.sitrat, 0.1% yeast extract, 0.05% $MgSO^4 \cdot 7H^2O$, 0.01% $FeSO^4 \cdot 7H^2O$, 0.05% $CaCl^2 \cdot 2H^2O$ dan 0.01% $MnSO^4$ dengan pH awal 7.0 selama 24 jam. Isolat no.1 sampai dengan no.12 diinkubasi pada suhu 50 C sedang yang lainnya pada suhu 30 C.

- | | | | |
|----------|----------|--------------|---------------|
| 1. R1-3 | 7. R2-16 | 13. OG-6W | 19. EMS1-49 |
| 2. R1-12 | 8. R2-22 | 14. EMS1-3 | 20. EMS1-49A |
| 3. R1-16 | 9. R2-26 | 15. EMS1-3A | 21. EMS2-239 |
| 4. R1-22 | 10. R2-A | 16. EMS1-33 | 22. EMS2-239A |
| 5. R1-A | 11. R2-B | 17. EMS1-47 | |
| 6. R1-B | 12. K1-Y | 18. EMS1-47A | |

- | | |
|--|---|
|  luas daerah bening (cm) pada medium agar |  nisbah luas daerah bening per luas koloni |
|  jumlah pati terhidrolisis (mg/ml) |  aktivitas sakarifikasi x 100 unit |

TABEL 1. Pengaruh suhu dan pH terhadap aktivitas Amilolitik Berbagai Jenis Khamir

Kode Khamir	Zona Amilolitik (cm ²)							
	Suhu 30 ^o C				Suhu 44 ^o C			
	pH 3,4		pH 6,9		pH 3,4		pH 6,9	
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
R-NHL-2	0,66	2,11	0,88	2,30	0,00	1,10	0,33	0,77
TJ-1	0,00	0,22	0,83	2,66	0,22	1,83	0,66	10,50
TB-1	0,55	1,55	0,88	3,88	0,00	0,00	0,55	0,77
KT-10	0,22	1,22	1,83	4,77	0,00	0,00	0,83	0,88
RR-1	0,00	1,66	0,28	3,38	0,11	0,44	0,00	0,34
TM-4	1,00	2,11	0,22	3,61	0,55	0,61	0,33	0,44
R-NKL-1	0,00	2,00	0,00	2,05	0,00	0,27	0,00	0,44
RJ-1	1,33	3,22	0,00	2,22	0,28	1,39	0,00	0,50
RJ-2	0,00	0,66	0,00	0,88	0,00	0,66	0,33	0,33
R-NHL-1	0,72	1,33	0,77	1,66	0,00	0,00	0,33	1,65
TD-8	0,00	0,00	0,66	1,66	0,00	0,00	0,27	0,38
L.kononenkoae	0,22	0,39	0,28	0,83	0,11	0,33	0,22	0,38

Karakterisasi dan identifikasi biak unggul

Hasil pengujian sifat morfologi dan biokimia dari isolat bakteri dengan nomor sandi R1-A menunjukkan bentuk batang panjang, berspora berbentuk oval dengan dinding tebal dan terletak subterminal dari sel. Menunjukkan positif pada pewarnaan GRAM menunjukkan , sifat motilitas, reaksi katalase, hidrolisis pati, produktivitas indol dan pertumbuhan pada medium yang mengandung 7% NaCl. Sementara pengujian fermentasi glukosa dengan terbentuknya asam dan reduksi nitrat menjadi nitrit menunjukkan negatif. Sifat lain adalah toleransinya tumbuh pada suhu 70°C dan pH sampai 9,8. Dengan menggunakan kunci determinasi yang dideskripsikan oleh Wolf & Baker (1968) dan Laskin & Lechevalier (1974) diperoleh indikasi adanya kemiripan sifat yang diuraikan di atas dengan sifat dari *Bacillus stearothermophilus*. Sementara itu, hasil pengamatan secara mikroskopis terhadap isolat khamir dan kapang juga telah memberi petunjuk bahwa khamir mirip dengan *Scharomycopsis* sedang kapang adalah *Aspergillus niger*. Karakterisasi terutama untuk khamir masih sedang dilanjutkan.

Uji produksi enzim

Hasil percobaan dengan menggunakan berbagai jenis media menunjukkan bahwa produksi enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri biak R1-A tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Unit sakarifikasi yang diperoleh dari masing-masing setelah 30 jam penumbuhan adalah 872,72 pada medium Crueger & Crueger, 831,613 pada medium Yoo dkk. dengan pati tapioka sebagai substrat atau 1366,213 bila menggunakan "soluble starch". Pada medium Mendoza & Joson jumlah enzim yang diproduksi adalah 1069,236 unit sedangkan pada medium Alam dkk. diperoleh 1247,74 unit. Medium yang dideskripsikan Alam dkk. merupakan medium mineral minimum yang lebih sederhana komposisinya dan oleh karenanya direkomendasikan sebagai medium untuk produksi enzim.

Dari kapang terpilih yaitu *Aspergillus* sp. biak nomor KT-11 diperoleh hasil seperti terlihat pada TABEL 2. Aktivitas alfa amilase maupun glucoamilase tertinggi dicapai oleh media III. Media I dan V tidak menunjukkan adanya aktivitas alpha amilase, sedangkan media II aktivitas amilasena sangat rendah dibandingkan media III dan IV.

TABEL 2 : Produksi enzim alpha dan glukoamilase oleh kapang *Aspegillus sp.* biak KT-11 pada proses fermentasi substrat padat.

Macam media	Glukoammilase		Alpha amilase
	Aktivitas (unit)	Aktivitas spesifik (unit/mg protein)	(unit)
I	3443	519	-
II	5416	928	3
III	5620	1218	240
IV	5300	1176	300
V	5300	882	-

Komposisi medium (dalam g/100 ml bufer sitrat pH 4,3): I (13.4 dedak, 100 sekam, 1 pati); II (100 sekam, 1 pati, 1 ammonium sulfat, 0.1 K₂HPO₄, 0.1 KH₂PO₄, 0.01 MgSO₄ 7H₂O, 0.01 ZnSO₄ 7H₂O, 0.5 pepton, 0.5 yeast extract); III (100 sekam, 1 pati, 1 ammonium sulfat, 0,1 K₂HPO₄, 0.1 KH₂PO₄); IV (100 sekam, 1 pati, 1 ammonium sulfat, 0.1 K₂HPO₄, 0.1 KH₂PO₄, 0.01 MgSO₄ 7H₂O, 0.01 ZnSO₄ 7H₂O); V (100 sekam, 1 pati , 1 ammonium sulfat, 0.1 g K₂HPO₄, 0.1 KH₂PO₄, 0.5 g yeast extract, 0.5 pepton).

Imobilisasi Sel

Hasil pengamatan memberikan petunjuk, bahwa Ca alginat cukup efektif menjerat sel. Semakin tinggi konsentrasi aalginat yang digunakan, gel yaang terbentuk semakin kompak. Butiran alginat yang terbaik diperoleh dari

campuran 4% Na alginat dengan 0.225 M CaCl₂.

Jenis buffer yang digunakan, suhu dan kehadiran "yeast extract" serta pepton amat berpengaruh terhadap aktivitas sel terimobilisasi dalam proses hidrolisis pati. Aktivasi sel immobil dalam larutan yang mengandung 0.4 g/L pepton dan 0.1 g/l yeast extract selama 2 jam sebelum hidrolisis memberikan hasil terbaik. Tetapi bila aktivasi terlalu lama, gel akan mengalami degradasi karena adanya peningkatan jumlah sel bakteri dalam gel.

Pada pH 5 dengan inkubasi 24 jam gel hanya mampu menghidrolisis pati 2,01 mg dari 60 mg pati/ml. Sedang pada pH 9 mampu menghidrolisis pati sebanyak 45,64 mg. Tetapi setelah 48 jam inkubasi diperoleh hasil bahwa semua pati dapat dihidrolisis baik pada pH 5, 7 maupun 9. Analisis gula yang terkandung dari pati yang terhidrolisis setelah 48 jam diperoleh hasil bahwa akumulasi gula tertinggi terdapat pada media pati dengan pH 5. Dari analisis statistik ternyata pH 4 mempengaruhi proses sakarifikasi.

Suhu terbaik dalam hidrolisis pati oleh sel bakteri immobil adalah 50°C. Hasil perhitungan statistik memperlihatkan bahwa hidrolisis pati pada 24 jam dengan kisaran suhu 50 dan 60°C sangat nyata mempengaruhi hidrolisis

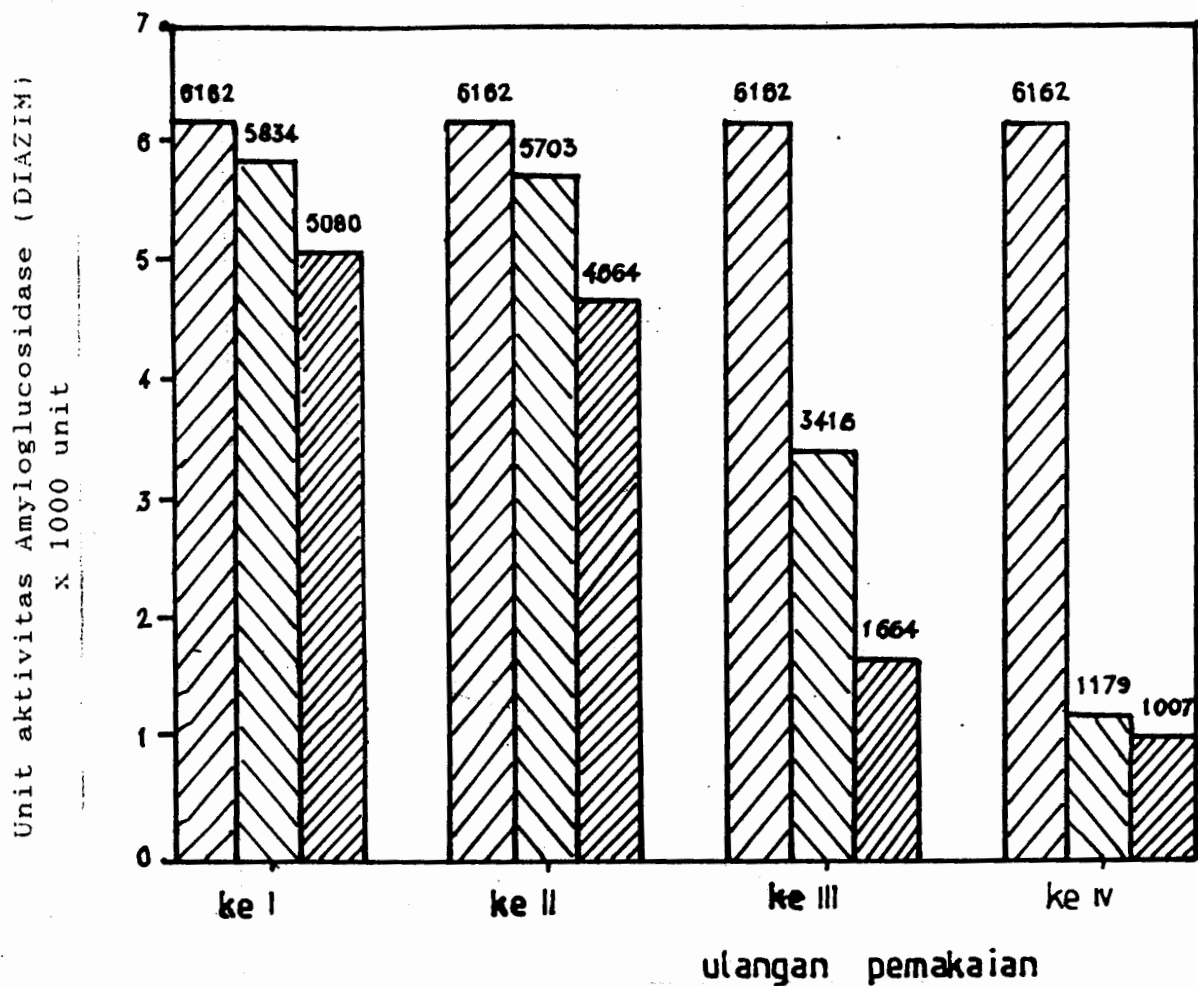
pati dengan nilai F hitung sebesar 92.96 (P 0.05; 5.14). Namun pengaruh suhu menjadi tidak nyata pada waktu 48 jam reaksi. Akumulasi gula juga terbanyak terjadi pada suhu 50°C dengan rata rata 0.88 mg.

Dalam proses konversi pati menjadi gula sel khamir yang diimmobilisasi pada Ca.alginat menunjukkan hasil lebih tinggi pada semua medium yang dicobakan kecuali pada medium yang dideskripsikan oleh Bergmmman dkk (1988). Sementara dalam medium ini nilai konversi pati mencapai 58,03% (6383 ug/ml) oleh sel bebasnya dan 35,76% (3934 ug/ml) oleh sel immobil. Medium yang dideskripsikan oleh Gogoi dkk.(1987) yang tersiri dari: 10 g pati, 0.5 g KH_2PO_4 , 0.1 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ per liternya tampaknya lebih baik bila sel bebas digunakan untuk memproduksi amiloglukosidase, sedangkan pada medium Bergmann dkk. produksi amiloglukosidase oleh sel immobil sedikit lebih rendah dari pada sel bebasnya . Pengamatan lebih lanjut menunjukkan bahwa medium Gogoi dkk. merupakan medium terbaik untuk memproduksi enzim alfa-amilase oleh sel bebas dengan produksi tertinggi yaitu 463 unit. Sementara itu bila sel immobil yang digunakan, maka hasilnya sedikit lebih rendah yaitu 320 unit. Konversi pati menjadi gula tampaknya dapat menyebabkan perubahan derajat keasaman yang cenderung menurun pada medium baik oleh sel bebasnya

maupun oleh sel immobil, kecuali pada medium yang dideskripsikan oleh Gogoi dkk. Sedang pada medium yang dideskripsikan oleh Laluece dkk. sedikit kenaikan pH oleh sel bebas terjadi pada waktu konversi pati.

Imobilisasi Enzim

Pengamatan menunjukk, bahwa enzim dapat diimmobilisasi dalam batuan tufa maupun celite. Stabilitas enzim amobil dapat dilihat pada GAMBAR 2. Tampak bahwa aktivitas enzim yang terikat pada batuan tufa lokal setelah 4 kali pemakaian mengalami penurunan dari 86,58% hingga 17,74% atau sama dengan penurunan aktivitas enzim dari 5060 mmenjadi 1007 unit. Hal serupa juga dialami oleh enzim yang terikat pada Celit 535. Aktivasnya juga mengalami penurunan dari 99,49% menjadi 20,77% atau sama dengan penurunan aktivitas enzim dari 5834 menjadi 1179 unit. Penambahan glutaraldehid terhadap enzim yang diimmobilisasi pada batuan tufa maupun celit ternyata menunjukkan pengaruh positif. Aktivitas tertinggi pada emzim immobil diperoleh pada penambahan konsentrasi glutaraldehid 0.1 ml/ gram batuan dengan jumlah glukosa yang dihasilkan mencapai 54359 Ug/ml.



Gambar 2. Studi komparatif stabilitas enzim imobil pada Celite dan batuan tufa asal Sukabumi terhadap enzim bebasnya.

▨ bebas

▤ terimobilisasi
pada celite

▩ terimobilisasi
pada tufa

KESIMPULAN

Dari hasil-hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan, bahwa isolat bakteri dengan nomor biak R1-A, khamir dengan nomor biak TJ-1, dan kapang dengan nomor biak KT-11 merupakan biak penghasil enzim amilase yang paling potensial di antara semua biak bakteri yang ada pada koleksi Puslitbang Bioteknologi-LIPI. Produktivitasnya dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk suhu, pH, dan media. Sampai taraf laboratorium beberapa faktor di atas sudah berhasil dioptimasi. Meskipun demikian studi lebih lanjut dalam upaya untuk memperoleh keterangan untuk mendayagunakan sumber daya jasad renik terpilih ini dalam praktek masih perlu dilanjutkan termasuk karakterisasi dari biak-biak tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- ALAM, S.; J. HONG and W.A. WEIGAND 1989 Effect of yeast Extract on alpha-Amylase Synthesis by *Bacillus amyloliquefaciens*.. Biotechnol. Bioeng. 33 : 780 - 785.
- BIRO PUSAT STATISTIK 1986
- CRUEGER, W. and A. CRUEGER 1984 Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology (English edition) Science Technology, Inc, Madison.
- BERMANN, F.W.; J-I. ABE and S. HIZURUKI 1988 Selection of Microorganisms which Produce Raw-starch Degrading Enzymes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27: 443-446

- GOGOI, B.K.; B.L. BEZBARUAH, K.R. PILLAI and J.N. BARUAH 1987
Production, Purification and Characterization of an
Amylase Produced by *Saccharomycopsis fibuligera* .
J. Appl. Bacteriol. 63: 373 - 379.
- LALUCE, C.; M.C. BERTOLINI, J.R. FERNANDEZ, A.V. MARTINI and
A. MARTINI 1988 Amylolytic yeast strains for starch
and dextrin fermentation. Appl. Environ.
Microbiol. 54(10):2447-2451.
- LIPI Laporan Teknik. Bioteknologi untuk Meningkatkan Nilai
Tambah Plasma Nutfah & Menunjang Pengembangan Agro-
Industri. 1989 - 1990.
- MELLIAWATI, R. dan E.SUKARA 1989 Isolasi, Karakterisasi
Isolat-isolat Mikroba yang Mempunyai Potensi Amilolitik.
Disampaikan dalam: Kongres Nasional V Perhimpunan
Mikrobiologi Indonesia , Yogyakarta.
- MENDOZA, N.S. and L.M. JOSON 1987 Production of
Thermostable Alpha-Amylase by a Local Strain of *Bacillus*
subtilis in Microbial Utilization of Renewable
Resources. Vol 6, I.C. Biotech. Fac. Engineering, Osaka
University p.84 - 91.
- MITCHELL, D. A, H.W DOELLE and P.F. GREENFIELD. 1988 Agar
Plate growth studies of *Rhizopus oligosporus* and
Aspergillus oryzae to determine their suitability for
solid-state fermentation. Applied Microbiology
Biotechnology 28 : 598-602.
- NELSON H. 1941 A Photometric Adaption of the Somogyi
Method for the Determination of Glucose. J. Biol. Chem
153: 375 - 380.
- SILL, A.M.; M.E. SAUDER and G.G. STEWART 1984 Isolation and
Characterization of the Amylolytic System of
Schwanniomyces castellii J. Inst. Brew. 90: 311 - 314.
- SMITH, B.W. ad J.H. ROE 1949 A Photometric Method for the
Determinaton of Amylase in Blood and Urine, with Use of
the Starch-iodine Colour. J. Biol. Chem. 179(1):- 155-
159.

YOO, J.Y.; T.N. CADMAN, J.Y. HOUNG and R.T. HATCH 1988
Kinetic of α -Amylase System from *Bacillus amyloliquefa-*
ciens. Biotechnol. Bioeng. 31 : 357 - 365.