

KEMAMPUAN KHAMIR DAN KAPANG
(*E.oryzae*) IRADIASI MELAKUKAN
PEMENTASI BEBERAPA SUBSTRAT
IRADIASI PADA BERBAGAI KONDISI

Sri Hariani Sjarif, Maria Lina
Rosilawati

KEMAMPUAN KHAMIR DAN KAPANG (*R. oryzae*) IRADIASI MELAKUKAN FER-MENTASI BEBERAPA SUBSTRAT IRADIASI PADA BERBAGAI KONDISI

Sri Hariani Sjarief *) , Maria Lina Roselawati **)

ABSTRAK

KEMAMPUAN KHAMIR DAN KAPANG (*R. oryzae*) IRADIASI MELAKUKAN FER-MENTASI BEBERAPA SUBSTRAT IRADIASI PADA BERBAGAI KONDISI. Dalam rangka meningkatkan aktivitas enzim dan produk fermentasi, maka dilakukan percobaan fermentasi dengan menggunakan tepung sagu (*Metroxylon sago*) dan onggok yang diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 25 kGy. Untuk onggok, iradiasi dilakukan dalam keadaan basah dan kering. Khamir hasil isolasi dan kapang (*R. oryzae*) diiradiasi dalam bentuk suspensi dengan dosis 0,4 dan 4 kGy. Pengukuran dilakukan terhadap aktivitas enzim amilase, AMG, selulase, protease dan produk fermentasi seperti glukosa dan gula pereduksi. Hasil yang didapatkan memperlihatkan bahwa onggok cukup baik sebagai bahan penghasil glukosa dibandingkan dengan sagu. Peningkatan ini mencapai + 28% pada $p=0,05$. Sedang iradiasi onggok pada kondisi kering dan basah hanya berpengaruh terhadap aktivitas enzim selulase. Peningkatan enzim selulase yang dihasilkan dari onggok kering dan kapang iradiasi mencapai 19 kali (1989,02%) dari kontrol pada akhir percobaan, hari ke 14. Untuk enzim amilase yang dihasilkan oleh fermentasi kapang iradiasi dengan onggok iradiasi maupun tidak diiradiasi pada akhir percobaan mengalami peningkatan aktivitas sebesar 108,73 % dan 43,6 % dari kontrol hari ke tiga.

ABSTRACT

THE CAPABILITY OF IRRADIATED YEAST AND MOULD (*R. oryzae*) TO FERMENTATE SUBSTRATES IN SEVERAL CONDITIONS OF IRRADIATION. On the purpose of increasing the product of fermentation and enzymes produced by microorganisms, an experiment on fermentation used sago palm, *Metroxylon sago*, and tapioca waste (onggok) irradiated with gamma rays on the dose of 25 kGy was carried out. Onggok isolated yeast and mould (*R. oryzae*) were irradiated in suspension with doses of 0.4 and 4 kGy. The measurement of enzyme activities (amylase, AMG, cellulase and protease) and the fermentation products, such as glucose and reductased glucose, have been done. It is obtained that onggok is the best substrate to be used in getting the higher production of glucose in this process compare with sago. The production of glucose having an improvement to + 28 % on $p=0.05$, while onggok irradiated in dried and wet conditions gives influence on the activity of cellulase enzyme produced by mould. The cellulase enzyme activity produced by the

*) Pusat Pengkajian Energi Nuklir (PPEN)-BATAN

**) Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR)-BATAN

fermentation of irradiated onggok and mould increased 19 times (1989.02 %) of control at the end of process. However, the fermentation of irradiated mould with either irradiated onggok or with unirradiated onggok in the end of the process gave the increasing of amylase enzyme activity to 108.73 % and 43.6 % compare with control in the third-day's process.

PENDAHULUAN

Penerapan bioteknologi dapat membantu mencariakan cara-cara baru untuk mengatasi masalah menurunnya kualitas lingkungan hidup yang ditimbulkan oleh limbah pertanian, di samping sekaligus memanfaatkan limbah tersebut agar memberikan nilai tambah yang cukup berarti.

Enzim dan gula merupakan salah satu produk hasil fermentasi yang dihasilkan oleh aktivitas mikroorganisme amilolitik. Beberapa khamir, bakteri dan kapang menghasilkan enzim yang dapat menghidrolisa pati menjadi gula sederhana seperti Endomycopsis capsularis, Trichoderma viridis, A. niger, R. oryzae dan R. oligosporus. Perlakuan iradiasi terhadap mikroorganisme tersebut diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan maupun kemampuan aktivitas menghasilkan enzim yang diperlukan dalam proses fermentasi. Menurut PIADANG, dkk. (1), kapang amilolitik hasil seleksi iradiasi dengan sinar gamma dan UV pada dosis kematian 50-90% menghasilkan dua strain mutan yang mempunyai aktivitas menghasilkan glukoamilase lebih tinggi dari strain asalnya. Demikian pula iradiasi UV pada D. olivochromogenes ATCC 2114 akan meningkatkan aktivitas enzim tanpa adanya xylosa dalam mediumnya (2). Sedang dosis 50 kGy dari sinar Gamma, Cobalt-60, pada Trichoderma viridis, A. niger dan R. oryzae akan meningkatkan aktivitas amilase dari kapang tersebut (3).

Radiasi terhadap substrat yang digunakan dalam proses fermentasi juga akan berpengaruh pada pembuatan enzim oleh mikroba maupun pada hasil akhir dari proses ini (gula). Beberapa peneliti, seperti KUME dkk., SVENDSBY, dkk., dan UEDA, dkk. (4, 5, 6, dan 7), dan ditunjang pula oleh hasil yang didapatkan pada penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa dengan iradiasi berbagai tepung (kentang, tapioka dan jagung) pada dosis yang berkisar antara 20 sampai dengan 60 kGy pada berbagai kondisi pH dan suhu dapat pula meningkatkan hasil akhir fermentasi maupun aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang berperan dalam proses tersebut.

Dalam penelitian ini digunakan mikroba dan substrat yang keduanya diiradiasi, dengan kondisi fermentasi optimal diharapkan akan diperoleh peningkatan enzim dan produk fermentasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari mikroba kapang dan khamir, larutan fermentasi, serta substrat sagu dan onggok yang merupakan sisa proses industri tapioka.

Mikroorganisme yang digunakan terdiri dari kapang R. oryzae dan khamir RCrgY1 yang diisolasi dari ragi tape. Kedua strain mikroba diiradiasi dengan sinar gamma Co-60 dalam bentuk suspensi. Dosis yang diberikan untuk R. oryzae sebesar 4 kGy, sedang untuk khamir sebesar 0,4 kGy. Laju dosis yang digunakan untuk masing-masing mikroba adalah 8 dan 1 kGy/jam.

Substrat. Tepung onggok dan sagu (Metroxylon sago) digunakan sebagai sumber karbohidrat untuk fermentasi. Kedua tepung ini diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis terpilih, 25 kGy. Sebagai pembanding digunakan tepung yang tidak diiradiasi. Khusus untuk percobaan fermentasi dengan kapang, onggok diiradiasi dalam keadaan kering dan basah.

Larutan fermentasi. Untuk fermentasi yang menggunakan khamir dipakai larutan yang mempunyai komposisi sebagai berikut : 5 % (b/v) tepung onggok tapioka/sagu; 0,2 % (b/v) KH₂PO₄; 0,25 % (b/v) Na₂HPO₄; 0,02 % (b/v) MgSO₄. 7H₂O dan air suling. pH substrat 5,5. Substrat dikentalkan dalam penangas air dan selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Pelaksanaan selanjutnya sesuai dengan apa yang telah dilakukan terdahulu (8). Sedang untuk fermentasi dengan menggunakan kapang, dipakai larutan SDB (Sabouraud Dextrose Agar) sebanyak 20 ml yang dituangkan ke dalam botol yang telah berisi 1 g tepung onggok. Campuran ini kemudian dipanaskan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atmosfer. Sebagai pembanding (kontrol) digunakan kapang dan onggok yang tidak diiradiasi dan kemudian mendapat perlakuan pemanasan seperti di atas.

Proses fermentasi. Biakan khamir iradiasi dan kontrol masing-masing sebanyak 5 % (v/v) diinokulasikan ke dalam substrat fermentasi, lalu digoyang dalam "rotary shaking incubator" dengan kecepatan 100 putaran/menit pada suhu 30 °C. Penentuan hasil fermentasi dinyatakan dengan kadar glukosa, gula pereduksi dan

aktivitas enzim amiloglukosidase (AMG) yang diukur pada hari ke 4, 6, dan 8. Untuk fermentasi yang menggunakan kapang, ke dalam campuran onggok (iradiasi, tanpa iradiasi) dan larutan SDB diinokulasikan sebanyak 1 ml suspensi spora (iradiasi, tanpa iradiasi) yang mengandung 10⁸-10⁹ spora/ml. Campuran ini ditempatkan di atas alat penggoyang yang berada di suhu ruang. Pengamatan dilakukan terhadap aktivitas enzim amilase, selulase, AMG dan protease pada hari ke 3, 7 dan 14, di samping pula mengamati pertumbuhan kapang dengan menentukan kadar protein larutan fermentasi.

pengukuran. Kadar glukosa ditentukan dengan menggunakan reaksi GOD POLK. Gula pereduksi ditentukan dengan metode NELSON-SOMOGYI, sedang untuk aktivitas enzim diukur dengan metode yang dilakukan pada penelitian terdahulu (9), yaitu SOMOGYI (AMG), BERNFELD (amilase), dan MANDEL (selulase), sedang untuk protease digunakan metode casein, Tris-HCl dan Tyrosin. Pertumbuhan kapang ditentukan dengan berat kering ampas fermentasi.

Rancangan Percobaan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dalam percobaan faktorial dengan ulangan sebanyak 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi dengan menggunakan khamir

Hasil percobaan berdasarkan analisis statistik, waktu fermentasi berpengaruh terhadap pembentukan glukosa, gula pere-

duksi dan aktivitas enzim AMG. Sedang jenis substrat hanya berpengaruh pada pembentukan glukosa (Tabel 1). Radiasi terhadap khamir tidak memperlihatkan pengaruh yang nyata pada peningkatan ataupun pada penurunan glukosa, gula pereduksi maupun aktivitas enzim AMG. Demikian pula penggunaan khamir iradiasi pada umumnya memberikan kecenderungan menurunkan ketiga parameter tersebut di atas (Tabel 2).

Pada pengukuran kadar glukosa dalam proses fermentasi ini jenis substrat dan lamanya proses akan mempengaruhi kadar glukosa yang terbentuk. Hasil glukosa dari substrat onggok baik yang diiradiasi maupun yang tidak, ternyata memperlihatkan peningkatan dibandingkan dengan yang dihasilkan dari sagu iradiasi maupun tanpa iradiasi ($p<0,05$). Hasil rata-rata kadar glukosa dari

Tabel 1. Sidik ragam kadar glukosa ($\% = b/v$), gula pereduksi ($\% = b/v$), dan aktivitas enzim AMG (unit/ml/menit) dari fermentasi khamir RCrgYI dalam substrat onggok dan sagu yang diiradiasi.

Sumber variasi	F-hitung			F-tabel	
	glukosa	gula pereduksi	enzim AMG	5%	1%
Khamir (Kh)	0,39 **	0,25	0,15	4,05	7,21
Substrat (S)	26,29 **	2,67 **	0,06 *	2,81	4,24
Waktu fermentasi (W)	23,28	37,33	3,51	3,20	5,10
Interaksi					
Kh x S	1,68	1,41	0,15	2,81	4,24
Kh x W	0,52	0,01	0,26	3,20	5,10
S x T	8,54 **	8,82 **	0,88	2,30	3,22
Kh x S x W	1,15	0,61	0,24	2,30	3,22
Keterangan :					

** = berbeda nyata pada $p<0,01$

* = berbeda nyata pada $p<0,05$

tepung onggok iradiasi dan yang tidak diiradiasi adalah 1,78 %, sedang untuk sagu iradiasi dan yang tidak diiradiasi 1,39 %. Berdasarkan BNJ(0,05) peningkatan ini nyata sebesar + 28% (Tabel 2). Bila ditinjau dari substrat yang diiradiasi ataupun tanpa iradiasi, ternyata perlakuan dengan menggunakan khamir iradiasi pada fermentasi onggok, umumnya akan menurunkan kadar glukosa dalam larutan. Kecuali bagi perlakuan yang menggunakan kapang tanpa iradiasi yang terjadi pada hari ke 6 yang mengalami kenaikan sebesar 15,7 % dari kontrol ($p<0,05$). Sedang untuk sagu iradiasi dan khamir tanpa iradiasi peningkatan kadar glukosa terjadi pada hari ke 8 sebesar 27,6 % dari kontrol. Secara umum lamanya proses fermentasi untuk onggok yang diiradiasi maupun tidak akan menyebabkan penurunan kadar glukosa, sedang untuk sagu sebaliknya memberikan peningkatan. Bagi substrat onggok, kadar glukosa yang tertinggi terjadi pada hari ke 6 terutama untuk onggok yang diiradiasi, meskipun hasil ini tidak nyata berbeda dengan yang dihasilkan pada hari ke 4. Hasil tertinggi untuk sagu terjadi pada hari ke 8 (1,93%) dari onggok iradiasi dengan khamir tanpa iradiasi, di mana hasil ini mengalami peningkatan sebesar 94,52 % dari kontrol hari ke 4.

Kadar gula pereduksi dan aktivitas enzim AMG lebih banyak dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi. Jenis substrat dan khamir tidak berpengaruh pada pembentukan kadar gula pereduksi. Secara umum, kadar gula pereduksi dan aktivitas enzim AMG mengalami kenaikan dengan berjalannya waktu fermentasi. Pada akhir proses, kenaikan kadar gula pereduksi dan enzim AMG mencapai 33,03 % dan 33,52 % lebih tinggi daripada hari ke 4 ($p<0,05$). Hasil akhir dari kedua produk fermentasi ini tidak memperlihatkan

perbedaan antara perlakuan yang satu dengan yang lainnya.

Fermentasi dengan menggunakan kapang R. oryzae.

Pada Tabel 3 memperlihatkan bahwa keberadaan onggok dan kapang yang diiradiasi dengan lamanya waktu fermentasi akan mempengaruhi aktivitas enzim yang dihasilkan oleh proses ini. Umumnya, kapang iradiasi dan waktu fermentasi sangat berpengaruh terhadap kenaikan aktivitas enzim amilase, selulase dan protease. Semakin lama proses fermentasi, aktivitas ketiga enzim tersebut juga meningkat. Sebaliknya untuk enzim selulase mengalami penurunan dengan berjalanannya waktu fermentasi.

Kenaikan aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh kapang iradiasi pada akhir percobaan berkisar antara 20,4 %-51,5 % dari kontrol di hari yang sama atau 44,3 % - 180,2 % dari kontrol hari ke 3 (Tabel 4). Kondisi substrat (basah dan kering) pada saat iradiasi tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan, meskipun ada kecenderungan peningkatan di beberapa perlakuan dengan menggunakan onggok iradiasi. Aktivitas rata-rata enzim amilase yang dihasilkan oleh onggok kering iradiasi dan tanpa iradiasi (56,66 unit/ml F) cenderung 1,5 kali lebih tinggi daripada enzim yang dihasilkan oleh fermentasi dengan onggok yang diiradiasi dan tanpa iradiasi dalam keadaan basah (34,53 unit/ml F). Hal ini kemungkinan disebabkan di dalam onggok basah dan kering ada mikroba kontaminan yang bersifat depresif terhadap pembentukan enzim amilase oleh kapang. Perlakuan radiasi dapat menghilangkan/mengurangi pengaruh mikroba depresif tersebut, terutama pada onggok kering. Keadaan ini dapat dilihat dari produksi enzim amilase ini yang mengalami peningkatan pada fermentasi.

tasi yang menggunakan onggok kering iradiasi, meskipun perbedaan kondisi onggok ini secara statistik tidak nyata pengaruhnya. Aktivitas enzim amilase yang tertinggi didapatkan dari fermentasi onggok kering iradiasi dengan dosis 25 kGy dengan kapang iradiasi 4 kGy pada hari ke 14 fermentasi ($p<0,01$). Kenaikan ini mencapai 2 kali lebih besar daripada kontrol di hari ke 3 atau 1,35 kali dari kontrol pada akhir percobaan.

Aktivitas enzim selulase dalam proses fermentasi dipengaruhi oleh keberadaan kapang, onggok dan lamanya proses fermentasi (Tabel 3). Iradiasi kapang dan onggok pada umumnya menaikkan aktivitas enzim menjadi 44,98 % dengan berjalannya waktu fermentasi, terutama untuk fermentasi onggok kering yang diiradiasi (Tabel 4). Aktivitas enzim tertinggi didapatkan pada hari ke 14 fermentasi onggok kering dengan kapang yang keduanya diiradiasi yaitu sebesar 1,63 unit/ml F/menit ($p<0,01$). Sedang bagi perlakuan yang menggunakan onggok dan kapang tanpa iradiasi (kontrol) dihasilkan aktivitas enzim selulase sebesar 0,08 unit/ml F/menit, demikian pula untuk perlakuan yang menggunakan onggok iradiasi dan kapang tanpa iradiasi dihasilkan enzim selulase dengan aktivitas sebesar 0,07 unit/ml F/menit. Kenaikan aktivitas enzim berkisar antara 19,8 - 24,7 kali atau terjadi peningkatan aktivitas sebesar 1889,02 % - 2371,21 %. Pada Tabel 3, interaksi dari perlakuan yang diberikan (kondisi substrat saat iradiasi, waktu fermentasi dan macam kapang), ternyata berpengaruh terhadap terbentuknya enzim ini. Pengaruh ketiga perlakuan ini dapat bersifat positif maupun negatif, antara lain pengaruh negatif ini terlihat pada fermentasi yang menggunakan onggok kering tanpa iradiasi dengan kapang iradiasi, di mana pada hari ketiga mengha-

silkan aktivitas enzim sekitar 1,15 unit/ml F, tetapi pada perjalanan waktu fermentasi mengalami penurunan produksi menjadi 0,75 unit/ml F pada akhir percobaan. Pada perlakuan lain, iradiasi kapang akan menaikan pembuatan enzim selulase oleh kapang (Tabel 4), tetapi bila tidak dibantu dengan substrat yang diiradiasi aktivitas enzim akan mengalami penurunan dengan berjalananya waktu fermentasi. Jelas di sini bahwa iradiasi telah memecahkan molekul onggok menjadi molekul yang lebih kecil dan keadaan ini menstimulasi enzim selulase untuk meningkatkan aktivitasnya. Pendapat ini didukung oleh penelitian KUMAKURA & KAETSU (10) menyatakan bahwa sifat kelarutan substrat yang mengandung selulosa akan mulai meningkat pada dosis 10 kGy yang diberikan pada substrat dan semakin naik dengan bertambahnya dosis. Sebaliknya beberapa peneliti lain menemukan dosis yang tinggi (di atas 100 kGy) untuk dapat meningkatkan aktivitas enzim selulase yang cukup tinggi dan nyata secara statistik (11,12).

Aktivitas enzim amiloglukosidase (AMG) lebih banyak dipengaruhi oleh keberadaan kapang dan waktu fermentasi (Tabel 3). Kondisi substrat pada saat iradiasi tidak berpengaruh dalam percobaan ini. Penggunaan kapang iradiasi dengan dosis 4 kGy akan menghambat terbentuknya enzim AMG. Ada kecenderungan peningkatan aktivitas enzim dari kapang iradiasi ini dengan onggok yang diiradiasi maupun tanpa iradiasi dengan bertambahnya waktu fermentasi ($p<0,05$, Tabel 4), walaupun hasil ini pada akhir percobaan tidak menunjukkan perbedaan antara satu perlakuan dengan yang lainnya. Bahkan untuk fermentasi yang menggunakan onggok dan kapang yang keduanya diiradiasi (0,91 unit/ml F) mengalami penurunan yang nyata (0,82 unit/ml F) pada akhir fermentasi dibandingkan

dingkan dengan perlakuan yang lain pada $p<0,05$. Hasil yang tertinggi terjadi pada hari ke 14 fermentasi, di mana aktivitas enzim AMG mencapai 4,41 unit/ml F, yang didapatkan dari proses fermentasi kapang dan onggok kering tanpa iradiasi ($p<0,05$). Peningkatan terjadi juga pada proses fermentasi yang menggunakan kapang iradiasi dengan onggok tanpa iradiasi, namun hasilnya (2,57 dan 2,64 unit/ml F) lebih rendah daripada yang terdahulu disebutkan ($p<0,05$). Jelas di sini bahwa iradiasi terhadap kapang akan menghambat terbentuknya enzim AMG, walau aktivitas enzim ini tetap mengalami peningkatan dengan berjalananya waktu fermentasi meskipun peningkatan ini lebih rendah dibandingkan dengan enzim yang dihasilkan oleh kapang yang tidak diiradisi. Peningkatan aktivitas enzim AMG yang dihasilkan oleh kapang iradiasi dengan onggok iradiasi maupun tanpa iradiasi pada akhir percobaan mencapai 74,52 %- 115,03 % dari enzim yang dihasilkan dari perlakuan kontrol (kapang dan onggok tidak diiradiasi) di hari ke 3 fermentasi ($p<0,05$). Sedang untuk kapang tanpa iradiasi yang diinokulasikan kedalam onggok iradiasi ataupun tanpa iradiasi akan mengalami peningkatan aktivitas enzim sebesar 318,97%-507,72 % dari kontrol di hari yang sama.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa enzim protease dipengaruhi oleh keberadaan kapang dan waktu fermentasi. Kondisi onggok pada saat iradiasi tidak mempengaruhi pembentukan enzim oleh kapang. Iradiasi kapang pada umumnya meningkatkan pembuatan enzim di hari ke 3 dan 7 (Tabel 4). Tetapi pada akhir percobaan terjadi penurunan walau aktivitas ini tetap lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (1,15 dan 1,27 unit/ml F) maupun aktivitas enzim yang dihasilkan oleh fermentasi yang menggunakan onggok iradiasi dan

kapang tanpa iradiasi di hari ke 3 (1,34 dan 1,15 unit/ml F) pada $p<0,05$. Peningkatan aktivitas enzim tertinggi terjadi pada hari ke 14 untuk onggok iradiasi dan kapang tanpa iradiasi yang mencapai 4,13 - 4,68 unit/ml F. Peningkatan ini mencapai 121,99 % lebih tinggi dari kontrol di hari ke 3. Sedang bagi fermentasi onggok dan kapang yang keduanya diiradiasi, aktivitas enzim protease tertinggi didapatkan pada hari ke 3 (4,08 unit/ml F) dengan peningkatan sebesar 176,85 % dari kontrol, tetapi pada hari selanjutnya mengalami penurunan. Bila dilihat dari aktivitas enzim tertinggi yang dapat dicapai adalah 4 unit/ml F, maka diperkirakan bahwa besaran ini merupakan jumlah maksimum substrat yang dapat terfermentasi, sehingga dapat dinyatakan di sini penurunan aktivitas enzim pada fermentasi onggok dan kapang yang keduanya diiradisi dikarenakan persediaan substrat untuk difermen-tasi sudah semakin sedikit dengan berjalananya waktu fermentasi.

Dari hasil penimbangan ampas onggok dan kapang yang dikenalkan (tabel 3) tidak terlihat perbedaan yang nyata secara statistik antara satu perlakuan dengan perlakuan lainnya. Demikian pula secara visul perkembangan kapang iradiasi dan yang tidak diiradiasi tidak menunjukkan perbedaan. Kapang kontrol membentuk spora satu hari lebih cepat daripada kapang iradiasi.

Pada percobaan ini memperlihatkan bahwa kondisi dan jenis substrat sangat berpengaruh terhadap pembentukan enzim selulose dan glukosa. Radiasi terhadap onggok basah akan membantu menekan pertumbuhan mikroba kontaminan (13) yang berada dalam tepung. Ke-matiian ini tidak langsung disebabkan oleh iradiasi, tetapi lebih banyak disebabkan oleh terbentuknya radikal hidroksil (OH^-) seba-

gai hasil radiolisis dari substrat yang mengandung air, yang kemudian membentuk molekul hidrogen peroksida (H_2O_2) yang bersifat racun (13,14). Radikal ini memegang peranan sebagai perantara pada proses perubahan kimia dan penyebab terhambatnya aktivitas protein yang berpengaruh pula terhadap perkembangan mikroorganisme (15). Penurunan jumlah mikroba kontaminan dapat menaikkan dan mungkin pula menurunkan aktivitas enzim kapang *R. oryzae* dan khamir yang dipergunakan dalam percobaan ini, karena sebagian kontaminan ada yang bersifat sinergis dan ada yang bersifat represif.

KESIMPULAN

Dari percobaan fermentasi yang menggunakan sagu dan onggok, yang diiradiasi dengan dosis 25 kGy pada berbagai kondisi, dengan khamir dan kapang iradiasi, dosis 0,4 dan 4 kGy, dapat disimpulkan bahwa :

1. Pembentukan glukosa sangat bergantung pada jenis substrat dan waktu fermentasi. Penggunaan onggok dapat menaikan + 28 % glukosa dibandingkan dengan fermentasi menggunakan sagu. Jumlah glukosa tertinggi yang dihasilkan oleh fermentasi yang menggunakan onggok iradiasi terjadi pada hari ke 6 (1,96 %), sedang untuk sagu iradiasi terjadi pada hari ke 8 (1,93%). Peningkatan glukosa ini mencapai 4,72 % dan 2,78 % dari glukosa yang dihasilkan oleh kontrol.
2. Peran kapang iradiasi (4 kGy) berpengaruh nyata terhadap pro-

duk yang dihasilkan oleh fermentasi, sedang peran langsung khamir iradiasi ($0,4$ kGy) terhadap produk fermentasi tidak nyata.

3. Pada fermentasi yang menggunakan kapang iradiasi, aktivitas enzim amilase akan meningkat baik dengan menggunakan onggok iradiasi maupun tanpa iradiasi. Kenaikan mencapai $108,73\%$ dan $43,6\%$ dari kontrol hari ke 3. Demikian pula, enzim selulase mengalami peningkatan aktivitas pada fermentasi kapang dan onggok yang keduanya diiradiasi. Pada akhir percobaan tercapai peningkatan sebesar $1889,02\%$ ($= 19$ kali) dari kontrol di hari yang sama atau $3,45\%$ dari kontrol di hari ke 3.
4. Pada akhir percobaan enzim AMG dan gula pereduksi yang dihasilkan oleh fermentasi khamir tidak menunjukkan perbedaan antara satu perlakuan dengan perlakuan lainnya. Untuk fermentasi yang menggunakan kapang didapat peningkatan aktivitas enzim AMG diakhir percobaan yaitu sebesar $76,22\%$ untuk fermentasi yang menggunakan kapang iradiasi, $279,05\%$ dengan menggunakan onggok iradiasi, sedang untuk kontrol mencapai $449,81\%$ (4 kali) dari kontrol di hari ke 3.

DAFTAR PUSTAKA

1. PIADANG, S., PONGPAT, S., CHETTANACHITARA, C., and SERMIKIAT-TIPONG, N., Nuclear Technique in the Improvement of Traditional Amylase Fermentation Practise on Cassava in Thailand, Fin. Res. Cont. Rep. to IAEA (May 1987-1989), Biological Science Devision, Office of Atomic Energy to Peace, Bengkhen, Bangkok 10900, Thailand (1989).
2. ALLISTER, M., Nutritive Sweetners made from Starch, Adv. Carbohydr Chem. Biochem., 36 (1979) 15.

3. GEBEDEMAH, C.M., and AWAFO, V., The Effect of Gamma Radiation on the Cellulotic, Pectinolytic, and Amylolitic Enzyme Activity of some "garri" Fermentation Organisms, Res. Cont. Rep. to IAEA, National Nuclear Research Institute, Ghana Atomic Energy Comission, Ghana, (Nov. 1989).
4. KUME, T., and TAMURA, N.M., Change in the Digestibility of Raw Starch by Gamma Irradiation., VCH Verlaagsgesellschaft mbH, D-6940 Weinheim (1987) 71.
5. KUME, T., AHMAN, S., and ISHIGAKI, T., Change in Digestibility of Gamma Irradiated Starch by Low Temperature Cooking, Starch/Starke, 40 (1988) 155.
6. SVENDSBY, K., KATSUTANI, Y., MATSUMARA, M., IIZUKA, M., and YAMAMOTO, T., J. Ferment. Technol., 59 (1981) 485.
7. UEDA, S., ZENIN, C.T., MONTEIRO, D.A., and PARK, Y.K., Bio. Technol. and Bioeng., 23 (1980) 191.
8. LINA, M.R. dan SUSIANA, Pengaruh Iradiasi Gamma pada Petumbuhan Khamir dan Aktivitas Fermentasinya Menghasilkan Gula., Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan radiasi dalam Bidang Pertanian, Peternakan, dan Biologi, BATAN, 9-10 DESEMBER 1992, 489.
9. SJARIEF, S.H., LYDIA ANDINI, S., dan AGUSTIN, S., Pengaruh Kapang Iradiasi pada Hasil Fermentasi Onggok Iradiasi., Risalah Pertemuan Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi dalam Bidang Pertanian, Peternakan dan Biologi, Desember 1992.
10. KUMAKURA, M., and KAETSU, I., Radiation Degradation and the Subsequent Enzymatic Hydrolysis of Waste Papapers., Biotechnol. and Bioeng., xxiv (1982) 991.
11. HAN, Y.W., and CIEGLER, A., Effect of Gamma-Ray irradiated ion on Sugar Production from Plant Biomass., Biotech. & Bioeng. Symp. No. 12 (1982) 73.
12. BRENNER, W., RUGG, B., and ARNON, J., Radiation Pretreatments for Optimizing the Sugar Yield in the Acid Hydrolysis of waste cellulose., Radiat. Phys. Chem., 14 (1979) 299.
13. TOR BRUSTAD, On the Mechanism of the Radiation inactivation of Enzymes in dilute Solutions, Rad. Res., Proc. of the third Int. Cong. of Rad. Res. held at Cortina d'Ampezzo, Italy, June-July 1966, North Holland Pub. Comp., Amsterdam (1967).
14. O'DONNEL, J.H., and SANGSTER, D. F., Principles of Radiation Chemistry., EDWARD ARNOLD Ltd., London (1970) 81.
15. BRAAMS, R., The effects of Ionizing Radiations on Proteins.

Rad. Res., proc. of the third Int. Cong. of Rad.
Italy, June-July 1966, North Holland Pub. Comp., Am
sterdam (1967) 371.

Tabel 2. Rata-rata kadar glukosa (%±b/v), gula pereduksi (%±b/v), dan aktivitas enzim AMG (unit/ml/menit), sebagai hasil fermentasi kimia RCryGY iradiasi dan tanpa iradiasi dengan substrat onggok dan sagu yang diirradiasi dan tanpa iradiasi.

Parameter	Substrat	W4		W6		W8		S
		Kh0	Kh0,4	Kh0	Kh0,4	Kh0	Kh0,4	
Kadar glikosa	OG0	1,8761	1,6513	1,6987	1,7917	1,7931	1,6800	1,7485
	OG25	1,8761	1,6970	1,9646	1,8237	1,7678	1,7941	1,8183
	SG0	0,9913	0,9996	1,3566	1,4017	1,5108	1,8972	1,3595
	SG25	0,9944	1,0517	1,4613	1,3287	1,9283	1,7497	1,4190
		Kh0 1,6005		Kh0,4 1,5722				
		W4 1,3905		W6 1,6034		W8 1,7651		
	BNJ	Kh 0,05		S 0,1700		W 0,1335		
		Kh0 1,6005		Kh0,4 1,5722				
		W4 1,3905		W6 1,6034		W8 1,7651		
	BNJ	Kh 0,05		S 0,1784		W 0,1784		
Gula pereduksi	OG0	2,2972	2,1328	2,0071	2,0414	2,2943	2,0696	2,1404
	OG25	1,9470	1,8829	2,2248	2,2160	2,3334	2,0983	2,1171
	SG0	1,7072	1,9219	2,2144	2,3414	2,7790	2,9869	2,3251
	SG25	1,7424	1,6814	2,3085	2,0028	2,8444	2,9637	2,2572
		Kh0 1,6005		Kh0,4 1,5722				
		W4 1,3905		W6 1,6034		W8 1,7651		
	BNJ	Kh 0,05		S 0,1784		W 0,1784		
		Kh0 1,6005		Kh0,4 1,5722				
		W4 1,3905		W6 1,6034		W8 1,7651		
	BNJ	Kh 0,05		S 0,1784		W 0,1784		
Aktivitas enzim AMG	OG0	0,5953	0,6192	0,6335	0,7185	0,6393	0,5660	0,6336
	OG25	0,5703	0,5112	0,7185	0,6131	0,7123	0,7030	0,6381
	SG0	0,5860	0,5145	0,5731	0,6334	0,8211	0,8593	0,6646
	SG25	0,4927	0,4249	0,7138	0,8087	0,8612	0,6379	0,6565
		Kh0 0,6598		Kh0,4 0,6367				
		W4 0,5430		W6 0,6766		W8 0,7250		
	BNJ	Kh 0,05		S ?		W 0,1725		
		Kh0 0,6598		Kh0,4 0,6367				
		W4 0,5430		W6 0,6766		W8 0,7250		
	BNJ	Kh 0,05		S ?		W 0,1725		
Catatan :	Kh = khasiat	S = substrat				W = waktu		

Tabel 3. Sidik ragam aktivitas enzim amilase, selulase, AMG dan protease dari hasil fermentasi

onggok dan kapang (R. oryzae) yang keduanya diirradiasi dengan dosis 25 dan 4 kGY.

Jenis Perlakuan	F-hitung			Tabel	
	amilase unit/ml	selulase unit/ml	AMG unit/ml	protease unit/ml	berat kp & ong. gram (hr ke 14)
Kapang (Kp)	6,28 *	6,16 **	43,50	5,16 *	0,54
Substrat (S)	2,22 **	8,10 **	0,33 **	0,19 **	0,05
Waktu (k)	8,43	10,59	27,63	12,33	2,82 4,06
interaksi					3,21 5,00
Kp x S	1,98	1,91	0,51	0,35	2,74
Kp x W	1,64	14,49 **	10,34 **	49,84 **	4,06 7,24
O x W	0,39	1,84 *	10,28 **	0,91	3,21 5,00
Kp x O x W	2,98	2,60	51,62	0,81	2,31 3,24

Catatan : Kp : kapang
O : onggok
W : waktu

Tabel 4. Aktivitas enzim amilase, selulase, AMG dan protease (unit/ml/menit) yang dihasilkan oleh fermentasi menggunakan onggok dan kapung yang dilarutkan.

Parameter	Subs	W3		W7		W14		S
		trat	Kp0	Kp4	Kp0	Kp4	Kp0	Kp4
Amilase	Ob1	10,388	10,515	11,430	10,972	19,218	14,994	31,087
	Ob2	14,017	17,309	11,388	19,975	22,805	22,602	37,978
	Ok1	14,385	18,360	12,594	19,158	21,539	20,581	53,309
	Ok2	15,030	18,133	15,081	19,521	23,138	29,107	60,005
	Kp	Kp0 32,879		Kp4 58,307				
	W	W3 40,450		W7 41,590		W14 54,738		
	BNJ	K	S		W			
	0,05	3,999			4,169			
	0,01				5,166			
SeJulase	Ob1	0,900	1,258	0,181	0,741	0,082	0,121	0,547
	Ob2	0,901	1,144	0,292	1,214	0,087	1,154	0,799
	Ok1	1,792	1,154	0,208	1,106	0,095	0,754	0,852
	Ok2	0,955	1,125	0,358	1,539	0,066	1,631	0,946
	Kp	Kp0 0,493		Kp4 1,078				
	W	W3 1,154		W7 0,705		W14 0,499		
	BNJ	K	S		W			
	0,05	0,239			0,449			
	0,01				0,358			
					0,555			
					0,437			
AMG	Ob1	0,622	0,632	1,695	0,716	3,150	1,463	1,380
	Ob2	0,833	0,613	1,582	0,901	2,639	1,349	1,320
	Ob1	0,753	0,704	2,226	0,836	4,410	1,212	1,524
	Ok2	0,794	0,907	2,426	0,856	2,573	0,822	1,396
	Kp	Kp0 1,892		Kp4 0,918				
	W	W3 0,732		W7 1,405		W14 2,077		
	BNJ	K	S		W			
	0,05	0,298			0,439			
	0,01	0,397			0,544			
Protease	Ob1	1,149	2,937	1,468	3,570	4,527	1,874	2,588
	Ob2	1,337	2,610	1,562	2,624	4,675	2,835	2,607
	Ok1	1,266	2,919	1,285	3,595	4,127	1,727	2,487
	Ok2	1,150	4,076	1,185	3,162	4,671	1,984	2,705
	Kp	Kp0 2,367		Kp4 2,826				
	W	W3 2,181		W7 2,306		W14 3,303		
	BNJ	K	S		W			
	0,05	0,4073			0,600			
	0,01				0,744			

Catatan : Ob1 : onggok basah tanpa iradiasi (kontrol)
 Ob2 : onggok basah diiradiasi dengan dosis 25 kGy
 Ok1 : onggok kering tanpa iradiasi (kontrol)
 Ok2 : onggok kering diiradiasi dengan dosis 25 kGy.