

PENGAJIAN KAPANG ENDOFIT DARI TAMAN NASIONAL GUNUNG HALIMUN SEBAGAI PENGHASIL GLUKOAMILASE

Ruth Melliawati*, Ricky Setiadi Suherman**, dan Bambang Subardjo**

* Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Jl. Raya Bogor KM.46 Cibinong, Bogor

** Univ. Jenderal Soedirman Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto

ABSTRACT

Production of glucoamylase generally used through the fermentation-using microorganism. One of microorganism source which never been studied are from endophyte fungus. The purpose of this research is to study the potential microbes of Gunung Halimun Nasional Park (GHNP) for glucoamylase production. Thirty-seven isolate of endophyte fungi has been investigated for the ability of glucoamylase production on PSA (Potato starch agar) media with the strength of clear zone and colony. The potential isolates inoculated to Czapek media to produce glucoamylase on 50 ml scale and measured its activity every 24 hours of incubation time for 96 hours. The best isolate then was reproduced on the larger media (100 ml), and resumed with filtration and ultra-filtration. The enzyme activity, specific activity, and degree of protein was measured in every phase. Selection of amylolytic strength resulted that HL.110F.488 produced the highest amylolytic strength with halo size of 10.47 cm², or equal with hydrolysis of starch of 0.0494 gram for 96 hours, while both isolate HL.44F.199 and HL.45F.205 had low amylolytic capacities but a very wide of colony growth, each 38.54 cm² and 30.76 cm². Isolat HL.44F.199 produced the highest enzyme activity of 5452.633 unit at 72 hours fermentation, while isolate HL.45F.205 with 4725.58 units at 72 hours fermentation and isolate HL.110F.488 with 3167.609 units at 96 hours fermentation. Glucoamylase has been reproduced by isolate HL.44F.199 on volume media 100 ml. The results show that enzyme activity is 4197.10 units with specific activity 2851.44 U/mg proteins, both get an increasing result after filtration and ultra-filtration reach out 5910.86 units and 4534.45 U/mg proteins.

Keywords: *endophyte fungus, glucoamylase production*

PENGANTAR

Indonesia merupakan salah satu penghasil ubi kayu terbesar di dunia dengan produksi sebesar 11 juta ton per tahun (Anonim, 2002). Ubi kayu tersusun atas sejumlah polisakarida seperti selulosa, hemiselulosa dan pati atau amilum. Ubikayu merupakan bahan utama dari tepung tapioka. Berbagai produk turunan tapioka seperti glukosa, fruktosa, dan maltosa sampai saat ini ternyata masih diimpor dari luar negeri. Impor produk-produk tersebut mencapai US\$ 150 juta per tahunnya (Anonim, 2002). Kenyataan ini jelas menunjukkan bahwa Indonesia mempunyai potensi yang sangat besar untuk mengembangkan industri turunan tapioka baik dari segi pasar maupun ketersediaan bahan baku. Potensi ekspor juga masih sangat terbuka selain untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri.

Pati dapat dihidrolisis menjadi glukosa dalam suasana asam. Asam yang biasa digunakan biasanya asam klorida. Proses ini kurang menguntungkan karena menghasilkan produk yang tidak ramah lingkungan. Enzim adalah pilihan utama yang digunakan untuk proses hidrolisis pati. Penggunaan enzim memberi keuntungan antara lain produk lebih murni, lebih mudah dan tanpa produk-produk sampingan yang berbahaya.

Salah satu enzim yang berperan dalam menghidrolisis pati menjadi glukosa adalah enzim amilase, terutama

α -amilase dan glucoamilase. Enzim α -amilase bekerja menghidrolisis ikatan α -1,4 secara acak di bagian dalam molekul baik pada amilosa maupun amilopektin. Hasil hidrolisis α -amilase mula-mula akan menghasilkan dekstrin, dekstrin tersebut kemudian dipotong-potong lagi menjadi campuran antara glukosa, maltosa, maltotriosa, dan ikatan lain yang lebih panjang.

Enzim glucoamilase (EC. 3.2.1.3) atau sering disebut amiloglukosidase atau α -1,4-glukano glukohidrolase merupakan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis ikatan α -1,4 pada rantai amilosa, amilopektin, glikogen, dan pullulan. Enzim glucoamilase juga dapat menyerang ikatan α -1,6 pada titik percabangan, walaupun dengan laju yang lebih rendah. Hal ini berarti bahwa pati dapat diuraikan secara sempurna menjadi glukosa (Josson *et al.*, 1992; Soebiyanto, 1986; DeMan, 1997).

Enzim amilase sudah banyak digunakan dalam industri baik untuk kepentingan manusia maupun ternak, di antaranya adalah untuk suplemen dalam kegiatan diastatik (Whitaker, 1972), menyempurnakan dalam mencerna beberapa bahan makanan sehingga menjadi lebih berguna bagi ternak (Rutten and Daugulis, 1987), membantu pencernaan makanan bagi manusia (Pamatong, 1991) degradasi pati dari bahan pencuci pada industri tekstil (Bajpai, and Bajpai, 1987), perbaikan tekstur roti (Lowry *et al.*, 1951), hidrolisis

pati untuk produksi glukosa atau dektrin (Teresita dan Richard, 1998).

Banyak penelitian telah dilakukan dalam rangka mencari sumber daya mikroba yang potensial untuk menghasilkan enzim amilase. Seperti dilaporkan bahwa kelompok bakteri dan kapang dapat memproduksi α -amilase, β -amilase atau amiloglukosidase (Zeikus, G dan Jhonson, E. A. 1991). Borris, (1987) melaporkan bahwa *Aspergillus niger* potensial dalam memproduksi α -amilase dan amiloglukosidase dalam suatu medium mengandung pati sebagai inducernya. Sumber daya mikroba dari alam sudah lebih banyak diketahui kegunaannya, sementara mikroba endofit yang merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman belum banyak diketahui manfaatnya.

Indonesia memiliki hutan tropis yang belum digali secara maksimal, di antaranya adalah Taman Nasional Gunung Halimun yang merupakan perwakilan tipe ekosistem hutan hujan dataran rendah, hutan sub-montana dan hutan montana. Beberapa tumbuhan yang mendominasi hutan di taman nasional Gunung Halimun antara lain rasamala (*Altingia excelsa*), jamuju (*Dacrycarpus imbricatus*), dan pupsa (*Schima wallichii*).

Enzim gluukoamilase yang mampu menghidrolisis tapioka segar masih belum banyak diketahui. Pencarian mikroorganisme baru penghasil enzim gluukoamilase layak dilakukan di Indonesia, mengingat besarnya potensi keragaman sumber daya hayatinya. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kapang endofit potensial sebagai penghasil enzim gluukoamilase.

BAHAN DAN CARA KERJA

Mikroorganisme

Kapang endofit yang digunakan sebanyak 37 isolat yang berasal dari koleksi kapang Puslit Bioteknologi LIPI. Kapang endofit tersebut berasal dari 22 jenis tanaman yang terdapat di Hutan Gunung Halimun, Sukabumi, Jawa Barat.

Medium

Media PDA (*Potato Dextrose Agar*), media PSA (*Potato Starch Agar*) untuk seleksi awal (Melliawati dkk, 1991), Media cair Czapek sebagai medium fermentasi (Agusmanto, 1994)

Seleksi isolat amilolitik

Seleksi isolat amilolitik dilakukan dengan menyeleksi pertumbuhan dan luas zona jernih yang dihasilkan oleh isolat-isolat yang ditumbuhkan dalam media PSA. Koloni

dari kapang endofit pada media agar cawan PDA yang berumur 3 hari dicetak menggunakan lubang ampul steril dengan diameter ampul $\pm 0,8$ cm. Cetakan tersebut kemudian diambil dan dipindahkan ke media PSA dalam cawan petri menggunakan jarum ose secara aseptis dan selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam. Larutan iodin diteteskan ke dalam media PSA dalam cawan petri untuk melihat adanya zona jernih.

Pengukuran luas zona jernih diukur pada masa inkubasi 96 jam. Metode pengukuran luas zona jernih (Sukara *et al.*, 1992) dapat dilakukan sebagai berikut: luas zona jernih dicetak pada kertas cetak, dipotong dan ditimbang. Luas zona jernih kemudian ditentukan menggunakan persamaan:

$$\text{Luas zona jernih (cm}^2\text{)} = \frac{\text{Berat cetakan (g)}}{\text{Berat 1 m}^2 \text{ kertas cetakan (g)}} \times 1 \text{ m}^2$$

Produksi enzim gluukoamilase

Produksi enzim gluukoamilase dilakukan dalam media cair Czapek. Penyiapan inokulum dilakukan dengan menambahkan 5 ml akuades steril ke dalam isolat kapang endofit yang berumur antara 96 jam sampai dengan 110 jam pada media agar miring. Spora sel kapang endofit dilarutkan dengan menggunakan jarum ose secara aseptis. Inokulum tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Inokulum sebanyak 3% (v/v) diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 ml media cair Czapek. Kultur ini kemudian diinkubasi dalam *orbital shaker incubator* pada suhu kamar dengan kecepatan putaran 150 rpm. Nilai pH media diukur secara aseptis menggunakan pH meter TOA setiap 24 jam.

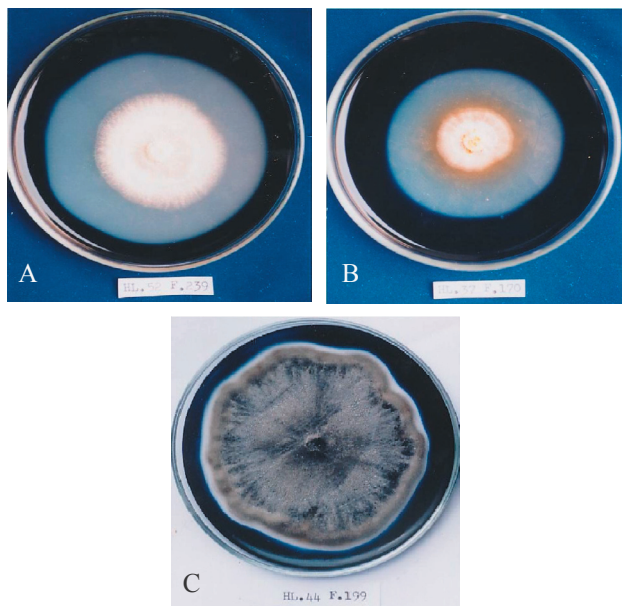
Pemanenan enzim

Filtrat dipisahkan dari biomassa melalui sentrifugasi dengan kecepatan putaran 8000 rpm pada suhu 4 °C. Filtrat tersebut kemudian disaring menggunakan membran filter 0,45 μm . Proses pemanenan dilakukan pada kisaran suhu 4 °C.

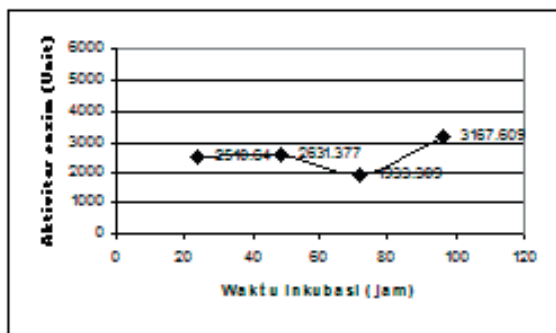
Analisis kimia

Uji aktivitas enzim dipertelakan oleh Melliawati *et al.*, 1995; Sukara, E. 1987, pengukuran kadar protein menggunakan spektrofotometer dan pengukuran biomassa basah dan kering dengan cara memisahkan biomassa dari filtrat setelah proses sentrifugasi, yang dilanjutkan melalui pengeringan menggunakan oven pada suhu 70 °C selama 24 jam. Pengukuran glukosa dilakukan menurut metode Nelson (1941).

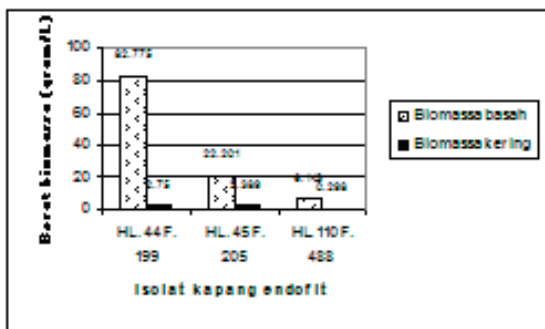
HASIL



Gambar 1. Luas zonasi jernih dan pertumbuhan dari kapang endofit HL. 52F. 239 (A), HL. 37F. 170 (B) dan HL.44F.199 (C) pada media PSA.



Gambar 2. Kurva produksi glukoamilase oleh kapang endofit HL. 44F. 199

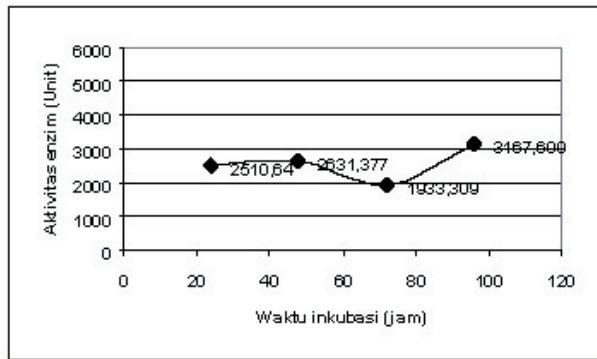


Gambar 3. Kurva produksi glukoamilas oleh kapang HL.45F.205

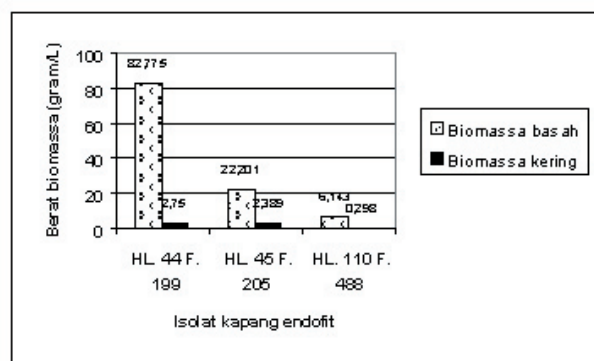
Tabel 1. Nilai luas total, luas koloni, dan luas zona jernih kapang endofit dalam masa inkubasi 96 jam

No	Kode isolat	Luas (cm ²)		
		Total	Koloni	Zona jernih
1	HL.15F .72	6,0606	5,4546	0,6061
2	HL.15F .73	11,3030	11,3030	0
3	HL.16F .74	0,5455	0,5455	0
4	HL.16F .75	7,1515	7,1515	0
5	HL.20F .90	12,91	12,91	0
6	HL.20F .93	5,73	10,63	-
7	HL.37F .169	16,90	27,44	-
8	HL.37F .170	8,10	2,87	5,23
9	HL.40F .183	6,68	7,55	-
10	HL.40F .186	15,85	14,29	1,56
11	HL.42F .195	12,53	12,53	0
12	HL.44F .199	39,82	38,54	1,28
13	HL.45F .205	35,21	30,76	4,45
14	HL.45F .207	2,73	1,56	1,17
15	HL.46F .209	7,5303	6,7727	0,7576
16	HL.46F .215	3,57	2,35	1,18
17	HL.50F .226	-	-	-
18	HL.50F .229	5,41	5,41	0
19	HL.51F .234	11,90	10,97	0,93
20	HL.51F .235	5,35	5,35	0
21	HL.52F .236	8,46	12,16	3,70
22	HL.52F .239	12,41	5,02	7,39
23	HL.61F .277	6,68	1,89	4,79
24	HL.61F .278	5,47	1,82	3,65
25	HL.63F .283	1,35	1,35	0
26	HL.63F .285	22,00	20,45	1,55
27	HL.65F .294	11,62	11,62	0
28	HL.65F .297	2,98	6,41	-
29	HL.85F .408	4,52	2,32	2,20
30	HL.90F .422	13,42	19,73	-
31	HL.90F .423	-	-	-
32	HL.96F .438	-	-	-
33	HL.96F .440	14,29	12,67	1,62
34	HL.100F .457	-	-	-
35	HL.101F .459	12,11	10,53	1,58
36	HL.110F .485	11,95	11,95	0
37	HL.110F .488	13,60	3,13	10,47

Keterangan: Daya amilolitik rendah : Luas zonasi < 5 cm; Daya amilolitik sedang : Luas zonasi antara 5–10 cm; Daya amilolitik tinggi : Luas zonasi > 10 cm



Gambar 4. Kurva produksi glucoamilase oleh kapang endofit HL. 110F. 488



Gambar 5. Kurva produksi biomassa kapang endofit HL.44F.199, HL.45F.205 dan HL.110F.488

Tabel 2. Kondisi pH selama proses fermentasi oleh kapang endofit.

Lama inkubasi (jam)	Kondisi pH selama fermentasi pada isolate kapang		
	HL. 44 F. 199	HL. 45 F. 205	HL. 110 F. 488
0	4,35	4,35	4,35
24	5,66	5,76	5,56
48	6,37	6,64	6,10
72	6,40	5,66	6,08
96	6,25	5,89	5,56

Tabel 3. Aktivitas enzim, aktivitas spesifik, kadar protein dari kapang endofit HL. 44 F. 199

No.	Perlakuan	Aktivitas enzim (Unit)	Aktivitas spesifik (U/mg protein)	Kadar protein (mg/ml)
1	Setelah sentrifugasi	4197,10	3226,225	1,285
2	Setelah ultrafiltrasi	5910,86	4983,862	1,186

PEMBAHASAN

Skrining kapang endofit

Hasil skrining dari 37 isolat kapang endofit diperlihatkan pada Tabel 1. Hasilnya menunjukkan bahwa setiap kapang endofit mempunyai daya amilolitik yang berbeda. Melliawati dan Sukara (1989) melaporkan bahwa kemampuan atau daya amilolitik suatu mikroba ditandai dengan terbentuknya zona jernih dalam medium yang mengandung pati. Zona jernih terjadi karena terhidrolisisnya pati menjadi senyawa yang lebih sederhana (glukosa). Tiga puluh tiga isolat (89,2%) mampu tumbuh pada media PSA, 18 isolat (48,6%) di antaranya selain mampu tumbuh pada media PSA juga mampu menghasilkan enzim amilolitik yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih, dan 4 isolat (10,8%) tidak mampu tumbuh pada media PSA. Isolat-isolat kapang yang mampu tumbuh dan membentuk zona jernih pada media PSA, merupakan kapang endofit yang memiliki enzim amilase yang disekresikan ke dalam medium secara berlebihan (Melliawati dan Sukara, 1989).

Luas zona jernih yang terbentuk per 1 cm² setara dengan terhidrolisisnya pati sebesar 0,004714 gram. Nilai tersebut diperoleh dari besarnya kandungan pati per cm² pada 15 ml media PSA. Daya amilolitik katagori tinggi dicapai oleh isolat HL. 110F.488 dengan luas zona jernih sebesar 10,47 cm² atau setara dengan terhidrolisisnya pati sebesar 0,0494 gram selama 96 jam. Daya amilolitik katagori sedang diperoleh dari isolat isolat HL.52F. 239 dan HL. 37F. 170 yang menghasilkan luas zona jernih masing-masing sebesar 7,39 cm² dan 5,23 cm² atau setara dengan terhidrolisisnya pati sebesar 0,0340 dan 0,0246 gram selama 96 jam. Lima belas isolat lainnya hanya menghasilkan luas zona jernih kurang dari 5 cm². Luas zona jernih yang dihasilkan oleh isolat isolat HI.52F. 239, HL. 37F. 170 dan HL.44F.199 dapat dilihat pada Gambar 1C.

Seleksi kapang amilolitik yang dilakukan pada media PSA belum sepenuhnya menggambarkan kemampuannya dalam menghasilkan enzim glucoamilase. Hal ini disebabkan apabila kapang endofit juga menghasilkan enzim α - dan β -amilase maka produk hidrolisisnya yakni dekstrin bermolekul rendah dapat ikut menghasilkan luas zona jernih. Lebatnya miselium akibat pemanjangan dan penumpukan hifa kapang juga dapat menutupi luas zona jernih yang dihasilkan (Tsujisaka, 1988 dalam Agusmanto, 1994). Hal tersebut tentunya dapat mempengaruhi pengukuran daya amilolitik oleh kapang-kapang endofit. Peluang kehilangan isolat berpotensi tinggi sebagai penghasil enzim

glukoamilase dapat diperkecil dengan memperhitungkan luas koloni yang terbentuk selama proses seleksi dilakukan. Luas koloni tinggi dihasilkan oleh isolat HL. 44F. 199 dan HL. 45F. 205 dengan luas koloni masing masing sebesar 38,54 cm² dan 27,44 cm².

Pertumbuhan kedua isolat tersebut sangat luas, yang berarti bahwa kedua isolat tersebut mampu menghidrolisis pati untuk keperluan pertumbuhannya tetapi tidak mengeluarkan enzim secara berlebihan, dari hasil perhitungan diperoleh hasil luas zona jernih dari kedua isolat tersebut kurang dari 5 cm². Pertumbuhan koloni dan zona jernih yang terbentuk oleh isolat HL. 44F. 199 pada media PSA selama 96 jam inkubasi dapat dilihat pada Gambar 1C.

Laju produksi enzim dari isolat kapang endofit potensial

Tiga isolat terpilih yakni isolat HL. 110F. 488 (zona jernih terluas), HL. 44F. 199, dan HL. 45F. 205 (koloni pertumbuhannya sangat luas) difermentasikan untuk mengetahui pola pertumbuhannya sekaligus mengetahui jumlah enzim yang diproduksi. Isolat kapang tersebut difermentasikan dalam media cair Czapek selama 96 jam.

Hasil produksi glukoamilase diukur dari banyaknya glukosa yang terbentuk dari hidrolisis pati. Proses fermentasi dan aktivitas enzim oleh isolat HL. 44F. 199 ditunjukkan pada Gambar 2. Aktivitas glukoamilase maksimum dicapai 5452,633 unit dalam 72 jam fermentasi. Aktivitas enzim tertinggi dicapai pada saat kondisi pH dicapai tertinggi (6,40). Produksi enzim optimum biasanya terjadi pada fase seimbang, dimana periode pertumbuhan menyeluruh tidak dapat lagi tercapai akibat kehabisan hara. Pada 96 jam fermentasi terjadi penurunan produksi glukoamilase, menjadi 3563,744 unit. Penurunan produksi glukoamilase dapat disebabkan fase pertumbuhan kapang-kapang endofit telah memasuki fase kematian dan pada fase kematian terjadi penurunan metabolisme dan sel melisis sehingga mempengaruhi produksi glukoamilase (Judoamidjojo, dkk, 1992; Smith, 1993). Derajat keasaman mengalami penurunan yang diikuti oleh turunnya aktivitas glukoamilase.

Pada Gambar 3 diperlihatkan kurva aktivitas glukoamilase oleh kapang endofit HL. 45F. 205. Kinetika produksi glukoamilase isolat ini menyerupai kinetika produksi isolat HL. 44F. 199. Aktivitas glukoamilase maksimum dicapai pada 72 jam fermentasi, dengan aktivitas enzim 4725,58 unit atau sedikit lebih rendah dari aktivitas glukoamilase oleh kapang endofit HL. 44F. 199. Sementara pada gambar 4 diperlihatkan kurva produksi glukoamilase oleh kapang endofit HL. 110F. 488. Hasil produksi glukoamilase isolat ini lebih rendah dari kedua isolat

kapang yang lain yaitu 3167,61 unit pada 96 jam fermentasi. Aktivitas enzim pada isolat ini mengalami penurunan sampai 1933,31 unit pada 72 jam yang sebelumnya diperoleh 2631,38 unit pada 48 jam fermentasi. Penurunan aktivitas ini kemungkinan disebabkan oleh adanya represi katabolit. Represi katabolit dapat menyebabkan fase lag atau periode adaptasi menjadi berkepanjangan sehingga mempengaruhi sifat pertumbuhan dan pembentukan produk yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas. Smith (1993) melaporkan bahwa represi katabolit dapat dihindari dengan mutasi yang kebal terhadap represi katabolit serta menghindari penggunaan sumber karbon yang bersifat represif dalam media. Faktor lain yang dapat menyebabkan kecilnya aktivitas enzim bahkan terjadi penurunan antara lain karena metabolit sekunder yang dihasilkan digunakan untuk pertumbuhan, sehingga hasil aktivitas enzim menurun, dan juga kemungkinan kondisi lingkungan (pH, suhu, media) yang kurang cocok untuk kapang tersebut. Gambar 5 memperlihatkan hasil biomassa basah/kering dari ketiga kapang endofit yang diuji. Pengukuran biomassa pada penelitian ini dilakukan pada akhir fermentasi (96 jam fermentasi). Isolat HL. 44F. 199 menghasilkan berat biomassa basah dan berat biomassa kering tertinggi dibandingkan kedua isolat yang lain (82,775 gram biomassa basah atau 2,75 gram biomassa kering). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat HL. 44F. 199 sangat baik yang ditunjang dengan hasil aktivitas enzim tertinggi. Sementara itu isolat HL. 45F. 205 dan HL. 110F. 488, masing-masing menghasilkan biomassa 22,201 gram berat basah atau setara 2,389 gram berat kering dan 6,143 gram biomassa basah atau 0,298 gram biomassa kering. Berdasarkan hasil berat biomassa, isolat HL.44F.199 memberikan hasil tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi lingkungan sangat menunjang isolat tersebut melakukan aktivitas selama fermentasi sehingga biomassa dan aktivitas enzim yang diperoleh tertinggi.

Wong (1995) melaporkan bahwa pada umumnya pH kapang pada kisaran pH 3-7 sementara itu Judoamidjojo, dkk, (1992) menyatakan bahwa sebagian besar organisme dapat berfungsi dengan baik pada pH antara 3-4. Nilai pH diperkirakan berpengaruh pada permeabilitas dinding sel dan pada laju reaksi enzim yang menempel pada dinding luar sel (Smith, 1993). Perubahan pH pada ketiga isolat kapang selama fermentasi dapat dilihat pada Tabel 2 (rata rata dari 2 ulangan).

Nilai pH tertinggi dicapai 6,40 selama proses fermentasi 72 jam oleh kapang endofit HL. 44F. 199 kemudian terjadi penurunan, sementara itu pada kapang endofit HL. 45F. 205 pH tertinggi dicapai 6,64 pada 48 jam fermentasi kemudian terjadi fluktuasi menjadi 5,66 dan naik kembali

menjadi 5,89 sedangkan kapang endofit HL. 110F. 488 pH tertinggi dicapai 6,10 pada 48 jam fermentasi, selanjutnya mengalami penurunan. Kondisi pH media menurun karena adanya hasil-hasil metabolisme karbohidrat yang bersifat asam seperti asam-asam karboksilat. Sedangkan kenaikan pH media disebabkan oleh terbentuknya senyawa-senyawa yang bersifat basa yang merupakan hasil metabolisme protein.

Produksi glukoamilase pada skala 100 ml

Dari ketiga kapang yang diuji kapang endofit HL. 44F. 199 terpilih sebagai galur mikroba yang berpotensi menghasilkan tingkat produktivitas glukoamilase tinggi. Kapang ini selanjutnya dipakai sebagai inokulum untuk memproduksi enzim glukoamilase pada skala 100 ml dengan masa inkubasi terbaik (72 jam).

Tabel 3 memperlihatkan hasil aktivitas enzim, aktivitas spesifik, kadar protein dan kadar gula pereduksi yang diperoleh selama proses fermentasi (nilai rata-rata dari 2 kali ulangan). Aktivitas glukoamilase preparat enzim setelah melalui sentrifugasi diperoleh 4197,10 unit selanjutnya melalui ultrafiltrasi aktivitas enzim dan aktivitas spesifik masing-masing diperoleh 5910,86 unit dan 4983,862 unit/mg protein.

Aktivitas enzim yang dihasilkan pada skala produksi 100 ml hasilnya lebih rendah dari pada skala produksi sebelumnya. Hal ini terjadi kemungkinan karena perbedaan pH awal fermentasi, yaitu 4,5 yang sebelumnya 4,35, kemungkinan lain karena proses pemanenan yang kurang sempurna sehingga menyebabkan penurunan aktivitas enzim. Penanganan dalam proses pemanenan yang kurang sempurna mempunyai peran yang tidak kalah pentingnya dengan proses selama fermentasi berlangsung dan hal ini akan memberi dampak dengan hasil yang rendah. Seperti diketahui bahwa enzim mudah berubah (rusak) karena pengaruh lingkungan (suhu, pH dsb). Nilai biomassa basah pada akhir fermentasi diperoleh sebesar 113,445 gr/L atau setara dengan 4,343 gr/L biomassa kering.

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat kapang endofitik HL. 44F. 199 merupakan kapang amilolitik yang mempunyai potensi dalam menghidrolisis pati tapioka dibandingkan dengan kedua isolat kapang amilolitik yang lain. Kapang tersebut mempunyai peluang untuk dikembangkan sebagai mikroorganisme penghasil enzim glukoamilase.

Aktivitas enzim kapang endofitik HL. 44F dicapai 4197,10 unit dalam skala labu kocok 100 ml dengan pH awal 4,5 dengan aktivitas spesifik sebesar 3226,225 unit/mg

protein. Aktivitas enzim tsb sedikit menurun dibanding ketika menggunakan pH medium awal 4,35 (5452,633 unit). Hasil aktivitas enzim dan aktivitas spesifik setelah melalui filtrasi mengalami peningkatan menjadi 5910,86 unit dan 4983,862 unit/mg protein. Untuk lebih meningkatkan hasil perlu dilakukan optimalisasi medium, pH dan suhu.

KEPUSTAKAAN

- Anonim, 2002. Potensi Ubi Kayu (Singkong) untuk Industri. Departemen Kimia ITB. Protocols of ITB <http://www.itb.ac.id>.
- Agusmanto, 1994. Isolasi dan Seleksi Kapang Amilolitik penghidrolisis tapioka segar. Skripsi Jurusan Biologi FMIPA IPB. Bogor (Tidak dipublikasikan).
- Bajpai D dan Bajpai PK, 1987. High temperature alkaline α -amylase from *Bacillus licheniformis* TCRDC-B13. *Bioeng.* 33: 72–78.
- Borris, Rainer, 1987. Biological Role of Enzymes. In: Rehm HJ and Reed G, eds. *Biotechnology. Vol. VIIa*. UCH, Germany.
- DeMan JM, 1997. Kimia makanan. Penerjemah: Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung.
- Josson L.M, Coronel LM, Mercado BB, De Leon ED, Mesina OG, Lozano AM, dan Bigol MB, 1992. Strain Improvement of *Aspergillus oryzae* for Glucoamylase Production. *Asean Journal on Science and Technology for Development.* 9(1): 101–116.
- Judoamidjojo M, Darwis AA, dan Sa'id EG, 1992. Teknologi Fermentasi. Edisi 1 cetakan 1. Rajawali Press. Jakarta.
- Lowry OH, Rosenbrough N, Farm N, dan Randall R, 1951. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265–275.
- Melliawati R dan Sukara E, 1989. Isolasi dan Karakterisasi Isolat-Isolat Mikroba yang mempunyai potensi Amilolitik. Disampaikan dalam kongres Nasional V Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Yogyakarta, 4–6 Desember 1989.
- Melliawati R dan Sukara E, 1991. Pengaruh sumber pati dan nitrogen terhadap produksi enzim amilolitik oleh khamir *Saccharomycopsis* sp. TJ-1. Simposium Nasional Bioteknologi. Dies Natalis ke-37 UNAIR. Surabaya.
- Melliawati R, Fuad AM, Rachmat J, dan Prayitno NR, 1995. Optimasi dan penggandaan Skala produksi Enzim Amiloglukosidase oleh *Aspergillus* sp. KT-11 pada media ubikayu parut segar. Prosiding, Seminar dan Pameran ilmiah FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor, 155–160.
- Nelson N, 1941. A Photometric Adaptation of the Somogy Method for the Determination of glucose. *J. Biol. Chem.* 153: 375–380.
- Pamatong FU, 1991. Enzymatic production of maltodextrin from cassava starch (MS Thesis, unpublished).
- Rutten R dan Daugulis AJ, 1987. Continuous production of α -amylase by *Bacillus amyloliquefaciens* in a two-stage fermentor. *Biotechnol. Lett.* 9: 505–510

- Smith JE, 1993. Prinsip Bioteknologi. Terjemahan Indonesia. PT Gramedia Pustaka utama. Jakarta.
- Soebiyanto PT, 1986. HFS dan industri ubi kayu lainnya. PT Gramedia. Jakarta.
- Sukara E, Melliawati R, dan Saono S, 1992. Amylases Production from Cassava by an Indigenous Yeast. *Asean Journal on Science and Technology for Development*, 9(1): 157–168.
- Teresita ME dan Richard DT, 1998. Isolation, Screening and Characterization of High Yielding α - amylase Producing Bacteri. *Annual Reports of IC Biotech*. 21: 835–840.
- Whitaker JR, 1972. Principles of Enzymology for the Food Sciences. Marcel Dekker, Inc. New York. 636 pp.
- Wong DSW, 1995. Food Enzymes: Structure and Mechanism. Chapman and Hall. New York.
- Zeikus G dan Jhonson EA, 1991. Mixed cultures in biotechnology, McGraw Hill, Inc.