

PRODUKSI ENZIM INULINASE *Pichia manshurica* DUCC-Y015 DENGAN PENAMBAHAN SUBSTRAT TEPUNG BENGKOANG (*Paschyrrhizus erosus*)

Adzar Rofiqoh¹, Wijanarka², Susiana Purwantisari³

¹Program Studi Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

² Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang

*Email : adzar.rofiqoh@gmail.com

Abstrak

Umbi bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) memiliki kandungan inulin yang cukup tinggi. Inulin tepung bengkoang dapat dijadikan substrat untuk memproduksi enzim inulinase. Enzim inulinase dapat diproduksi oleh *Pichia manshurica* DUCC-Y015. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Pichia manshurica* DUCC-Y015 dalam memproduksi enzim inulinase dengan penambahan beberapa variasi konsentrasi substrat tepung bengkoang dalam medium produksinya. Penentuan aktivitas inulinase dilakukan dengan metode DNS. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu B0 (kontrol), B1 (1 g tepung bengkoang), B2 (3 g tepung bengkoang) dan B3 (5 g tepung bengkoang). Masing – masing perlakuan diulang 3 kali. Aktivitas inulinase masing – masing perlakuan yaitu 0,029 IU/mL, 0,033 IU/mL, 0,053 IU/mL dan 0,015 IU/mL. Penambahan variasi konsentrasi substrat tepung bengkoang dalam medium produksi tidak mempengaruhi aktivitas inulinase *Pichia manshurica* DUCC-Y015.

Kata Kunci: bengkoang, inulinase, khamir Pichia manshurica DUCC-Y015.

Abstract

Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) tubers has a high inulin content. Inulin bengkoang flour can be used as substrate to produce inulinase enzyme. The inulinase enzyme can be produced by *Pichia manshurica* DUCC-Y015. This research aims to determine the ability of *Pichia manshurica* DUCC-Y015 in producing inulinase enzyme with the addition of several variations of substrate concentration of bengkoang flour in its production medium. Determination of inulinase activity was done by DNS method. This research used a Completely Randomized Design (RAL) with 4 treatments: B0 (control), B1 (1 g bengkoang flour), B2 (3 g bengkoang flour) and B3 (5 g bengkoang flour). Each treatment was repeated 3 times. The inulinase activity of each treatment was 0.029 IU/mL, 0.033 IU/mL, 0.053 IU/mL and 0.015 IU/mL. The addition of variation substrate concentration bengkoang flour in the production medium did not affect the inulinase activity of *Pichia manshurica* DUCC-Y015

Kata Kunci: Pachyrhizus erosus, inulinase, Pichia manshurica DUCC-Y015.

PENDAHULUAN

Umbi bengkoang memiliki kandungan gizi yang baik bagi kesehatan, terutama vitamin dan mineral. Bengkoang mengandung inulin cukup tinggi yang

dapat dimanfaatkan dalam industri pangan, obat - obatan dan kosmetik. Saat ini pemanfaatan bengkoang masih sangat terbatas misalnya dikonsumsi umbinya,

dijadikan masker dan sebagai bahan produk kosmetik. Inulin tepung bengkoang dapat dijadikan sebagai substrat untuk memproduksi enzim inulinase menjadi fruktosa. Fruktosa banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam produksi FOS (fruktooligosakarida) sehingga memiliki nilai ekonomi yang lebih tinggi.

Enzim inulinase dapat diisolasi dari tanaman yang mengandung inulin, seperti tanaman bengkoang dan famili Compositae yang lain. Namun dalam memproduksi enzim inulinase, para peneliti lebih banyak memanfaatkan mikroorganisme penghasil inulinase karena pertumbuhan mikroorganisme relatif cepat sehingga enzim yang dihasilkan lebih banyak. Mikroorganisme hanya menggunakan satu tahap reaksi hidrolisis enzimatis inulin yang menghasilkan 95% fruktosa murni (Kaur *et al.*, 2002). Salah satu mikroorganisme yang mampu menghasilkan inulinase yaitu khamir *Pichia manshurica* DUCC-Y015. *Pichia manshurica* DUCC-Y015 merupakan khamir indigenous yang berhasil diisolasi dari umbi dahlia dan mampu menghasilkan enzim inulinase sebesar 0,683 IU (Wijanarka dkk., 2013). Khamir *Pichia manshurica* DUCC-Y015 mampu menghasilkan enzim inulinase dengan diinduksi substrat inulin. Penelitian ini menggunakan tepung umbi bengkoang sebagai sumber inulin. Inulin akan dijadikan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan serta metabolisme sel khamir *Pichia mansuricha* DUCC-Y015. Menurut penelitian (Anggriawan, 2013; Khairina dan Yuanita, 2015) kadar inulin pada 100 g umbi bengkoang segar yang diekstraksi dengan etanol 50% adalah 1,9%. Kadar inulin tersebut lebih tinggi dibandingkan mengekstraksi inulin dalam 100 g umbi dahlia dalam konsentrasi etanol yang sama yaitu hanya didapatkan kadar inulin 0,18%. Berdasarkan latar belakang diatas perlu dilakukan penelitian mengenai peningkatan pemanfaatan umbi bengkoang dalam berbagai bidang. Hal ini bertujuan

agar ketersediaan umbi bengkoang dapat dimanfaatkan secara optimal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor yang dicoba yaitu faktor (B0, B1, B2, dan B3) berupa konsentrasi tepung bengkoang yang berbeda yaitu 0 g/50mL, 1 g/50mL, 3 g/50mL dan 5 g/50mL. Penelitian ini diperlakukan pada medium produksi inulinase *Pichia manshurica* DUCC Y-015. Masing-masing percobaan diulang sebanyak 3 kali.

a. Pembuatan Tepung Umbi Bengkoang

Umbi bengkoang dibersihkan dari kotoran, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikupas dan diiris tipis-tipis. Irisan tersebut dikeringkan dalam oven suhu 80°C. Irisan umbi bengkoang yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga hancur dan disaring dengan ayakan 60 mesh, sehingga dihasilkan serbuk halus atau tepung (Widowati, 2009; Yuliana, dkk., 2014).

b. Peremajaan Kultur *Pichia manshurica* DUCC-Y015

Isolat *Pichia manshurica* DUCC-Y015 ditumbuhkan pada medium inulin agar selama 48 jam pada suhu ruang. Selanjutnya kultur dipindahkan ke dalam medium cair dengan pH 5 sebanyak 50 mL untuk aktivasi awal (prestarter) dan diinkubasi dengan agitasi 120 rpm pada suhu ruang selama. Kultur tersebut adalah inokulum yang dipergunakan untuk pembuatan starter

c. Pembuatan Medium Produksi Enzim

Tepung umbi dahlia sebanyak 3 g dipanaskan dalam 100 mL aquades selama 25 menit. Sebelum dipanaskan untuk perlakuan B1, B2 dan B3 masing-masing ditambahkan 1, 3, dan 5 g tepung bengkoang. Selanjutnya disaring dan ditambahkan dengan 0,23 g NH₄NO₃; 0,37 g (NH₄)₂.HPO₄; 0,1 g K₂HPO₄; 0,05 g MgSO₄.7H₂O dan 0,15 g yeast extract pda pH 5, selanjutnya

disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C 2 atm selama 15 menit.

d. Pembuatan Starter

Satu ose isolat khamir *Pichia manshurica* DUCC Y-015 diinokulasikan ke dalam 50 mL medium produksi steril, kemudian diagitasi dengan rotary shaker berkecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 10 jam (T: 27-28°C) sehingga didapatkan kultur dengan kepadatan 1×10^7 sel/mL.

e. Petumbuhan sel

Kultur dari starter diambil sebanyak 5% (v/v) dan diinokulasikan pada masing-masing medium produksi dengan berbagai konsentrasi tepung bengkoang yaitu 0 g/50mL (B0); 1 g/50mL (B1); 3 g/50mL (B2); 5 g/50mL (B3), kemudian diagitasi dengan rotary shaker berkecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Pengambilan kultur dilakukan setiap 6 jam untuk mengukur pertumbuhan sel secara langsung dengan metode turbidimetri. Pertumbuhan sel ditentukan dengan mengukur nilai *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometer pada 520 nm.

f. Produksi Enzim

Produksi enzim inulinase dilakukan dengan cara starter diambil sebanyak 5% (v/v) dan diinokulasikan pada masing-masing medium produksi dengan berbagai konsentrasi tepung bengkoang, yaitu 0 g/50mL (B0); 1 g/50mL (B1); 3 g/50mL (B2); 5 g/50mL (B3), kemudian di agitasi dengan rotary shaker berkecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Pemanenan enzim dilakukan dengan cara pengambilan kultur setiap 6 jam. Sampel kultur yang diambil disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh merupakan crude enzim yang digunakan untuk uji aktivitas enzim.

g. Pengukuran Aktivitas Enzim (Xiao, et. al.1998; Widjanarka dkk., 2006a).

Pengukuran aktivitas enzim meliputi aktivitas inulinase dan invertase sehingga akan diketahui rasio I/S. Aktivitas inulinase dan invertase dianalisis dengan metode DNS dan ditentukan berdasarkan sejumlah 1 μ mol gula reduksi yang dibebaskan per menit pada kondisi tertentu. Gula reduksi diukur dengan cara menghitung absorbansi enzim substrat (ES) dikurangi dengan absorbansi substrat (S) dan enzim (E), sehingga diperoleh rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{(AbsES - AbsS - AbsE) \text{fruktosa} \times P \times 1000}{BM \times t}$$

Keterangan :

Abs ES	= absorbansi enzim substrat
Abs E	= absorbansi enzim
Abs S	= absorbansi substrat
BM	= berat molekul fruktosa (180,1 g/mol)
P	= pengenceran
T	= waktu inkubasi

1. Aktivitas Inulinase

Penentuan aktivitas inulinase dilakukan dengan cara menyiapkan 3 tabung untuk diisi campuran yang berbeda. Tabung pertama (ES) berisi 0,5 mL substrat inulin, 0,4 buffer dan 0,1 mL crude enzim. Tabung kedua (S) berisi 0,5 mL substrat inulin dan 0,4 mL buffer dan 0,1 mL akuades. Tabung ketiga (E) berisi 0,4 mL buffer, 0,1 mL crude enzyme dan 0,5 mL akuades. Satu tabung sebagai blanko diisi 0,4 mL buffer dan 0,6 mL akuades.

Masing-masing tabung diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50°C. Reaksi dihentikan dengan memasukkan tabung sampel kedalam air mendidih selama 5 menit dan setelah dingin ditambahkan reagen DNS (sebanyak) 1 mL. Selanjutnya dipanaskan kedalam air mendidih

selama 10 menit dan setelah dingin ditambahkan dengan 5 mL akuades. Setiap sampel larutan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada 570 nm. Aktivitas inulinase ditentukan berdasarkan sejumlah 1 μ mol gula reduksi yang dibebaskan per menit pada kondisi tertentu.

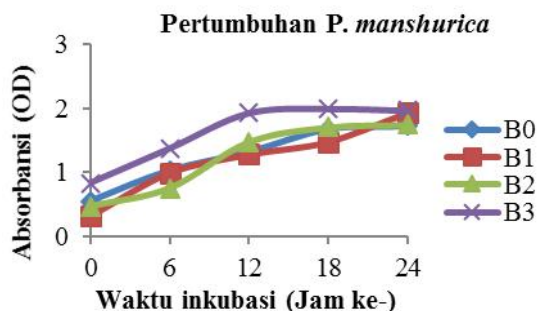
2. Aktivitas Invertase

Penentuan aktivitas invertase dilakukan sama seperti pada penentuan aktivitas inulinase, hanya saja yang berbeda adalah substratnya. Substrat yang digunakan adalah larutan sukrosa 1 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada medium produksi

Pertumbuhan *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada medium produksi dengan penambahan tepung bengkoang berbagai dosis 0 g (B0), 1 g (B1), 3 g (B2), dan 5 g (B3) yang diamati setiap 6 jam ditunjukkan oleh kurva pertumbuhan seperti Gambar 4.1.



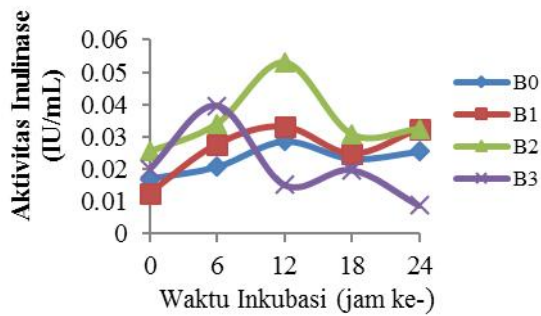
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan *Pichia manshurica* DUCC-Y015 dalam medium produksi pada inkubasi 24 jam.

Grafik pertumbuhan menunjukkan tidak adanya fase lag. Hal ini dikarenakan starter yang digunakan untuk produksi enzim berada pada fase logaritmik. Menurut Lunggani dkk., (2010), jika penggunaan starter berada pada fase logaritmik maka pertumbuhan sel pada medium produksi juga langsung memasuki fase logaritmik. Pertumbuhan khamir *Pichia manshurica*

DUCC-Y015 saat inkubasi 0 hingga 12 jam pada seluruh perlakuan baik kontrol maupun dengan penambahan tepung bengkoang langsung memasuki fase logaritmik. Selama fase ini pembelahan sel yang terjadi sangat cepat, dengan konsumsi nutrisi besar yang akan digunakan untuk berbagai proses metabolik serta perkembangan struktur sel (Waluyo, 2004). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Haris *et al.*, (2002) yaitu pada fase logaritmik pertumbuhan sel berlangsung cepat, dan selama fase ini konsentrasi nutrisi yang tersedia akan terus menurun karena telah dimanfaatkan oleh mikroba dalam proses metabolismenya. Setelah melewati inkubasi 12 jam kultur mulai memasuki fase stasioner, karena pada tahap ini kecepatan pembelahan sel mulai tetap. Hal ini terlihat dari nilai densitas optik (OD) relatif tidak menunjukkan peningkatan nyata. Pertumbuhan menyebabkan penambahan jumlah sel yang berakibat pada peningkatan kekeruhan dalam medium kultur yang mengakibatkan peningkatan OD.

Aktivitas Inulinase *Pichia manshurica* DUCC-Y015

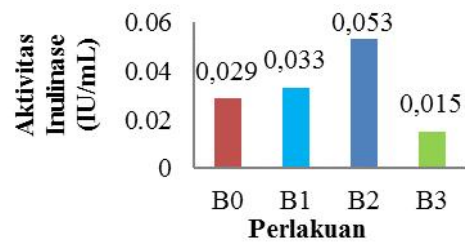
Aktivitas inulinase yang diukur pada seluruh medium produksi dengan perlakuan penambahan variasi konsentrasi substrat tepung bengkoang ditunjukkan pada Gambar 4.2. Aktivitas inulinase cenderung meningkat walaupun pada saat inkubasi 18 jam mengalami penurunan dan naik kembali pada inkubasi 24 jam. Pada waktu inkubasi 6 jam hingga 12 jam kultur *Pichia manshurica* DUCC-Y015 berada pada akhir fase log dengan jumlah sel yang tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Souza-Motta *et al.*, (2005) menunjukkan aktivitas enzim inulinase yang tinggi berlangsung pada fase logaritmik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brock dan Madigan (1994) bahwa enzim digolongkan sebagai metabolit primer yang biasanya disintesis pada fase pertumbuhan logaritmik.



Gambar 4.2 Kurva aktivitas inulinase kultur *Pichia manshurica* DUCC-Y015 dalam medium produksi pada inkubasi 24 jam

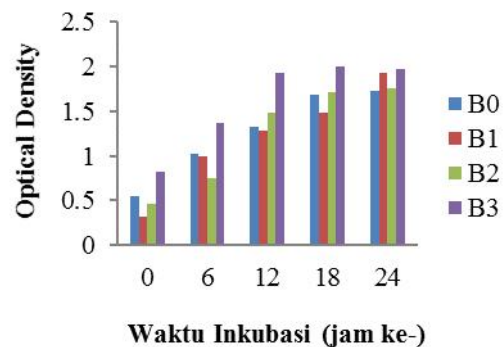
Aktivitas inulinase meningkat nyata pada masa inkubasi 0 - 12 jam (Gambar 4.2), menunjukkan bahwa sel aktif menggunakan inulin sebagai sumber C dengan menghasilkan enzim inulinase. Hal ini dapat dimengerti karena pada masa inkubasi 0 - 12 jam, kultur *Pichia manshurica* DUCC-Y015 masih berada pada fase log dan dilanjutkan dengan masa inkubasi 12-24 jam sudah mulai memasuki fase stasioner dengan pertumbuhan yang tidak terlalu tinggi (Gambar 4.1). Pada fase log sel mempunyai kecepatan membelah tertinggi, sehingga menyebabkan konsumsi nutrisi yang tinggi. Pengamatan produksi enzim inulinase oleh kultur *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada medium perlakuan dilakukan pada waktu inkubasi 12 jam. Inulinase merupakan enzim ekstraseluler yang diekskresikan ke lingkungan sekitar, sehingga penghitungan produksi enzim diukur melalui supernatan medium.

Aktivitas inulinase kultur *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada medium perlakuan yang diamati pada masa inkubasi 12 jam ditunjukkan oleh diagram batang seperti Gambar 4.3 dibawah ini.



B0 = 0 g Tepung Bengkoang
B1 = 1 g Tepung Bengkoang
B2 = 3 g Tepung Bengkoang
B3 = 5 g Tepung Bengkoang

Gambar 4.3 Aktivitas inulinase *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada berbagai konsentrasi tepung bengkoang.



B0 = 0 g Tepung Bengkoang
B1 = 1 g Tepung Bengkoang
B2 = 3 g Tepung Bengkoang
B3 = 5 g Tepung Bengkoang

Gambar 4.4. Densitas optik *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada berbagai konsentrasi tepung bengkoang

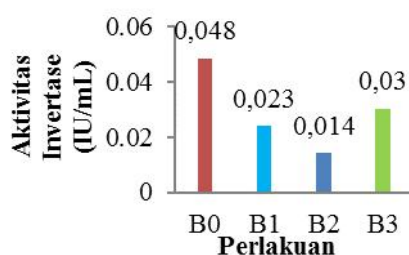
Aktivitas inulinase pada perlakuan B1 dan B2 lebih tinggi dari kontrol. Pada perlakuan B3 aktivitas inulinase lebih rendah dari kontrol atau cenderung menurun selama pengamatan (Gambar 4.3). Populasi sel yang digambarkan dengan nilai densitas optik selama masa inkubasi 24 jam dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Hasil analisis sidik ragam (Anova) memperlihatkan bahwa perlakuan penambahan substrat tepung bengkoang tidak berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas inulinase. Aktivitas enzim

inulinase pada perlakuan B3 semakin menurun. Hal ini dikarenakan semakin tinggi dosis tepung bengkoang menyebabkan peningkatan viskositas sehingga sel khamir membutuhkan waktu lebih lama untuk mensintesis enzim yang berperan dalam katabolisme inulin. Menurut Saropah dkk., (2012), penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi enzim. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi enzim meskipun konsentrasi substrat diperbesar. Kecepatan reaksi akan terus meningkat dengan nilai yang semakin kecil hingga mencapai titik batas dimana enzim jenuh dengan substrat. Kondisi enzim menjadi jenuh dengan substrat berarti sisi aktif enzim yang semula sangat sensitif terhadap substrat yang kompatibel, pada akhirnya menjadi reaktif karena terjadi penurunan fungsi. Besar dosis substrat berhubungan dengan kompleks enzim substrat yang terbentuk dan berpengaruh terhadap kecepatan reaksi enzim (Lehninger, 1982).

Aktivitas Enzim Invertase *Pichia manshurica* DUCC-Y015

Enzim invertase merupakan enzim yang dihasilkan juga dalam hidrolisis rantai karbon pada bagian ujung dari inulin menjadi fruktosa dan glukosa. Santos, *et al.* (2007) menyatakan bahwa enzim invertase pada larutan sukrosa konsentrasi tinggi mensintesis trisakarida nonreduktor dan monosakarida reduktor (D-glukosa dan D-fruktosa).



B0 = 0 g Tepung Bengkoang
B1 = 1 g Tepung Bengkoang
B2 = 3 g Tepung Bengkoang
B3 = 5 g Tepung Bengkoang

Gambar 4.5 Aktivitas invertase *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada berbagai konsentrasi tepung bengkoang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada inkubasi 12 jam, perlakuan B0 memiliki aktivitas invertase tertinggi dan perlakuan B2 memiliki aktivitas invertase paling rendah (Gambar 4.5). Masing-masing pencapaian aktivitas inulinase yang tinggi diikuti penurunan aktivitas invertase disebabkan adanya penghambatan represi dari tingginya aktivitas inulinase yaitu aktivitas inulinase akan meningkat saat aktivitas invertase mengalami penurunan. Menurut Pelczar & Chan (2004) pengendalian suatu enzim dapat terjadi secara genetik yang melibatkan induksi dan represi dalam mekanisme sintesisnya. Induksi terjadi apabila sintesis enzim membutuhkan induser berupa substrat atau senyawa yang sekerabat dengan substrat dari reaksi yang dikatalisis oleh enzim yang bersangkutan. Sebaliknya represi terjadi apabila substansi baik produk maupun senyawa-senyawa yang sekerabat bagi reaksi yang bersangkutan berlaku sebagai korepresor dengan cara mencegah sintesis enzim tersebut.

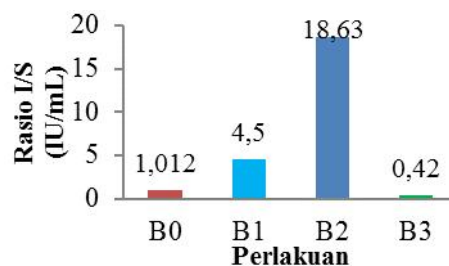
Aktivitas invertase pada medium standar (B0) menunjukkan nilai tertinggi diantara perlakuan yang lain. Hal ini mungkin disebabkan oleh kandungan inulin tepung bengkoang dalam medium dapat menekan aktivitas invertase. Aktivitas invertase pada perlakuan B1, B2 dan B3 cenderung rendah (Gambar 4.5). Hasil analisis sidik ragam (Anova) terhadap aktivitas invertase *Pichia manshurica* DUCC-Y015 (Tabel L.4.2) memperlihatkan bahwa perlakuan penambahan substrat tepung bengkoang tidak berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas invertase (Gambar 4.5). Aktivitas invertase tertinggi justru diperoleh dari perlakuan kontrol tanpa penambahan tepung bengkoang. Hal tersebut diduga karena adanya tambahan tepung bengkoang pada perlakuan B1 dan B2

cenderung meningkatkan aktivitas inulinase sehingga aktivitas invertase ditekan. Ada kecenderungan bahwa saat aktivitas inulinase rendah maka aktivitas invertase semakin tinggi mengingat bahwa khamir dalam mensintesis enzim berdasarkan kebutuhan dan disesuaikan dengan nutrisi yang tersedia dalam medium. Nakamura *et al.* (1995) menyatakan bahwa enzim inulinase diketahui menghambat aktivitas invertase. Kondisi ini terjadi pada perlakuan B0 dan B3, dimana aktivitas inulinase dari kedua perlakuan cenderung lebih rendah dari perlakuan yang lain sehingga aktivitas invertasinya lebih tinggi. Menurut Saropah dkk., (2012), penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi enzim. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi enzim meskipun konsentrasi substrat diperbesar.

Aktivitas invertase dari *Pichia manshurica* DUCC-Y015 terjadi selama pertumbuhan mikroorganisme karena invertase termasuk metabolit primer. Berdasarkan penelitian Rouwenhorst *et al.* (1990), menunjukkan bahwa inulinase dan invertase dapat dihasilkan oleh satu jenis mikroorganisme yang sama pada saat yang bersamaan.

Rasio I/S *Pichia manshurica* DUCC-Y015

Rasio I/S digunakan untuk mengetahui tingkat aktivitas katalitik suatu enzim. Nilai rasio I/S tergantung pada nilai aktivitas inulinase (I) maupun nilai invertase (S). Rasio I/S juga digunakan untuk mengetahui hubungan aktivitas relatif antara inulin dan sukrosa. Ohta *et al.*, (2004) menyatakan bahwa karakteristik inulinolitik enzim dapat dilihat dari perbandingan aktivitas inulinase dengan aktivitas invertase.



B0 = 0 g Tepung Bengkoang
B1 = 1 g Tepung Bengkoang
B2 = 3 g Tepung Bengkoang
B3 = 5 g Tepung Bengkoang

Gambar 4.6 Rasio I/S *Pichia manshurica* DUCC-Y015 pada berbagai konsentrasi tepung bengkoang

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada inkubasi 12 jam rasio I/S tertinggi pada perlakuan B2. Hasil yang tinggi ini mungkin disebabkan oleh kandungan tepung bengkoang 3 g yang menyebabkan peningkatan sintesis enzim inulinase sehingga nilai rasio I/Snya paling tinggi diantara perlakuan yang lain. Nilai rasio I/S tertinggi pada perlakuan B2 yaitu 18,63 IU/mL menunjukkan aktivitas katalitik enzim tertinggi. Hal ini untuk menunjukkan bahwa aktivitas enzim untuk mendegradasi inulin pada *Pichia manshurica* DUCC-Y015 lebih didominasi oleh enzim inulinase. Hal ini sesuai dengan pendapat Sing & Chauhan (2003) yang menyatakan bahwa rasio I/S lebih dari 10^{-2} maka enzim tersebut termasuk inulinase, sedangkan jika rasio I/S kurang dari 10^{-4} maka enzim tersebut termasuk invertase. Semakin tinggi rasio I/S semakin baik aktivitas katalitik enzim tersebut (Rouwenhorst, 1990). Hasil analisis sidik ragam (Anova) terhadap rasio I/S menunjukkan bahwa semua perlakuan baik kontrol dan penambahan tepung bengkoang tidak berpengaruh nyata pada rasio I/S karena nilai F hitung lebih kecil dari F tabel ($1,139 < 4,07$).

KESIMPULAN

Penambahan variasi konsentrasi substrat tepung bengkoang dalam medium produksi dari seluruh perlakuan B0, B1,

B2 dan B3 tidak mempengaruhi aktivitas inulinase *Pichia manshurica* DUCC-Y015.

DAFTAR PUSTAKA

- Brock, T. D, M. T. Madigan, J.M. Martinko & J. Parker. 1994. *Biology of Microorganism*. 7th edition. Prentice-Hall International Inc. Wisconsin.
- Harris, L.G., S.J. Foster & R.G. Richard. 2002. An Introduction to *Staphylococcus aureus*, and Techniques for Identifying and Quantifying *S. aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials. Review *Journal European Cells and Materials*. Vol. 4
- Kaur, N., Gupta, K. 2002. Applications of Inulin and Oligofructose in Health and Nutrition. *J Biosci* 27: 703–714.
- Khairina, Anggi dan Yuanita, Leny. 2015. Pengaruh Variasi Lama Penyimpanan Umbi Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Rattus norvegicus. Surabaya: UNESA *Journal of Chemistry* Vol. 4, No. 1.
- Lehninger, Albert L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*, Jilid 1. Erlangga. Jakarta.
- Lunggani, Arina Tri, Wijanarka, Endang K. 2010. Optimasi Produksi Inulinase isolat P 12 pada Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Wild) dengan Variasi Konsentrasi Nitrogen Organik dan Waktu Inkubasi. *Jurnal Bioma*. Vol. 12, No. 1, Hal. 20-23.
- Nakamura, T., Y. Ogata, A. Shitasa, A. Nakamura dan K. Ohta. 1995. Continuous Production of Fructose Syrups from Inulin by Immobilized Inulinase from *Aspergillus niger* Mutan 817. *J. Ferm. Bioeng.*, 80 (2): 164-169.
- Ohta, K., H. Akimoto and S. Moriyama. Fungal Inulinase: Enzymology, Molecular Biology and Biotechnology. *J. Appl. Glycosci.*, 51, 247- 254.
- Pelczar. M.J. and Chan E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Terjemahan: Ratna Siri H, T. Imas, S.S. Tjitrosomo, dan Sri Lestari Angka. Jakarta: UI press.
- Rouwenhorst, R.J., M. Hensing, J. Verbakel, W.A Scheffers & J.P.V. Dijken. 1990. Structure & Properties of The Extracellular Inulinase of *Kluyveromyces marxianus*. *Journal Appl. & Envir. Microbiology*. The Netherlands. p: 3337-3345
- Santos, A. M. P and F. Maugeri. 2007. Synthesis of Fructooligosaccharides from Sucrose Using Inulinase from *Kluyveromyces marxianus*. *J. Food Technol and Biotechnol*. Vol 45 (2):181-189.
- Saropah, Dyah Ayu, A. Jannah dan A. Maunatin. 2012. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar enzim selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. *J. Alchemi*. Vol. 2 No. 1. hal 34-45
- Sing, Ram Sarup dan Chauhan, Kanika. 2016. Production, Purification, Characterization and Applications of Fungal Inulinases. *Review Article: Current Biotechnology*
- Souza-Motta, C. M., M. A. Q. Cavalcanti, A. L. F. Porto, K. A. Moreira and J. L. L. Filho. 2005. *Aspergillus niveus* Blochwitz 4128URM: New Source for Inulinase Production. *J. Braz. Achiev. Biol. Tech*. Vol. 48, n. 3: p. 343-350.
- Yuliana, Rida, E. Kusdiyantini, dan M. Izzati. 2014. Potensi Tepung Umbi Dahlia Dan Ekstrak Inulin Dahlia Sebagai Sumber Karbon Dalam Produksi Fruktooligosakarida (FOS) Oleh Khamir *Kluyveromyces*

- marxianus* DUCC-Y-003. *Bioma*: Vol. 16, No. 1, Hal. 39-49.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah Press. Malang.
- Wijanarka, E. Kusdiyantini dan H. Pancasakti. 2006a. Paket Teknologi Eksplorasi Khamir Inulinolitik. Thermostabil Umb Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd) Jawa Tengah melalui Teknik Fusi Protoplas dan Aplikasinya pada Produksi High Fructose Syrup (HFS). *Laporan Hasil Pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing Perguruan Tinggi XIV Tahun nggaran 2006*.
- Wijanarka, Sutariningsih, E., Dewi, K., Indrianto, A. 2013. Aktivasi Inulinase oleh *Pichia manshurica* dan Fusan F4 Pada Fermentasi Batch dengan Umbi Dahlia (*Dahlia sp*) sebagai Substrat. *Jurnal Reaktor*. Vol. 14, No. 3.