



## **PRODUKSI ENZIM INVERTASE OLEH SACCHAROMYCES CEREVISIAE MENGUNAKAN SUBSTRAT GULA DENGAN SISTEM FERMENTASI CAIR**

**Argadenta Adi Prabawa, Emil Hanityo Utomo, Prof. Dr. Ir. Abdullah, MS.\*)**

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP Semarang Jl. Prof. Sudarto, SH

Kampus Tembalang, Semarang 50236, Telp/Fax: (024)7460058

### **Abstract**

*Sugar is one of simple carbohydrates that act as source of primary energy and popular commodity trading. Sugar most widely traded in the form of crystalline solid sucrose. The addition of sucrose in the media serves as a carbon source. The purpose of this study was to produce the invertase enzyme, Assessing the impact of substrate concentration and nitrogen source on the production of invertase, and establish optimum conditions for production of the invertase enzyme. In this study the method used is a liquid fermentation systems. Research carried out in erlenmeyer with fixed variables, among other nutrients in the media (MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mg and 2.3 mg), fermentation temperature of 30°C, fermentation pH 4.5 and within 48 hours and media were incubated in an incubator Secker . The variables changed in this study is the concentration of sucrose, among others, 100; 125; and 150 g / L and the concentration of N sources, including 2.6; 3.2, and 3.8 g / L. The results of fermentation was separated by centrifugation to obtain the invertase enzyme, then the protein levels were analyzed by the Lowry's method and enzyme activity were tested using the method of DNS (3,5-dinitrosalicylic acid). The experimental results showed that sugar substrates can be used to produce the invertase enzyme by Saccharomyces cerevieae with protein levels of 5.309 mg / L and the resulting enzyme activity 0.05916 mmol / L.minute. The most optimum enzyme activity is achieved at a concentration of sucrose and nitrogen sources are sufficient (125 g / L and 3.2 g / L).*

Key words: invertase enzyme, glucose, Saccharomyces cerevieae, liquid fermentation systems.

### **Abstrak**

*Gula adalah suatu karbohidrat sederhana yang menjadi sumber energi dan komoditi perdagangan utama. Gula paling banyak diperdagangkan dalam bentuk kristal sukrosa padat. Penambahan sukrosa dalam media berfungsi sebagai sumber karbon. Tujuan penelitian ini adalah untuk memproduksi enzim invertase, Mengkaji pengaruh konsentrasi substrat dan sumber nitrogen terhadap produksi invertase, dan menetapkan kondisi optimum produksi enzim invertase. Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah sistem fermentasi cair. Penelitian dilakukan dalam erlenmeyer dengan variabel tetap, antara lain nutrien dalam media (*

\*) Penulis Penanggung Jawab (Email: [abd\\_busairi@yahoo.com](mailto:abd_busairi@yahoo.com))

*MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,5 mg dan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,3 mg), suhu fermentasi 30°C, pH fermentasi 4,5 dan dalam waktu 48 jam serta media diinkubasi di dalam inkubator secker. Variabel berubah pada penelitian ini adalah konsentrasi sukrosa, antara lain 100; 125; dan 150 g/L dan konsentrasi sumber N, antara lain 2,6; 3,2; dan 3,8 g/L. Hasil fermentasi dipisahkan dengan cara sentrifugasi untuk memperoleh enzim invertase, kemudian kadar proteinnya dianalisa dengan metode Lowry dan aktivitas enzimnya diuji menggunakan metode DNS (3,5-dinitrosalicylic acid). Hasil percobaan menunjukkan bahwa substrat gula dapat digunakan untuk memproduksi enzim invertase oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan kadar protein 5,309 mg/L dan aktivitas enzim yang dihasilkan 0,05916 mmol/L.menit. Aktivitas enzim paling optimum dicapai pada konsentrasi sukrosa dan sumber nitrogen yang cukup (125 g/L dan 3,2 g/L).*

Kata kunci: enzim invertase, gula, *Saccharomyces cerevisiae*, sistem fermentasi cair.

## **I. PENDAHULUAN**

Enzim telah lama digunakan pada berbagai macam sektor industri, utamanya pada industri makanan. Enzim juga digunakan pada industri detergen, farmasi, dan tekstil. Sekitar 2000 enzim telah ditemukan. Enzim invertase diproduksi oleh bakteri, fungi, tumbuhan tingkat tinggi, dan beberapa sel hewan. Salah satunya adalah ragi *Saccharomyces cerevisiae*.

Enzim invertase banyak digunakan dalam industri fermentasi karena berfungsi sebagai katalis dalam hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (gula invert/gula pereduksi). Kemampuan enzim dalam mengkatalisis reaksi kimia dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat.

Pemanfaatan enzim invertase juga banyak dilakukan dalam industri makanan dan minuman khususnya pada pengolahan selai, permen, produk gula-gula, dan produksi asam laktat dari fermentasi sirup tebu (Acosta dkk., 2000). Invertase juga digunakan untuk memproduksi etanol dari sukrosa sebagai sumber karbon (Lee Huang, 2000). *Saccharomyces cerevisiae* mampu untuk memproses berbagai jenis karbohidrat sebagai sumber energi. Termasuk glukosa, sukrosa, dan maltosa. Sukrosa tersedia melalui tebu atau gula beet, sedangkan glukosa dan gula lain harus disiapkan menggunakan enzim atau hidrolisa kimia dari pati. Diharapkan pada penelitian produksi enzim invertase dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan konsentrasi substrat dan nutrient sebagai variabel ini akan didapatkan data mengenai pengaruh konsentrasi substrat dan penambahan konsentrasi sumber nitrogen terhadap yield invertase yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi enzim invertase dari substrat gula pasir

dengan menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae*, mengkaji pengaruh konsentrasi substrat dan sumber nitrogen terhadap produksi invertase, serta menetapkan kondisi optimum produksi invertase oleh *Saccharomyces cerevisiae* .

## **II. METODOLOGI**

Untuk memproduksi enzim invertase dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* dengan substrat gula dilakukan beberapa tahapan berikut:

### **1. Penyiapan bahan baku**

Bahan baku berupa gula pasir digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan mikroba. Gula tersebut dilarutkan pada aquadest pada variabel konsentrasi 100, 125, dan 150 gr/ml lalu ditambahkan sumber nitrogen berupa ammonium sulfat dengan konsentrasi 2,6; 3,2; dan 3,8 gr/l. Media ini kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

### **2. Strain**

Strain yang digunakan adalah ragi jenis *Saccharomyces cereviceae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro dalam bentuk agar miring dan disimpan dalam lemari pendingin sebelum penggunaan. *Saccharomyces cerevieae* diperbanyak dengan memindahkan ke strain ke dalam media agar PDA dan diinkubasi selama 120 jam pada suhu 30°C.

### **3. Penyiapan inokulum**

Inokulum disiapkan dengan mengambil sedikit mikroba yang dipindahkan dari media agar miring ke media pembiakan yang telah disterilisasi dengan menggunakan kawat inokulasi ke dalam cawan petri secara aseptik. inokulum ini diinkubasi pada 30°C selama 120 jam.

### **4. Produksi enzim invertase**

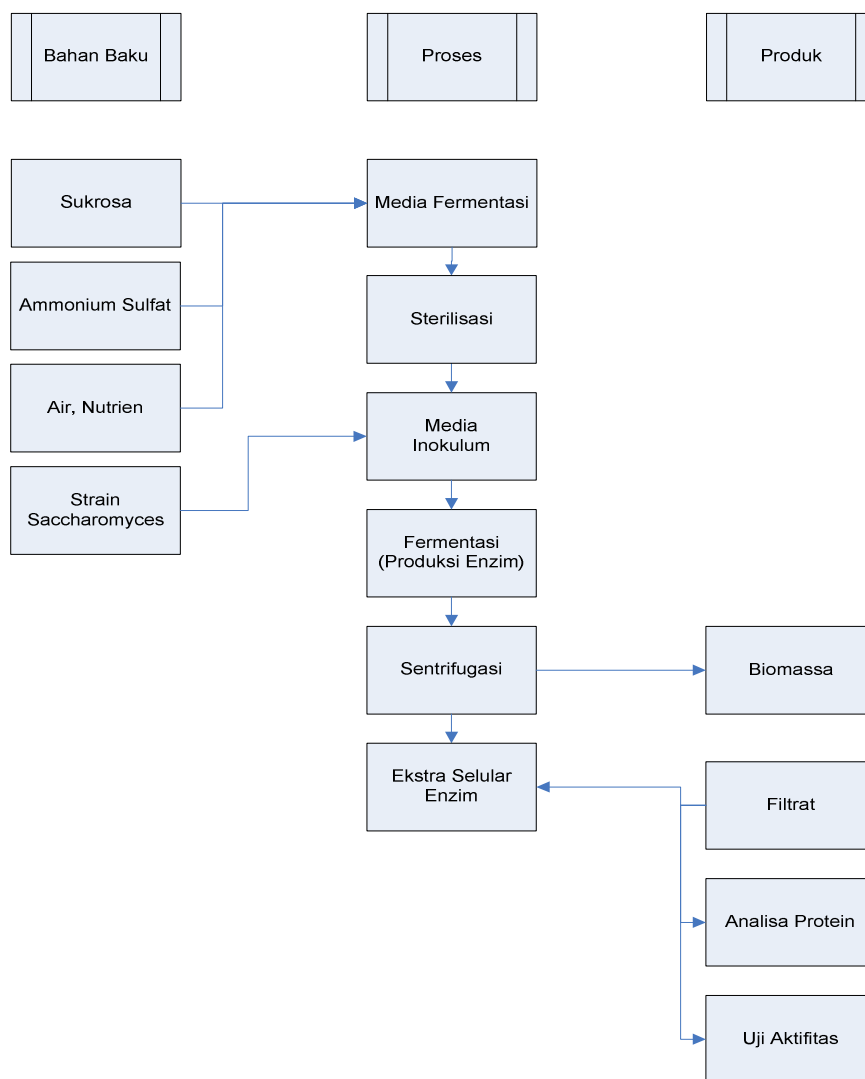
Produksi enzim invertase dilakukan dengan mencampur larutan substrat gula pasir dengan nutrien yang ada pada media dan diinokulasi dengan inokulum. Media kemudian diinkubasi pada 30°C dengan waktu 48 jam.

### **5. Pengambilan enzim**

Proses pengambilan enzim dilakukan dengan memisahkan filtrate dan padatan hasil proses menggunakan centrifuge. Filtrat yang diperoleh kemudian, siap diuji aktivitas enzim dan kandungan proteinnya.

#### 6. Analisa hasil

Analisa protein dilakukan dengan metode Lowry dengan menggunakan larutan BSA. Untuk mengetahui aktivitas enzim yang dilakukan uji aktivitas melalui penambahan 1ml sampel dengan sukrosa sebanyak 1% yang kemudian diinkubasi selama 1 jam pada 30°C lalu dianalisa dengan menggunakan DNS (3,5-dinitrosalicylic acid).



**Gambar 1. Bagan alur proses penelitian produksi enzim invertase**

Pada penelitian ini digunakan dua variabel yaitu konsentrasi substrat dan konsentrasi sumber nitrogen. Adapun rancangan percobaan yang digunakan adalah faktorial dua level yang disajikan pada table 1:

**Tabel 1. Variabel yang digunakan pada penelitian**

Run	Variabel	
	Konsentrasi substrat	Konsentrasi sumber nitrogen (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
1	100 gr/L	2,6 gr/L
2	150 gr/L	3,8 gr/L
3	100 gr/L	3,8 gr/L
4	150 gr/L	2,6 gr/L
5	125 gr/L	3,2 gr/L

Kondisi yang dipertahankan tetap adalah meliputi komposisi nutrisi dalam media yaitu MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 5 mg; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,3 mg; Suhu fermentasi 30°C; pH fermentasi 4,5 selama 48 jam

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### III.1. Pengaruh konsentrasi gula dan sumber N terhadap produksi invertase

Penelitian ini dilakukan dengan variabel tetap MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O sebanyak 5 mg; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> sebanyak 2,3 mg pada suhu fermentasi 30°C dan pH fermentasi 4,5 selama dua hari. Pengaruh konsentrasi gula dan nutrient ammonium sulfat terhadap hasil uji kandungan protein dan aktifitas enzim disajikan pada Table 2:

**Tabel 2. Hasil analisa produk enzim dalam berbagai variabel**

Run	Variabel		Kandungan Protein (mg/L)	Kandungan Glukosa (mg/L)	Aktivitas Enzim (mmol/L menit)
	Sukrosa (g/L)	Amonium Sulfat (g/L)			

1	100	2,6	1,927	361	$3,342.10^{-2}$
2	150	3,8	14,509	583	$5,398.10^{-2}$
3	100	3,8	4,655	28	$2,592.10^{-3}$
4	150	2,6	17,055	389	$3,602.10^{-2}$
5	125	3,2	5,309	639	$5,916.10^{-2}$

Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa pada run 4 dengan konsentrasi ammonium sulfat yang rendah (2,6 g/L) dan konsentrasi substrat yang tinggi (150 g/L) menghasilkan kadar protein terbesar (17,055 mg/L) dimana hal tersebut dibuktikan bahwa enzim invertase yang terbentuk paling banyak jika dibandingkan dengan jumlah protein paling sedikit terbentuk pada run 1. Pada run 1 dengan konsentrasi gula dan sumber nitrogen yang rendah (100 g/L dan 2,6 g/L) dalam keadaan dimana sumber karbon menjadi terbatas dalam medium, yaitu jumlah substrat yang rendah, asam amino (protein) digunakan sebagai sumber karbon, sehingga terjadi akumulasi ammonia yang menyebabkan jumlah ion ammonium terlalu banyak dan menghambat sintesis metabolit sekunder. Sehingga, mengakibatkan jumlah enzim yang dihasilkan lebih sedikit. (Shapiro, 1989)

Sedangkan pada run 2 dimana konsentrasi kedua nutrient tinggi (150 g/L gula dan 3,8 g/L ammonium sulfat), didapatkan jumlah enzim yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan run 1, hal ini disebabkan karena penurunan pertumbuhan ragi yang dikarenakan terjadinya dehidrasi sel. (Demain, 1982, 1989); (Heim et al, 1984).

Pada run 3, kandungan nitrogen yang tinggi (3,8 g/L) akan memicu terjadinya fermentasi anaerobic pada media, dimana kandungan glukosa yang dimiliki diubah menjadi pyruvat sehingga didapatkan kandungan glukosa yang paling sedikit. (Alexander & Jeffries 1990).

Apabila dibandingkan dengan run 4, pada run 5 dengan konsentrasi gula dan sumber nitrogen yang cukup (125 g/L dan 3,2 g/L) didapatkan tingkat aktivitas enzim invertase yang paling tinggi walaupun jumlah enzim yang diproduksi sedikit (5,309 mg/L).

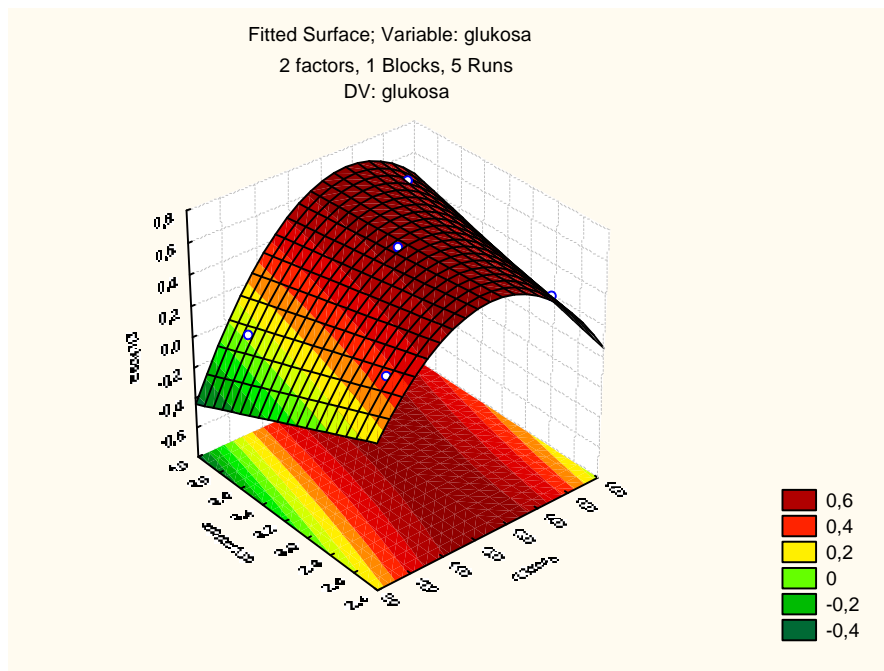
### III.2. Optimasi kondisi operasi produksi invertase

#### III.2.1. Pengaruh kadar sukrosa dan sumber nitrogen terhadap aktivitas enzim

Penentuan kondisi optimum operasi dengan dilakukan menggunakan RSM dengan mengolah data secara statistik. Hasil yang diperoleh disajikan pada Table 3 dan gambar 2:

**Tabel 3. Estimasi efek utama kuadrat dan linier (aktivitas enzim)**

	Effect	Coeff.
Mean/Interc.	0,639000	0,639000
(1)sukrosa (L)	0,291500	0,145750
sukrosa (Q)	-0,597500	-0,298750
(2)ammonium(L)	-0,069500	-0,034750
1L by 2L	0,263500	0,131750



**Gambar 2. Permodelan 3-Dimensi Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Sumber Nitrogen terhadap Aktivitas Enzim**

Berdasarkan pada table 3, pengaruh konsentrasi sukrosa dan konsentrasi sumber nitrogen dimisalkan lewat persamaan (1) :

$$Y = 0,639000 + 0,145750x_1 - 0,034750x_2 + 0,131750x_1x_2 - 0,298750x_1^2 \quad (1)$$

Dari persamaan 1 dapat disimpulkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi sukrosa maka aktifitas enzim yang dihasilkan bertambah tinggi secara linear, sedangkan penambahan sumber nitrogen tidak terlalu berpengaruh terhadap aktifitas enzim yang dihasilkan. Hal ini dapat dilihat dari koefisien pada konsentrasi sukrosa (L) bertanda positif dan nilainya besar, sedangkan koefisien pada konsentrasi sumber ammonium bertanda negative dan nilainya kecil.

Hal tersebut disebabkan oleh kandungan nitrogen yang berlebih akan memicu terjadinya fermentasi anaerobic pada media, dimana kandungan glukosa yang dimiliki diubah menjadi pyruvat sehingga didapatkan nilai aktivitas enzim yang paling rendah.

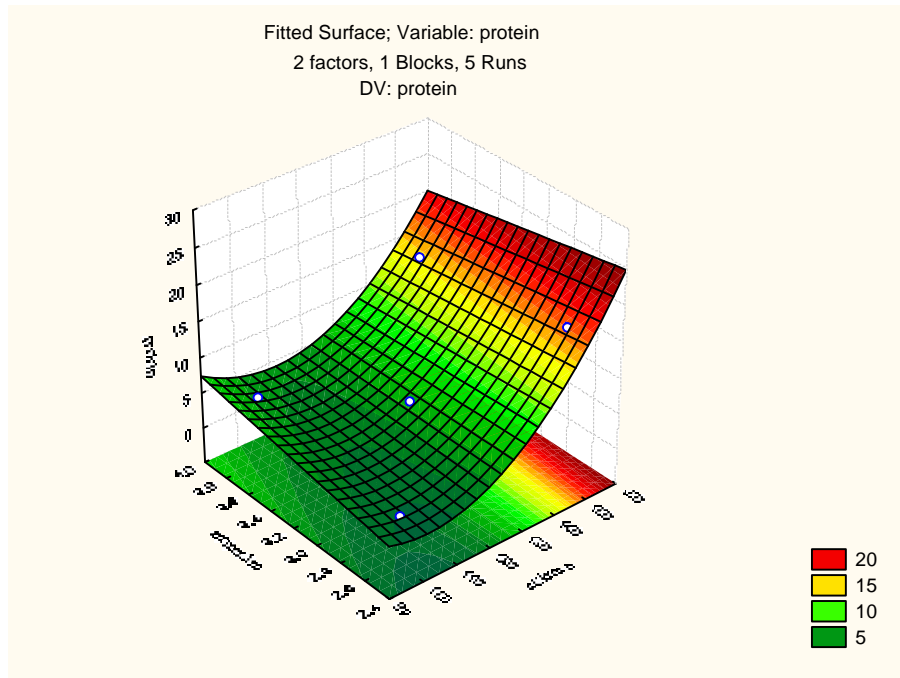
### **III.2.2. Pengaruh kadar sukrosa dan sumber nitrogen terhadap kadar protein**

Penentuan kondisi optimum operasi dengan dilakukan menggunakan RSM dengan mengolah data data secara statistic. Hasil yang diperoleh disajikan pada Tabel 4 :

**Tabel 4. Estimasi efek utama kuadrat dan linier (jumlah enzim)**

	<b>Effect</b>	<b>Coeff.</b>
<b>Mean/Interc.</b>	5,30900	5,30900
<b>(1)sukrosa (L)</b>	12,49100	6,24550
<b>sukrosa (Q)</b>	8,45500	4,22750
<b>(2)ammonium(L)</b>	0,09100	0,04550
<b>1L by 2L</b>	-2,63700	-1,31850





**Gambar 3. Permodelan 3-Dimensi Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Sumber Nitrogen terhadap Kadar Protein**

Berdasarkan pada table 4, pengaruh konsentrasi sukrosa dan konsentrasi sumber nitrogen dimisalkan lewat persamaan (2) :

$$Y = 5,30900 + 6,24550x_1 + 0,04550x_2 - 1,31850x_1x_2 + 4,22750x_1^2 \quad (2)$$

Dari persamaan 2 yang diperoleh terlihat bahwa konsentrasi sukrosa baik maupun konsentrasi sumber nitrogen memberi pengaruh kepada kadar protein. Dalam hal ini, koefisien konsentrasi sukrosa yang bernilai besar memberikan pengaruh yang besar terhadap kadar protein sebaliknya konsentrasi sumber nitrogen tetap mempengaruhi walaupun tidak signifikan karena nilainya kecil. Nilai koefisien interaksi antara konsentrasi sukrosa dan sumber nitrogen memberikan hasil negative yang berarti bahwa kedua variabel ini tidak saling mempengaruhi dan dapat dianalisa secara terpisah.

### **III.3. Optimasi kondisi operasi produksi invertase**

Dengan cara menurunkan persamaan yang diperoleh dari RSM didapatkan hasil optimasi sebagai berikut :

Persamaan model aktivitas enzim

$$Y = 0,639000 + 0,145750x_1 - 0,034750x_2 + 0,131750x_1x_2 - 0,298750x_1^2$$

Didapatkan nilai variabel tak berdimensi sebagai berikut :

$$x_1 = 0,264$$

$$x_2 = 0,091$$

Dengan nilai aktivitas enzim :

$$Y = 0,656 \text{ gr glukosa/L} = 6,074 \cdot 10^{-2} \text{ mmol/L.menit}$$

Dengan nilai optimum untuk tiap variabel :

$$X_1 = \text{kadar sukrosa optimum} = 131,6 \text{ gr/L}$$

$$X_2 = \text{kadar sumber nitrogen optimum} = 3,25 \text{ gr/L}$$

### **IV. KESIMPULAN**

Kesimpulan yang didapat pada penelitian ini adalah enzim invertase dapat diperoleh melalui *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan gula pada media fermentasi cair. Kadar protein tertinggi yang didapatkan dari hasil percobaan adalah 17,055 mg/L dan aktivitas enzim tertinggi 0,05916 mmol/L.menit. Kondisi produksi enzim yang optimum didapatkan pada yaitu 131,6 g/L glukosa dan 3,25 g/L ammonium sulfat.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan menganalisa kemungkinan adanya pengaruh enzim lain dalam proses produksi enzim invertase. Serta diharapkan dapat menggunakan metode analisa yang lebih spesifik dan akurat dalam menentukan aktivitas dan jumlah enzim.

### **UCAPAN TERIMAKASIH**

Terima kasih kami ucapkan kepada Fakultas Teknik Kimia Universitas Diponegoro khususnya Prof. Abdullah atas kesabaran dan bimbingan yang telah diberikan selama jalannya penelitian ini, Para Laboran yang telah meminjamkan tempat dan alat untuk penelitian ini. Serta teman-teman kami atas dukungan dan semangatnya.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Fowler M. W. 1988. "Enzyme technology" in *Biotechnology For Engineers, Biological system in Technological Processes*, Edited : Scragg, A. H., John Wiley & Sons, New York.
- Harley, Prescott., 2002, "Laboratory Exercises in Microbiology", Fifth Edition, Mc Graw-Hill Company
- Hasanah , Elok Nur Isro'ul., Putra, Surya Rosa., 2010, "Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Invertase yang Diamobilisasi dengan Na-Alginat", Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Hutkins, Robert W., 2006, "Microbiology and Technology of Fermented Foods", 1<sup>st</sup> ed, Blackwell Publishing, Iowa.
- Kosaric, N., Vardar-Sukan, F., Pieper, H. J., 2001, "The Biotechnology of Ethanol : Classical and Future Applications", Edited by M. Roehr, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim
- Moo-Young, Murray., 1985, "Comprehensive Biotechnology : The Principles, Applications and Regulations of Biotechnology in Industry, Agriculture and Medicine", Volume 3, Pergamon Press, Oxford.
- S, Noviana Ika., Sa'adah Zulfatus., 2010, "Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus Niger* Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat", Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro, Semarang.
- Wahyudi, Suprianto, Tri., 2010, "Proses Produksi Etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* dengan Operasi Kontinyu pada Kondisi Vakum", Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro, Semarang.
- <http://www.risvank.com/2008/05/sukrosa-dan-sifatnya/>
- <http://www.risvank.com/2009/04/kerugian-yang-ditimbulkan-oleh-inversi-sukrosa/>