

**ISOLASI KHAMIR INULINOLITIK PADA BUAH KERSEN  
(*Muntingia Calabura L.*) SEBAGAI PENGHASIL ENZIM INULINASE**

**Wijanarka<sup>1)</sup> dan Sarsa, A.N.<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,  
Universitas Diponegoro Jl. Prof. H. Soedarto, Tembalang, Semarang.  
Email: wijanarka1810@gmail.com

**INULINOLITIC ISOLATION OF YEAST IN KERSEN FRUIT  
(*Muntingia Calabura L.*) AS A PRODUCTION OF INULINASE ENZYMES**

**ABSTRACT**

Inulin is a polysaccharides and accumulates in the organs of plants. Besides being found in dahlia bulbs, inulin can also accumulate in the Kersen fruit (*Muntingia calabura L.*). Inulinase (E.C.3.2.1.7.) Is a hydrolytic enzyme that catalyzes the hydrolysis reaction of inulin polysaccharides into fructose and or fructooligosaccharides. Isolation of inulinase enzymes in large quantities from plants is quite difficult to do, therefore it is necessary to isolate enzymes using microbes. One of the microbes that can hydrolyze inulin is yeast. This study aims to obtain inulinolytic yeast isolates as a producer of the enzyme inulinase from cherry fruits (*Muntingia calabura L.*), and determine the growth rate and inulinase production of the isolates obtained. The study was conducted by isolating yeast from cherries using ISM (Inulin Selecting Medium) media. Yeast isolation using the streak plate method to obtain pure isolates. The obtained yulin inulinolytic isolate was given the name Yke yeast isolate which was then measured for growth and inulinase activity test. Yeast culture in inulinase production media lasts for 24 hours and is measured every 6 hours. The measurements include yeast growth and inulinase activity. The measurement of Yke yeast isolate growth was done by calculating absorbance through its transmitter value, while the measurement of inulinase activity was done by calculating reducing sugars using the DNS method. The results of measurement of optimal cell growth at T12 which is a logarithmic phase with a growth value of 0.7959, while the results of the highest inulinase activity test at T12 with an activity value of 0.3977 U / ml.

**Keywords:** inulinase, inulinase activity, kersen (*Muntingia calabura L.*), Yke isolate

### ABSTRAK

Inulin merupakan polisakarida dan terakumulasi pada bagian organ tanaman. Selain ditemukan di umbi dahlia, inulin juga dapat terakumulasi pada buah Kersen (*Muntingia calabura* L.). Inulinase (E.C.3.2.1.7.) adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis inulin menjadi fruktosa dan atau fruktooligosakarida. Isolasi enzim inulinase dalam jumlah banyak dari tumbuhan cukup sulit untuk dilakukan, oleh sebab itu perlu dilakukan isolasi enzim menggunakan mikroba. Salah satu mikroba yang dapat menghidrolisis inulin yaitu khamir. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat khamir inulinolitik sebagai penghasil enzim inulinase dari buah kersen (*Muntingia calabura* L.), dan mengetahui tingkat pertumbuhan serta produksi inulinase dari isolat yang diperoleh. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi khamir dari buah kersen menggunakan media ISM (Inulin Selecting Medium). Isolasi khamir menggunakan metode streak plate sampai didapatkan isolat murni. Isolat khamir inulinolitik yang didapat diberi nama isolat khamir Yke yang kemudian dilakukan pengukuran pertumbuhan serta uji aktivitas inulinase. Pengkulturan khamir pada media produksi inulinase berlangsung selama 24 jam dan dilakukan pengukuran tiap 6 jam sekali. Pengukuran tersebut meliputi pertumbuhan khamir dan aktivitas inulinase. Pengukuran pertumbuhan isolat khamir Yke dilakukan dengan cara menghitung absorbansi melalui nilai transmitternya, sedangkan pengukuran aktivitas inulinase dilakukan dengan menghitung gula reduksi menggunakan metode DNS. Hasil pengukuran pertumbuhan sel optimal pada  $T_{12}$  yang merupakan fase logaritmik dengan nilai pertumbuhan 0.7959, sedangkan hasil uji aktivitas inulinase tertinggi pada  $T_{12}$  dengan nilai aktivitas 0.3977 U/ml

**Kata Kunci** : inulinase, aktivitas inulinase, Kersen (*Muntingia calabura* L.), isolat Yke,

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang terkenal dengan keanekaragaman tanamannya. Indonesia juga dikenal sebagai negara pertanian yang menghasilkan banyak tanaman dari golongan karbohidrat. Tanaman golongan karbohidrat umumnya menghasilkan rasa yang manis karena mengandung karbohidrat di dalamnya. Menurut Nakamura *at al.* (1995), inulin merupakan suatu polisakarida yang dibangun oleh unit-unit monosakarida fruktosa melalui ikatan  $\beta$ -2-1 fruktofuranosida yang diawali oleh suatu molekul glukosa. Karbohidrat ini dihasilkan oleh tanaman jenis Compositae seperti dahlia, *chicory*, dan *Jerrusalem artichoke*.

Enzim yang mampu memecah polisakarida inulin menjadi unit-unit yang lebih kecil (fruktosa) disebut enzim inulinase.

Tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.) merupakan salah satu tanaman dari golongan karbohidrat. Tanaman tersebut dapat dengan mudah ditemukan di Indonesia. Kersen adalah pohon yang selalu hijau (*evergreen*), tumbuh dan berbuah sepanjang tahun. Saat ini, pohon kersen hanya dimanfaatkan sebagai tanaman peneduh di pinggir jalan karena daunnya yang rindang. Lebih dari itu, bagian lain dari tanaman kersen yang mempunyai segudang manfaat adalah bagian buahnya. Menurut Ogata (1995), buah kersen memiliki diameter hingga 1,5 cm berbentuk seperti ceri, jika matang maka akan berwarna merah dan terasa manis. Sedangkan bijinya berbentuk bulat, kecil, putih kekuningan, tiap buah mengandung ratusan biji, dan pada akarnya tunggang. Rasa manis dari buah kersen tersebut dikarenakan adanya kandungan karbohidrat. Inulin merupakan polimer pemanis alami yang terdapat pada suatu bagian tanaman yang menyebabkan timbulnya rasa manis. Untuk memecah inulin mejadi unit-unit yang lebih kecil dibutuhkan suatu enzim yang disebut enzim inulinase.

Salah satu enzim yang jumlahnya sangat melimpah di alam yaitu enzim inulinase. Menurut Franck (2003), inulin merupakan senyawa yang melimpah di alam setelah pati. Inulinase (E.C.3.2.1.7.) adalah enzim yang menghidrolisis inulin menjadi fruktosa atau frukto-oligosakarida. Isolasi enzim inulinase dalam jumlah banyak dari tumbuhan cukup sulit untuk dilakukan, oleh sebab itu inulinase mikrobial merupakan obyek penelitian yang sangat menarik bagi peneliti. Penelitian Saryono *at al.* (2016), menyatakan bahwa aktivitas inulinase banyak ditemukan pada berbagai spesies jamur, termasuk khamir.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat khamir inulinolitik sebagai penghasil enzim inulinase dari buah kersen (*Muntingia calabura* L.), dan mengetahui tingkat pertumbuhan serta produksi inulinase dari isolat yang diperoleh. Sedangkan manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah tentang khamir penghasil inulinase. Enzim ini selanjutnya dapat digunakan untuk produksi *High Fructoce Syrup* (HFS).

## MATERIAL DAN METODE

### *Subjek Penelitian*

Khamir inulinolitik dalam buah kersen (*Muntingia calabura* L.), merupakan salah satu jenis khamir yang mampu menghasilkan enzim inulinase (E.C.3.2.1.7.)

### *Alat dan Bahan*

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah tabung reaksi, autoklaf, timbangan digital, gelas ukur, Erlenmeyer, corong. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah buah kersen (*Muntingia calabura* L.), media ISM (*Inulin Selecting Medium*), media produksi inulinase, media PDA (*Potatoe Dextrose Agar*), reagen DNS, buffer sodium asetat pH 5 0.1 M.

### *Prosedur Penelitian*

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga September 2018 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

#### **Pembuatan Media ISM (*Inulinase Selecting Medium*):**

Pembuatan Media ISM dilakukan dengan cara menyiapkan bahan diantaranya adalah inulin 1.2gr, agar 1.2gr, dan *yeast extract* 0.6gr. Semua bahan tersebut dilarutkan dalam 60 ml akuades, lalu dihomogenkan. Kemudian di tuang di tabung reaksi sebagai media miring, lalu disterilisasi dengan autoklaf.

#### **Pembuatan Medium Produksi Inulinase (g/L) (Ertan *et al.*, 2003):**

Pembuatan Media produksi inulinase dilakukan dengan cara sebagai berikut ini, setiap 100ml media produksi terdiri dari tepung dahlia 3%,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  0.23%,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0.37%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05%, *yeast ekstrak* 0.15%, pH 5. Tepung dahlia dilarutkan kedalam air sebanyak 100ml kemudian dipanaskan hingga mendidih dan warnanya menjadi bening. Erlenmeyer, corong dan kertas saring disiapkan. Tepung dahlia yang telah mendidih disaring kemudian diukur sebanyak 100ml dengan menggunakan gelas ukur. Bahan yang telah ditimbang dimasukkan kedalam larutan tepung dahlia dan diaduk hingga homogen. pH diukur dengan menggunakan pH strip, ditambahkan HCl sedikit demi sedikit hingga pH mencapai 5.

**Isolasi Yeast dari Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.):**

Isolasi yeast pada buah kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan media ISM (*Inulinase Selecting Medium*). Sebelumnya, buah kersen dibiarkan membusuk pada suhu kamar selama lima hari sampai terlihat tanda-tanda kerusakan biologis. Selanjutnya, satu buah kersen busuk tersebut dimasukkan secara aseptik ke dalam tabung reaksi yang berisi akuades steril, lalu diinokulasikan ke media ISM dengan metode streak. Metode isolasi lainnya dilakukan dengan inokulasi secara langsung dengan cara menempelkan buah kersen busuk ke media ISM. Kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu kamar.

Setiap khamir yang tumbuh diinokulasikan kembali dengan cara di pindahkan pada media PDA (*Potatoe Dextrose Agar*) melalui metode streak. Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu kamar. Hasilnya ditemukan satu isolat khamir yang tumbuh. Biakan murni sebagai isolat dipindahkan ke media ISM miring sebagai satu-satunya sumber karbon, untuk disimpan dan dipelihara sebagai kultur stok. Isolat tersebut dinamakan isolat Yke. Koloni isolat Yke diamati bentuk dan ukurannya secara makroskopis dan mikroskopis serta dilakukan foto mikroskop.

**Pembuatan Starter Khamir Inulinolitik:**

Biakan murni isolat Yke pada media ISM diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke 10ml medium produksi inulinase cair dengan pH 5 di dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 120 rpm dalam suhu ruang (27-28°C) selama  $\pm$  22 jam, hingga diperoleh kultur dengan kepadatan  $10^7$ -  $10^8$  sel/ml (fase logaritmik akhir).

**Pengukuran Pertumbuhan Sel:**

Setelah 22 jam, starter dimasukkan ke dalam 40ml media produksi inulinase. Kemudian  $T_0$  dihitung tingkat pertumbuhannya. Pengukuran pertumbuhan dihitung dengan selisih waktu setiap 6 jam sekali dengan pengambilan sampel sebanyak lima kali. Jadi akan didapatkan hasil  $T_0$ ,  $T_6$ ,  $T_{12}$ ,  $T_{18}$ , dan  $T_{24}$ . Pengukuran pertumbuhan dilakukan dengan cara sampel diambil sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam botol film, kemudian diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 520 nm.

**Pengujian Aktivitas Enzim:**

Setelah sampel diambil dalam wadah sampel sebanyak 5ml dan telah dilakukan pengukuran pertumbuhan, selanjutnya sampel diambil 1ml diletakkan dalam microtube kemudian di sentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Hasil dari sentrifugasi yang digunakan untuk mengukur aktivitas inulinase adalah cairan yang berada dibagian atas (super natan), diambil sesuai volume yang ditentukan dengan menggunakan mikropipet. Pengukuran gula reduksi dilakukan dengan cara mengukur ES, S dan E menggunakan spektrofotometer. ES disusun dengan komposisi 0.5ml Substrat inulin murni 1%; 0.4ml buffer sodium asetat pH 5; dan enzim (*crude*) 0.1ml. S disusun dengan komposisi 5ml substrat inulin murni 1%; 0.4 mL buffer sodium asetan pH 5; dan akuades 0.1ml. E disusun dengan komposisi buffer sodium asetat pH 5 0.4ml; enzim (*crude*) 0.1 ml; dan aquades 0.5ml. Blanko terbuat dari buffer sodium asetat pH 5 0.4ml; dan aquades 0.6ml. ES, S dan E yang sudah disusun kemudian di inkubasi 50°C selama 30 menit, kemudian reaksi dimatikan dengan air mendidih 1-2 menit, ditambah 1ml DNS dan dipanaskan lagi 1-2 menit, kemudian didinginkan dan ditambah akuades 5ml, kemudian diukur absorbansi dengan panjang gelombang 570nm.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil pengukuran pertumbuhan dan aktivitas inulinase (U/ml) isolat khamir Yke tertera pada Tabel 1, selanjutnya akan diuraikan hasil dan pembahasan pertumbuhan isolat khamir Yke. Demikian pula tentang aktivitas inulinase (U/ml) isolat khamir Yke.

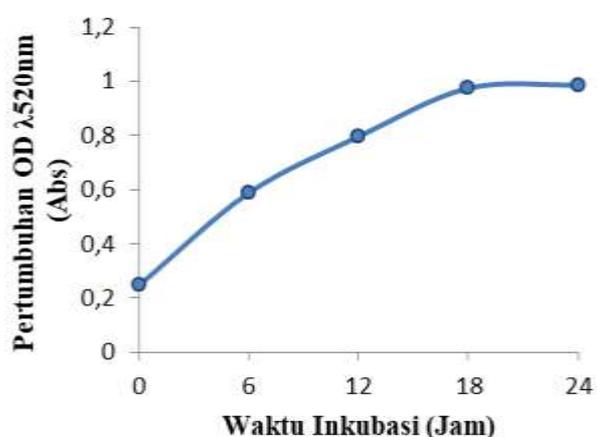
Tabel 1. Data Hasil Perhitungan Pengukuran Pertumbuhan dan Aktivitas Inulinase (U/MI) Isolat Khamir Yke.

No	Waktu Inkubasi (Jam)	Optical Density (OD) $\lambda$ 520nm	Aktivitas Inulinase (U/mL)
1	0	0,2472	0.2472
2	6	0,5884	0,204
3	12	0,7959	0,3977
4	18	0,9747	0,3634
5	24	0,9872	0,3205

### Pertumbuhan Isolat Khamir Yke

Pertumbuhan dapat diartikan sebagai bertambahnya komponen kimia dalam diri makhluk hidup yang dapat dihitung secara kuantitas. Hal tersebut juga terjadi pada mikroorganisme. Pertumbuhan mikroba ditandai dengan bertambahnya jumlah sel yang dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Wijanarka (2014) menyatakan bahwa pertumbuhan mikroorganisme biasanya ditunjukkan dengan adanya penambahan jumlah sel atau massa sel yang sedang tumbuh. Pertambahan massa sel khamir terjadi karena khamir memperoleh nutrisi dari media kultur dan mampu memanfaatkannya untuk tumbuh dan berkembang. Hasil penelitian Dinarvand (2013), komposisi media kultur adalah faktor yang paling penting yang berpengaruh terhadap produksi enzim, pertumbuhan, dan fisiologi dari sel, dan meningkatkan pembentukan bioproduk.

Salah satu parameter pengukuran pertumbuhan adalah kecepatan pertumbuhan spesifik. Kecepatan pertumbuhan spesifik diartikan sebagai penambahan biomassa sel per satuan waktu pada fase pertumbuhannya. Pertumbuhan isolat khamir Yke pada medium produksi dihitung berdasarkan nilai densitas optik dari kultur produksi. Pengukuran pertumbuhan dilakukan dengan cara menghitung absorbansi melalui nilai transmitternya setiap 6 jam sekali, selama 24 jam pada panjang gelombang 520nm yang kemudian dikonservasikan menjadi nilai absorbansi dengan rumus  $Abs = 2 - (\log T)$ . Hubungan antara nilai *optical density* dan waktu inkubasi dinyatakan dalam kurva pertumbuhan (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik Pertumbuhan Isolat Khamir Yke pada Medium Produksi Inulinase dan Waktu Inkubasi

## Wijanarka dan A.N., Sarsa, Isolasi Khamir Inulinolitik pada Buah Kersen

Gambar 1 menunjukkan bahwa kurva tersebut merupakan kurva sigmoid tanpa adanya fase lag atau fase adaptasi. Fase lag tidak muncul dalam hasil dikarenakan adanya penambahan starter sebanyak 10% yang merupakan tempat berlangsungnya fase lag. Fase log atau fase eksponensial berlangsung sejak pertama kali dilakukan pengukuran yakni pada  $T_0$  sampai  $T_{12}$  dan tidak diikuti oleh fase adaptasi. Fase Stationer berlangsung setelah fase log dan relative konstan, yaitu pada  $T_{18}$  sampai  $T_{24}$ . Fase lag dalam kurva tersebut tidak muncul dikarenakan adanya penambahan starter yang sudah memasuki fase log. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Alexander (1990), bahwa starter yang ditambahkan dalam media pertumbuhan mempengaruhi keberadaan fase lag dan pertumbuhan yang dihitung akan langsung menunjukkan adanya fase log. Wijanarka (2014), juga menyatakan bahwa fase log yang terjadi yang demikian singkat diakibatkan adanya pemberian starter. Adanya starter ini mengakibatkan fase lag (fase adaptasi) hilang atau diperpendek sehingga mengakibatkan lebih cepat memasuki fase logaritmik.

Kultur memasuki fase stasioner pada  $T_{18}$  sampai  $T_{24}$ , pada saat ini kecepatan pembelahan menurun karena menipisnya ketersediaan nutrisi di dalam medium dan terjadi akumulasi produk metabolit beracun yang menghambat pertumbuhan khamir. Sebagian populasi sel mulai mengalami kematian setelah inkubasi 24 jam karena nutrisi di dalam medium dan energi cadangan di dalam sel telah habis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gandjar *et al.* (2006), bahwa fase lag terjadi pada waktu inkubasi antara 0-6 jam yang merupakan fase penyesuaian sel dengan lingkungan (medium). Fase stasioner terjadi pada waktu inkubasi antara 24-30 jam yang menunjukkan adanya penurunan jumlah sel akibat berkurangnya nutrisi dalam medium. Hal ini didukung oleh pernyataan Dinarvand (2013), bahwa sumber karbon yang digunakan dalam media dapat meningkatkan atau menghambat sintesis enzim, sehingga mengakibatkan adanya penurunan jumlah sel.

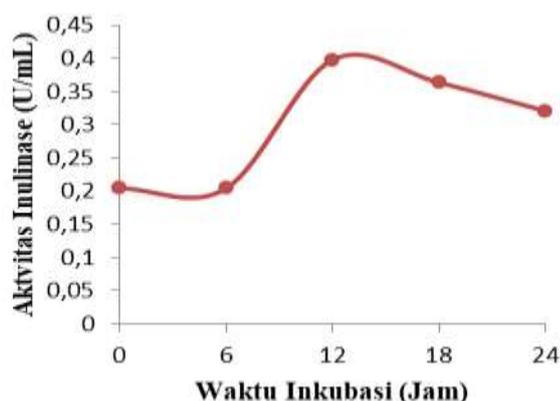
Pada kurva pertumbuhan tersebut, kultur khamir belum menunjukkan fase kematian, karena hingga waktu inkubasi 24 jam, kurva pertumbuhan masih memperlihatkan kenaikan sel khamir, jadi yang terlihat hanya fase log dan fase stasioner, sedangkan fase kematian didapatkan setelah inkubasi 24 jam.

### Aktivitas Inulinase Isolat Khamir Yke

Uji aktivitas inulinase merupakan suatu uji yang digunakan untuk mengetahui kadar inulinase yang dihasilkan oleh khamir pada fase pertumbuhannya. Hal ini didukung oleh pernyataan Sadikin (2002), bahwa jumlah inulinase yang diproduksi dapat ditentukan melalui uji aktivitas inulinase. Dalam penentuan kadar enzim, sumber karbon merupakan faktor penting yang mempengaruhi jumlah enzim yang akan disekresikan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Gao *at al.* (2012), bahwa sumber karbon yang digunakan merupakan faktor signifikan dalam produksi inulinase, dikarenakan aktivitas inulinase tertinggi (optimal) jika menggunakan inulin sebagai satu-satunya sumber karbon.

Prangviset *et al.* (2018), menyatakan bahwa satu unit aktivitas inulinase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang mampu membebaskan 1  $\mu\text{mol}$  fruktosa per menit. Wijanarka *et al.* (2007), menambahkan bahwa inulinase adalah enzim ekstraseluler yang disekresikan keluar dari sel, sehingga perlu dilakukan pemisahan melalui proses sentrifugasi antara supernatan (*crude enzyme*) dan biomassa.

Uji ini dilakukan dengan cara menghitung nilai transmitter dari enzim (E), substrat (S) serta enzim dan substrat (ES) pada interval waktu 6 jam sekali dimulai sejak titik awal diinokulasikan. selanjutnya dilakukan penghitungan lebih lanjut dengan menggunakan rumus tertentu. Berdasarkan penelitian Sari (2005), rumus yang digunakan untuk menentukan aktivitas enzim adalah  $p(y-x)/BM \times W$ , dengan satuan Unit/ml. Berdasarkan perhitungan dari rumus tersebut, maka didapatkan kurva aktivitas enzim inulinase seperti pada (Gambar 2).



Gambar 2. Grafik Aktivitas Inulinase Isolat Khamir Yke.

## Wijanarka dan A.N., Sarsa, Isolasi Khamir Inulinolitik pada Buah Kersen

Gambar 2 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh pada uji aktivitas inulinase isolat khamir Yke adalah pada saat  $T_0$  dan  $T_6$  belum menunjukkan produksi inulinase, pada  $T_{12}$  dan  $T_{18}$  hasilnya meningkat dibandingkan  $T_0$  dan  $T_6$  yakni sebesar 0.3977 U/ml dan 0.3634 U/ml.  $T_{12}$  menuju  $T_{18}$  terjadi penurunan sebesar 0.03634 U/ml yang berarti penurunan tersebut tidak signifikan dan masih tergolong stabil pada kisaran 0.3. Hasil produksi inulinase tertinggi dan optimal terdapat pada  $T_{12}$  yakni sebesar 0.3977 U/ml, mengalami penurunan pada  $T_{18}$  dan  $T_{24}$  seiring dengan menurunnya pertumbuhan isolat Yke yakni 0.3634 U/ml dan 0.3205 U/ml.

Penurunan aktivitas enzim dikarenakan berkurangnya sumber nutrisi di dalam medium yang digunakan oleh sel khamir. Selain itu, komposisi medium merupakan hal yang sangat *crusial*. Hal tersebut didukung oleh penelitian Dinarvand (2013), yang menyatakan bahwa komposisi media kultur adalah faktor yang paling penting yang berpengaruh terhadap produksi enzim, pertumbuhan, dan fisiologi dari sel, dan meningkatkan pembentukan bioproduk. Sumber karbon digunakan dalam media dapat meningkatkan atau menghambat sintesis enzim. Selanjutnya, sumber nitrogen yang kompleks (*yeast ekstrak* dan  $\text{NaNO}_3$ ) pada konsentrasi yang lebih tinggi mungkin memiliki efek toksik pada produksi enzim.

Kurva aktivitas enzim di atas memperlihatkan aktivitas inulinase tertinggi yaitu pada waktu  $T_{12}$  dengan nilai sebesar 0.3977 U/ml. Hal ini disebabkan karena pada waktu inkubasi antara  $T_6$  dan  $T_{12}$  merupakan fase logaritmik dari sel khamir, dimana pada fase tersebut inulinase disekresi dalam jumlah yang tinggi. Sesuai dengan pernyataan Brock *et al.* (1994), bahwa enzim inulinase digolongkan sebagai metabolit primer yang biasanya dibentuk pada fase pertumbuhan logaritmik, sehingga aktivitas enzim yang tinggi dihasilkan pada fase log. Cazetta *et al.* (2010), menyatakan bahwa sintesis inulinase dimulai bersamaan dengan pertumbuhan sel dan semakin meningkat setelah inkubasi 6 sampai 8 jam. Aktivitas enzimatik rendah pada fase lag, mengalami peningkatan pada fase logaritmik, dan mulai mengalami penurunan pada fase stasioner.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pessoa *et al.* (1999), bahwa biosintesis inulinase terjadi dan distimulasi pada fase log dimana pada fase tersebut terjadi pertumbuhan sel yang cepat (*mycelia growth*), dimulai pada waktu inkubasi 24 jam, dan produksi enzim optimal berlangsung pada waktu antara 48 sampai 60 jam dari

proses fermentasi. Dinarvand (2013) menambahkan bahwa intra dan ekstraseluler inulinase serta aktivitas invertase diproduksi pada fase pertumbuhan, yaitu fase eksponensial. Produksi maksimum enzim inulinase terjadi pada akhir fase eksponensial.

Aktivitas enzim akan menurun setelah pertumbuhan sel yang cepat berakhir dan kecepatan pertumbuhan melambat kembali. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Dinarvand (2013), bahwa sumber karbon yang digunakan dalam media dapat meningkatkan atau menghambat sintesis enzim. Selanjutnya, sumber nitrogen yang kompleks (*yeast ekstrak* dan  $\text{NaNO}_3$ ) pada konsentrasi yang lebih tinggi mungkin memiliki efek toksik pada produksi enzim. Menurut Hartiko (2005), semakin lama waktu inkubasi, maka semakin besar jumlah gula reduksi sebagai hasil hidrolisis inulin, gula reduksi ini merupakan katabolit yang menghambat aktivitas inulinase jika dalam jumlah yang besar.

Goutara dan Widjandi (1975) menyatakan bahwa struktur molekul fruktosa mengandung gugus keton sehingga termasuk dalam golongan gula pereduksi, oleh karena itu analisis kadar fruktosa dilakukan dengan metode DNS secara spektroskopi ( $\lambda$  570 nm). Penentuan kadar fruktosa dihitung berdasarkan persamaan kurva standar fruktosa, yaitu :  $Y = - 0,0288 + 0,5398 X$ . Keterangan : Y = nilai absorbansi pada sampel media, X = kadar fruktosa dalam media (mg/mL). Pengukuran kadar fruktosa diperlukan untuk mengetahui banyaknya poli-fruktosa inulin yang telah dikonversi menjadi monomer fruktosa.

Menurut Yuliana *et al.* (2014), lama waktu inkubasi media kultur khamir berpengaruh terhadap nilai kadar fruktosa dan total gula dalam media. Semakin lama waktu inkubasi, nilai kadar fruktosa semakin tinggi karena semakin lama suatu bahan dihidrolisis maka pemutusan rantai yang terjadi akan semakin banyak pula, hampir sebagian besar bahan telah dihidrolisis menjadi monomer. Sebaliknya, semakin lama waktu inkubasi, nilai kadar total gula semakin turun, karena banyaknya polisakarida semakin berkurang terpotong-potong menjadi molekul yang lebih sederhana, seperti oligosakarida, disakarida dan monosakarida.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, kesimpulan yang dapat diambil adalah telah ditemukan satu isolat khamir potensial penghasil enzim inulinase yang diisolasi dari Tanaman Kersen (*Muntingia calabura* L.). Isolat tersebut dinamakan isolat khamir Yke. Pertumbuhan isolat khamir Yke tidak mengalami fase lag dengan hasil optimal pada  $T_{12}$  yang merupakan fase logaritmik dengan nilai pertumbuhan sebesar 0.7959. (fase adaptasi). Aktivitas Inulinase pada isolat tersebut paling optimal pada  $T_{12}$  dengan nilai sebesar 0.3977 U/ml dan merupakan fase logaritmik dari sel khamir, dimana pada fase tersebut inulinase disekresi dalam jumlah yang tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M.A., and Jeffries, T.W. 1990. "Respiratory Efficiency and Metabolize Partitioning as Regulatory Phenomena in Yeast, Enzyme Microbe." *Technol* : 2-29.
- Brock, T. D., Madigan. M.T., Martinko. J.M., and Parker, J. 1994. *Biology of Microorganism*. 5th Edition. PrenticeHall, Inc., Englewood Cliffs New Jersey, USA.
- Cazetta, M. L., Rubens M dan Jonas C. 2010. Effects of Culture Conditions on the Production of Inulinase by *Kluyveromyces marxianus*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. Vol.53 pp. 701-705.
- Dinarvand, M., Malahat R., Malihe M., Seyed D.J., Mohsen Z., Sahar A., dan Arbakariya B. A. 2013. "Effect of C/N Ratio and Media Optimization through Response Surface Methodology on Simultaneous Productions of Intraand Extracellular Inulinase and Invertase from *Aspergillus niger* ATCC 20611". *BioMed Research International*. Vol 2013. ID 508968 pages 13.
- Ertan F., Kaboglu. T. A.C, Ekinici F, and. Bakar. E. 2003. Determination of Optimum Cultivation Conditions on the Production of Inulinase from *Rhizoctonia solani*. *Pakistan Journal of Biological Science*. 6(16): 1386- 1388
- Franck, A. & Leenheer Leen De. 2003. "Inulin". Email: ann.franck@orafti.com. Diakses 27 Agustus 2013.
- Gao, Jiaoqi., Lijie Chen., and Wenjie Yuan. 2012. "Effects of Carbon Sources, Oxygenation, and Ethanol on the Production of Inulinase by *Kluyveromyces*

*marxianus* YX01". *Journal Bioscience and Biotechnology*. Vol 1 (2) : 155-161.  
ISSN : 1314-6246.

Gandjar, I., Sjamsuridzal W., dan Oetari A. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta. 178 hlm.

Nakamura, T., Ogata, Y., Shitasa,, Nakamura, A. & Ohta, K. 1995. Continuous Production of Fructose Syrup from Inulin by Immobilized Inulinase from *Aspergillus niger* Mutan 817. *Journal of Fermentation and Bioeng*, hal : 164-169.

Ogata, Y., (Comite Members) 1995. *Medicinal Herb Index in Indonesia (Second Edition)*. PT. Eisai Indonesia. Jakarta. Hal 75.

Pessoa, A., M. Vitolo. 1999. Inulinase from *Kluyveromyces marxianus* : Culture Medium Composition and Enzyme Extraction. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. ISSN 1678-4383.

Prangvingset, Kotchakorn., Molnapat Songpim., Natthawut Yodsuwan., Siwaporn Wannawilai., Monchai Dejsungkranont, Prapas Changlek., dan Sarote Sirisansaneeyakul. 2018. "Fructose Production fom Jerusalem arthicoke Using Mixed Inulinases". *Agriculture and Natural Resources*. 53 : 132-139.

Sari, Siti Lusi Arum., Hartiko, Hari. 2005. "Aktivitas Inulinase Jamur yang Diisolasi dari Tanah Sekitar Umbi Dahlia (*Dahlia ponnata cav*)." *BioSmart Vol 7 No 1*, hal: 1-5.

Saryono, Fitriani, R. Ukun M. S. Soedjanaatmadja. 2016. Beberapa Mikroorganisme yang Menghasilkan Enzim Inulinase, Isolasi dan Karakterisasi Enzim dari *Aspergillus flavus* Gmn11.2 *Galur Lokal*. *Chimica et Naura Acta* Vol. 4 No..3 : 165-174.

Wijanarka, M. G. Isworo Rukmi, Lynda Sutrisna. 2007. Pengaruh Pepton dan Waktu Inkubasi terhadap Produksi Inulinase oleh *Pichia alni* DUCC-W4 Berbahan Dasar Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd.). *BIOMA* Vol 9 No. 2 Hal. 52-57

Wijanarka, Endang, Sutariningsih S., Kumala, Dewi., Ari, Indriyanto. 2014. "Kemampuan Fusan F1 dalam Memproduksi Inulinase." *BIOMA vol 16*, 114 - 118.