

Aktivitas Enzim Inulinase dan Laju Pertumbuhan Spesifik Isolat Bakteri IS-1 Pada Medium Tepung Umbi Dahlia

WIJANARKA¹, MAULIDA AQLINA², KRISTINA²

¹Dosen Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah.

²Mahasiswa Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang.

Diterima: 30 Mei 2018 – Disetujui: 18 September 2018
© 2018 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Dahlia bulbs (*Dahlia variabilis*) contains carbohydrates in the form of inulin. Inulin is a form of fructose polymer from fructose monomers. Inulin hydrolysis produces a product in the form of fructose. Inulinase enzyme is an enzyme able to purely hydrolyze inulin. This study aims to determine the activity of inulinase enzymes and the specific growth rate of IS_1 bacterial isolates producing inulinase in medium of Dahlia tuber flour. Isolates of inulinase-producing bacteria were isolated directly from decay dahlia tubers and used as an inoculum in creating starter. The measurement of cell growth was carried out by inoculating a 20-hour starter on the production medium. Incubation is done for 24 hours using a rotary shaker with a speed of 120 rpm. Sampling was carried out every 4 hours at 0-hour (T0), 4 hours (T4), 8 hours (T8), 12 hours (T12), 16 hours (T16), 20 hours (T20) and 24 hours (T24) intervals with a sample of 5 mL measured for absorbance of λ 520 nm using spectrophotometer. Production medium culture in each sample was taken 1 mL and centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes to obtain supernatant of crude enzyme. Measurement of inulinase enzyme activity was carried out using 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method and spectrophotometric method at λ 570 nm. IS_1 bacterial isolate showed optimum growth at incubation time of 8 hours with OD of 0.647 and had a specific growth rate (μ) of 0.02 / hour with a generation time of 34.65 hours. The highest enzyme activity produced by IS_1 bacteria at 8 hours incubation time was 0.490 IU. The conclusion of this study is that IS_1 bacteria indicates good growth in medium of dahlia tuber flour and has inulinase enzyme activity which is able to hydrolyze inulin into fructose.

Key words: inulin, bacterial isolate, inulinase, production.

PENDAHULUAN

Tanaman dahlia (*Dahlia variabilis*) termasuk ke dalam famili Compositae, yaitu tanaman bunga hias yang menghasilkan karbohidrat dan disimpan dalam bentuk umbi. Baik bunga dan umbinya dapat dimanfaatkan secara komersial. Bunga dahlia mekar sepanjang tahun. Morfologi tumbuhan dahlia yaitu batang tegak bercabang,

daun bertoreh berwarna hijau dan letaknya bersebelahan. Pada puncak perkembangan tumbuhan, pucuk tangkai mengeluarkan bunga dengan beragam warna (Massolo, 2016). Menurut Pandiyan *et al.* (2012), tanaman dahlia merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia dan mengandung inulin dalam jumlah cukup tinggi. Selain bunganya indah, umbinya juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber inulin. Di Indonesia umbi bunga dahlia sampai saat ini belum bisa dimanfaatkan secara optimal dan masih merupakan limbah yang dihasilkan oleh petani bunga potong. Inulin diproduksi secara komersial dari umbi tanaman *chicory* (*Cichorium intybus* L.) di luar negeri, namun tanaman ini tidak

* Alamat korespondensi:

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro. Jl. Prof. Soedarto SH, Tembalang,
Semarang, Jawa Tengah. Telp./fax.: +622470799494.
E-mail: wikasmara@yahoo.com

ditemukan di Indonesia. Selain itu, inulin belum diproduksi di Indonesia, sehingga kebutuhan inulin untuk industri dan untuk penelitian masih diimpor.

Inulin ialah bentuk polimer fruktosa dari monomer-monomer fruktosa. Hidrolisis inulin menghasilkan produk berupa fruktosa (Susilowati, 2013). Tanaman yang mengandung inulin umumnya berasal dari golongan Liliaceae, seperti daun bawang, bawang merah, bawang putih, dan asparagus; dan Compositae, seperti *Jerusalem artichoke*, dahlia, *chicory*, dan *yacon*. Dua spesies yang saat ini digunakan oleh industri untuk memproduksi inulin berasal dari golongan Compositae, yaitu *Jerusalem artichoke* (*Helianthus tuberosus*) dan *chicory* (*Cichorium intybus*) (Gibson & Delzenne, 2008). Tanaman *chicory* dan *artichoke* tumbuh baik di Amerika Utara sedangkan tanaman dahlia dapat tumbuh baik di dataran tinggi Indonesia. Pada umbi dahlia kadar inulin yang terdapat di dalamnya cukup besar yaitu sekitar 65,7 % berat kering (Ma'aruf, 2011).

Inulinase merupakan enzim hidrolase yang mampu menghidrolisis inulin menjadi inulooligosakarida (IOS) dengan memotong satuan fruktosa dari inulin pada posisi terminal β -2,1. Jumlah inulinase yang diproduksi dapat ditentukan dengan uji aktivitas enzim (Dixon & Webb, 1979; Singh & Gill, 2006). Enzim inulinase dapat diisolasi dari umbi dahlia, *jerusalem artichoke*, *chicory*, dan dandelion, namun aktivitas yang dihasilkan relatif rendah dibandingkan dengan inulinase yang diisolasi dari mikrobial. Mikrobial penghasil inulinase dapat diisolasi dari tanah sekitar umbi dahlia dan perakaran tanaman yang mengandung inulin. Enzim inulinase dari mikrobial lebih potensial sebagai penghasil enzim, karena pertumbuhan mikrobial yang relatif lebih cepat (Susilowati, 2013).

Pertumbuhan merupakan suatu pertambahan bagian-bagian sel. Adanya pertumbuhan sel dapat diketahui dengan adanya pertambahan ukuran dan pembelahan sel. Proses pertumbuhan yaitu proses dinamik dan kinetik yang dapat digunakan untuk melihat atau memprediksi produksi biomassa/produk yang dihasilkan selama proses fermentasi. Faktor utama yang

mempengaruhi pertumbuhan dan perilaku mikroba salah satunya ialah media/sumber karbon sebagai sumber dasar. Produk fermentasi merupakan hasil dari metabolit primer maupun metabolit sekunder. Enzim merupakan hasil dari metabolit primer (Wijanarka *et al.*, 2013a). Pertumbuhan bakteri pada umumnya ditandai dengan empat fase yang khas, yakni periode awal yang tampaknya tanpa pertumbuhan (fase lamban atau *lag phase*) diikuti oleh suatu periode pertumbuhan yang cepat (fase log), kemudian mendatar (fase statis atau *stationary phase*), dan akhirnya diikuti oleh suatu penurunan populasi sel-sel hidup (fase kematian atau penurunan) (Sumarsih, 2003).

METODE PENELITIAN

Sumber Mikroorganisme

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi langsung dari umbi dahlia yang sudah busuk.

Pembuatan larutan tepung umbi dahlia

Umbi dahlia mula-mula dicuci bersih, kemudian dikupas, dipotong kecil-kecil, dikeringkan di bawah sinar matahari selama 3-4 hari, dan dihaluskan hingga menjadi tepung. Diambil 9 gram tepung umbi dahlia yang sudah halus dilarutkan dalam akuadest sebanyak 300 mL, kemudian dipanaskan hingga tepung larut dan disaring menggunakan kapas terlebih dahulu dilanjutkan dengan menggunakan kertas saring hingga tidak didapatkan endapan tepung umbi.

Pembuatan media selektif inulin

Media selektif inulin merupakan media berkonsistensi padat dengan komposisi yang terdiri dari agar 0,85 gram, inulin murni 0,5 gram yang kemudian dilarutkan dengan akuadest 50 mL pada erlenmeyer di dalam *microwave oven*. Larutan dibagi ke dalam 6 tabung reaksi sebagai media kultivasi, masing-masing 3 tabung reaksi untuk bakteri dan 3 tabung reaksi untuk *yeast*. Sisa larutan dalam erlenmeyer dan larutan pada 6 tabung reaksi tadi disterilisasi dalam autoklaf

dengan suhu 121 °C selama 15 menit. Sisa larutan pada erlenmeyer kemudian dituangkan pada dua cawan petri steril sebagai media isolasi mikroba penghasil enzim inulinase.

Pembuatan media produksi

Tahap pembuatan media produksi dibuat dengan komposisi (g/L) yang terdiri dari larutan tepung umbi dahlia 150 mL, NH_4NO_3 (0,345), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (0,555), K_2HPO_4 (0,15), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,075), *yeast extract* (0,225), kemudian larutan dihomogenkan dan dibagi ke dalam 2 erlenmeyer masing masing 50 mL untuk media produksi enzim, kemudian sisa larutan dibagi ke dalam 2 tabung reaksi sebanyak 3 mL sebagai media starter, dan 2 tabung reaksi lainnya sebanyak 5 mL untuk blanko pengukuran pertumbuhan OD. Media produksi disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan buffer sodium asetat 0.1 M pH 5

Buffer sodium asetat dibuat dengan komposisi (g/L) yang terdiri dari CH_3COONa (1,23), akuadest steril 100 mL, CH_3COOH glasial 100% yang ditambahkan sedikit demi sedikit hingga pH larutan menjadi 5. Buffer disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan reagen DNS

Reagen DNS dibuat dengan komposisi (g/L) yang terdiri dari asam dinitrosalisilat (0,175), sodium kalium tartat (32,5), NaOH (2,0) dan 100 mL akuadest. Semua bahan dicampur dalam erlenmeyer steril, larutan DNS yang sudah jadi tidak perlu disterilisasi.

Isolasi mikroba penghasil enzim inulinase

Isolasi mikroba penghasil enzim inulinase dilakukan dengan metode *streak*, sebanyak satu ose suspensi mikroba dari umbi dahlia yang sudah busuk *distreak* ke dalam cawan petri yang berisi media selektif inulin, kemudian diinkubasi selama 2 hingga 3 hari pada suhu ruangan. Koloni yang tumbuh kemudian dikultivasi untuk menjadi kultur murni pada media selektif inulin agar miring dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruangan.

Pembuatan starter

Starter dibuat dengan menginokulasikan bakteri sebanyak satu ose secara aseptik ke dalam masing-masing media produksi steril dalam tabung reaksi, kemudian diagitasi pada *Rotary Shaker* dengan kecepatan 120 rpm dalam suhu ruang selama 20 jam. Hasil kultur bakteri yang tumbuh dicirikan dengan media produksi yang menjadi keruh.

Produksi enzim

Kultur bakteri pada starter setelah 20 jam dipanen, kemudian diinokulasikan pada masing-masing medium produksi steril dalam erlenmeyer, kemudian diagitasi pada *Rotary Shaker* dengan kecepatan 120 rpm dalam suhu ruang. Pemanenan enzim dilakukan per-4 jam, dimulai pada jam ke-0 (setelah pemanenan starter), ke-4, ke-8, ke-12, ke-16, ke-20 dan ke-24. Sampel diambil secara aseptik ke dalam tabung sampel untuk dilakukan pengukuran pertumbuhannya.

Pengukuran pertumbuhan

Kultur bakteri pada starter setelah 20 jam dipanen, diinokulasikan pada masing-masing medium produksi steril dalam erlenmeyer, kemudian diagitasi pada *Rotary Shaker* dengan kecepatan 120 rpm dalam suhu ruang. Tiap 4 jam, kultur dalam erlemeyer diambil sampel secara aseptik dan diukur *optical density* (OD) dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 520 nm.

Menurut Metcalf & Eddy (2003), nilai μ merupakan nilai laju pertumbuhan spesifik pada fase eksponensial. Nilai koefisien μ menunjukkan kecepatan pertumbuhan mikroorganisme. Laju pertumbuhan eksponensial dapat didefinisikan sebagai (1)

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (1)$$

dengan X adalah konsentrasi biomassa (mg/L). Apabila nilai μ konstan, maka integrasi dari persamaan di atas akan menjadi persamaan sebagai berikut:

$$\ln X = \mu \cdot t + \ln X_0 \quad (2)$$

dengan X_0 merupakan konsentrasi biomassa (mg/L) saat $t=0$. Nilai μ merupakan *slope* dari hubungan $\ln X$ terhadap waktu. Kemudian waktu generasi (g) merupakan waktu yang diperlukan untuk membelah diri dari satu menjadi dua sel sempurna.

$$g = \frac{0,693}{\mu} \quad (3)$$

Pemanenan enzim

Kultur bakteri pada starter setelah 20 jam dipanen, diinokulasikan pada masing-masing medium produksi steril dalam erlenmeyer, kemudian diagitasi pada *Rotary Shaker* dengan kecepatan 120 rpm dalam suhu ruang. Pemanenan enzim dilakukan per 4 jam, dimulai pada ke-0 (setelah pemanenan starter), ke-4, ke-8, ke-12, ke-16, ke-20 dan ke-24. Sampel diambil secara aseptis untuk disentrifugasi pada *centrifuge* dengan kecepatan 100 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi yang didapatkan berupa pelet dan *crude enzyme*. *Crude enzyme* digunakan untuk uji aktivitas enzim.

Uji aktivitas enzim

Sebanyak 4 buah tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing perlakuan dengan label ES (Enzim-Substrat), S (Substrat inulin), E (*Crude Enzyme*) dan blanko. Tabung ES dimasukkan 0,5 mL substrat inulin murni 1%, 0,4 mL buffer sodium asetat 0,1 M pH 5 dan 0,1 mL *crude enzyme*; tabung S dimasukkan 0,5 mL substrat inulin murni 1%, 0,4 mL buffer sodium asetat 0,1 M pH 5 dan 0,1 mL akuadest steril; tabung E dimasukkan 0,4 mL buffer sodium asetat, 0,1 mL *crude enzyme* dan 0,5 mL akuadest steril; dan tabung blanko diisi 0,4 mL buffer sodium asetat dan 0,6 mL akuadest steril. Semua tabung diinkubasikan dalam oven pada suhu 50 °C selama 30 menit. Reaksi dimatikan dengan air mendidih \pm 2 menit dan ditunggu hingga larutan hangat-hangat kuku, kemudian ditambahkan 1 mL reagen DNS dan dipanaskan kembali selama \pm 2 menit, ditambahkan 5 mL akuadest dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 570 nm. Aktivitas enzim dinyatakan dalam satuan

Internasional Unit (IU), dimana 1 unit aktivitas enzim berarti sejumlah enzim mampu membebaskan produk sebanyak 1 μ mol per menit. Aktivitas inulinase dapat ditentukan menurut rumus (Bonciu *et al.*, 2010; Park & Yun, 2001; Wijanarka *et al.*, 2013b).

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

dimana:

Abs ES = absorbansi enzim substrat;

Abs E = absorbansi enzim;

Abs ES = absorbansi enzim substrat;

Abs S = absorbansi substrat;

BMf = berat molekul fruktosa (180,1 gr/mol);

P = faktor pengenceran (50 x);

t = waktu inkubasi selama 30 menit;

dengan persamaan regresi kurva fruktosa standar

$$Y_{\text{fruktosa}} = -0,0288 + 0,5398 X_{\text{nilai OD}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi mikroba penghasil enzim inulinase

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi langsung dari umbi dahlia yang sudah busuk, dengan harapan mikroba tersebut merupakan mikroba yang mampu menghasilkan enzim inulinase. Hal ini didasarkan bahwa umbi dahlia mengandung sumber inulin dimana menurut Dewi (2016), kandungan inulin pada umbi bunga dahlia sebesar 69,50–75,48% dari berat kering umbi. Menurut Susilowati (2013), mikrobia penghasil inulinase dapat diisolasi dari tanah sekitar umbi dahlia dan perakaran tanaman yang mengandung inulin.

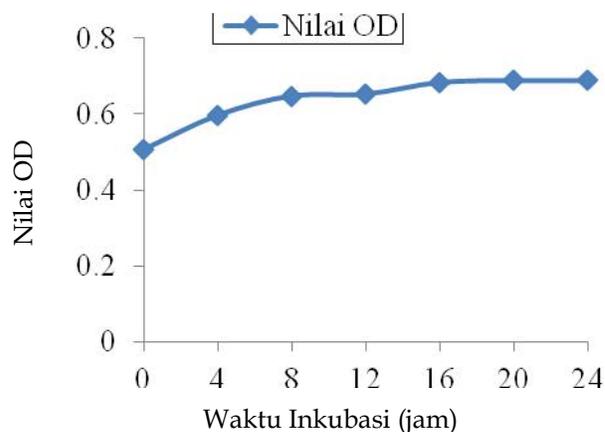
Hasil isolasi menunjukkan bahwa koloni yang tumbuh pada media selektif merupakan koloni bakteri. Sebanyak 3 isolat bakteri diambil dari 3 koloni yang tumbuh terpisah kemudian dikultivasi pada media agar miring dengan komposisi media yang sama, ternyata yang mampu tumbuh dengan baik adalah isolat bakteri 1 dan 3 (IS_1 dan IS_3). Isolat bakteri IS_1 dan IS_3 inilah yang akan diukur laju pertumbuhan spesifik dan aktivitas enzimnya.

Pertumbuhan isolat bakteri IS_1

Fermentasi secara *batch culture* isolat bakteri IS_1 dilakukan pada media produksi cair yang mengandung larutan tepung umbi dahlia, hal tersebut dikarenakan umbi dahlia mengandung sumber inulin dimana menurut Dewi (2016), kandungan inulin pada umbi dahlia sebesar 69,50–75,48 % dari berat kering umbi. Menurut Wijanarka *et al.* (2013b), sumber karbon inulin yang terkandung di umbi dahlia dapat digunakan sebagai bioenergi dan biosintesis untuk proses pertumbuhan.

Uji laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui sifat pertumbuhan bakteri melalui kurva pertumbuhan bakteri. Kurva pertumbuhan bakteri dibuat untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri yaitu fase lag, eksponensial, stasioner, dan kematian (Imron & Purwanti, 2016). Berdasarkan hasil penelitian, pertumbuhan bakteri tertinggi terdapat pada waktu inkubasi 8 jam dengan nilai OD sebesar 0,647. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri IS_1 pada waktu tersebut memasuki fase logaritmik, dimana pada fase ini pertumbuhan bakteri berlangsung cepat, sel-sel membelah dan jumlahnya meningkat secara logaritma sesuai dengan pertambahan waktu disertai dengan meningkatnya produksi metabolit, sehingga aktivitas enzimnya dalam keadaan optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Reiny (2012) bahwa fase logaritmik menggambarkan sel membelah diri dengan laju yang konstan, masa menjadi dua kali lipat dengan laju sama, aktivitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang. Selain itu, dalam penelitian ini dapat kita ketahui bahwa ternyata fase logaritmik dimulai pada jam ke-0 sampai jam ke-16 yang ditandai dengan munculnya nilai OD pada waktu inkubasi ke-0 hingga ke-16 jam, selanjutnya setelah jam tersebut diikuti fase stasioner. Hal tersebut disebabkan adanya starter yang diberikan pada medium pertumbuhan tersebut. Menurut Wijanarka *et al.* (2013a), adanya starter mengakibatkan bakteri langsung mengalami pertumbuhan log tanpa adaptasi dulu dengan lingkungan setempat (meniadakan fase lag dan

pertumbuhan akan langsung memasuki fase eksponensial).



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri IS_1.

Penentuan kecepatan pertumbuhan spesifik berdasarkan atas pengamatan pertumbuhan pada fase logaritmik (Millis & Pittard, 1992). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, isolat bakteri IS_1 mempunyai kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) sebesar 0,02/jam dengan waktu generasi sebesar 34,65 jam. Kecepatan pertumbuhan tersebut mencerminkan isolat bakteri IS_1 mempunyai kemampuan pertumbuhan yang berkaitan langsung dengan fase eksponensial serta produk metabolismenya (enzim inulinase). Namun nilai tersebut sangat rendah jika dibandingkan dengan beberapa penelitian mengenai laju pertumbuhan spesifik mikroba penghasil inulinase. Hal ini mengindikasikan bahwa beberapa faktor pertumbuhan isolat IS_1 perlu diperbaiki untuk meningkatkan laju pertumbuhannya. Pertumbuhan dan metabolisme dalam proses fermentasi sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu, pH, kecepatan agitasi dan tingkat oksigen terlarut. Menurut Pribazari *et al.* (1996), nilai μ semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat yang ditambahkan. Semakin besarnya nilai μ mengindikasikan semakin tingginya laju pertumbuhan mikroorganisme, dan nilai μ yang rendah menunjukkan pertumbuhan mikroorganisme yang lambat. Selain itu menurut Imron & Purwanti (2016) diketahui bahwa semakin tinggi laju pertumbuhan spesifik bakteri semakin

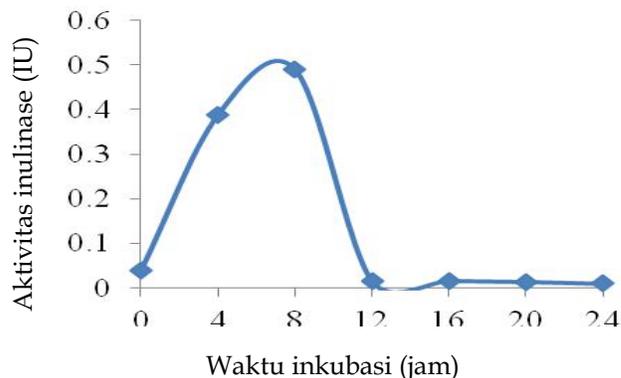
rendah waktu generasi bakteri. Laju pertumbuhan spesifik untuk setiap bakteri berbeda-beda. Hal ini disebabkan karena kandungan enzim pada masing-masing bakteri berbeda yang mempengaruhi proses metabolisme bakteri.

Aktivitas enzim inulinase bakteri IS_1

Enzim inulinase adalah salah satu jenis enzim hidrolase. Inulinase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis inulin menjadi monomer-monomer fruktosa. Enzim Inulinase (R-fruktosidase) bekerja dengan memotong satuan fruktosa dari inulin pada posisi terminal 0-2,1 dan digolongkan sebagai 2,1-8-D-frukto-fruktano hidrolase (EC 3.2.1.7) (Susilowati, 2013).

Berdasarkan hasil penelitian, pada waktu inkubasi 0 jam aktivitas enzim sangat sedikit sehingga tidak menunjukkan adanya aktivitas enzim. Pada waktu inkubasi 0 jam bakteri mulai mengalami fase logaritmik yang ditandai dengan adanya pertumbuhan, sel-sel mulai membelah dan jumlahnya mulai meningkat, namun pada waktu inkubasi ini bakteri belum menghasilkan aktivitas enzim karena belum terlalu banyak menggunakan substrat. Pada waktu inkubasi 4 jam mulai menunjukkan adanya aktivitas enzim yang cukup tinggi yaitu sebesar 0,388 IU dan selanjutnya menghasilkan aktivitas tertinggi pada waktu inkubasi 8 jam yaitu sebesar 0,490 IU. Hal tersebut dikarenakan enzim inulinase telah menghidrolisis substrat inulin menjadi gula reduksi (fruktosa) dalam media produksi dalam jumlah yang cukup banyak. Selain itu, hal ini dapat dikaitkan dengan fase pertumbuhan bakteri dalam media. Pertumbuhan bakteri pada waktu inkubasi 8 jam merupakan puncak dari fase pertumbuhan logaritmik, dimana jumlah sel-selnya meningkat secara logaritma sesuai dengan penambahan waktu diiringi dengan meningkatnya penggunaan substrat sehingga produksi enzim menjadi sangat optimal. Pembuatan media starter bertujuan sebagai media adaptasi bagi bakteri IS_1 untuk dapat memproduksi enzim inulinase, sehingga ketika dicampurkan ke dalam media produksi bakteri tidak perlu lagi untuk beradaptasi, melainkan langsung dapat menghidrolisis substrat dalam media produksi oleh enzim. Aktivitas

enzim pada waktu inkubasi 12 jam menunjukkan adanya penurunan aktivitas yang sangat tajam hingga 0,016 IU, begitu pula pada waktu inkubasi 16, 20 dan 24 jam masih terus mengalami penurunan hingga menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim lagi. Penurunan aktivitas tersebut terjadi karena substrat inulin sebagai sumber karbon telah berkurang sehingga enzim inulinase yang diproduksi juga menurun. Selain itu, hal ini dapat dikaitkan dengan fase pertumbuhan bakteri dalam media. Pertumbuhan bakteri pada waktu inkubasi 12 jam mulai memasuki fase stasioner menuju fase kematian, dimana jumlah sel-selnya tetap bahkan menurun diiringi dengan berkurangnya substrat sehingga produksi enzim menjadi tidak optimal. Menurut Wijanarka *et al.* (2004), sintesis inulinase akan menurun setelah fase stasioner karena jumlah nutrisi dalam medium yang semakin berkurang dan sel mengalami fase kematian.



Gambar 2. Profil aktivitas enzim inulinase (IU/ml) isolat bakteri IS_1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada jam ke-8 bakteri IS_1 mempunyai aktivitas inulinase yang tertinggi yaitu sebesar 0,490 IU. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa aktivitas tersebut termasuk ke dalam metabolisme primer, sehingga produk enzim tersebut merupakan metabolit primer karena dihasilkan pada fase logaritmik, hal tersebut didukung oleh pendapat dari Wijanarka *et al.* (2013a) bahwa apabila dikorelasikan dengan pertumbuhan, maka produk enzim yang dihasilkan pada fase log dapat dikategorikan sebagai metabolisme primer.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa hasil pertumbuhan bakteri IS_1 tertinggi terdapat pada waktu inkubasi 8 jam dengan nilai OD sebesar 0,647 dan kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) sebesar 0,02/jam dengan waktu generasi 34,65 jam. Aktivitas enzim tertinggi yang dihasilkan bakteri IS_1 terdapat pada waktu inkubasi 8 jam yaitu sebesar 0,490 IU. Produk enzim inulinase bakteri IS_1 dihasilkan pada fase pertumbuhan logaritmik sehingga digolongkan sebagai metabolit primer.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, Y. 2016. Prebiotik inulin asal umbi bunga dahlia (*Dahlia variabilis*) sebagai feed additive untuk meningkatkan ketahanan tubuh broiler. [Skripsi]. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Dixon, M and E. Webb. 1979. *Enzymes*. Logman Group Ltd London.
- Gibson, G. R. and N. Delzenne. 2008. Inulin and oligofructose. *Nutrition Today*. 43(2): 54-59.
- Imron, M.F., dan I.F. Purwanti. 2016. Uji kemampuan bakteri *Azotobacter S8* dan *Bacillus subtilis* untuk menyisihkan trivalent chromium (Cr^{3+}) pada limbah cair. *Jurnal Teknik ITS*. 5(1): 5-6.
- Massolo, R. 2016. Presentase karkas dan lemak abdominal broiler yang diberi prebiotik inulin umbi bunga dahlia. [Thesis]. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Ma'aruf, Y. 2011. *Penentuan Kadar RBB pada Dye-Inulin secara HPLC melalui Pembentukan Senyawa Dye-Inulin*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.
- Metcalf and Eddy. 2003. *Wastewater engineering*. Mc.Graw Hill Book Company. New Yor. .
- Millis, N.F. and A.J. Pittard. 1992. *Microbial Physiology and Genetic of Industry Process*. Department of Microbiology. University of Melbourne, Parkville, Victoria, Australia.
- Pandiyan, C., V.R. Annal, G. Kumaresan, B. Murugan, and G. Rajarajan. 2012. Effect of incorporation of inulin on the survivability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic ice cream. *Int Food Res J*. 19(4): 1729-1732.
- Pirbazari, M., R. Varadarajan, N. Badri, and S.H. Kim. 1996. Hybrid membrane-filtration process for leachate treatment. *Water Resource*. 11: 2691-2706.
- Reiny, S.S. 2012. Potensi *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol. *Jurnal IJAS*. 2(2): 604-613.
- Singh, P. and P.K. Gill. 2006. Production of inulinases: Recent advances. *Food Technol. Biotechnol*. 44(2): 151-162.
- Sumarsih, S. 2003. *Mikrobiologi dasar*. Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian UPN Veteran. Yogyakarta.
- Susilowati, A. 2013. Isolasi kulit umbi dahlia merah (*Dahlia spp.*) lokal dan aplikasinya sebagai sumber enzim inulinase untuk perolehan serat inulin. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi 4. Universitas Wahid Hasyim. Semarang.
- Wijanarka, R.S. Ferniah dan Salamah. 2004. Produksi inulinase *Pichia alni* DUCC-W4 pada tepung umbi dahlia (*Dahlia variabilis* Willd) dengan variasi konsentrasi amonium nitrat dan waktu inkubasi. *BIOMA*. 10(2): 58-64.
- Wijanarka, E.S. Soetarto, K. Dewi dan A. Indrianto. 2013a. Kinetika pertumbuhan dan produksi inulinase Fusan F7. *BIOMA*. 15(2): 53-57.
- Wijanarka, E.S. Soetarto, K. Dewi dan A. Indrianto. 2013b. Aktivitas inulinase *Pichia manshurica* dan Fusan F4 pada fermentasi batch dengan umbi dahlia (*Dahlia sp.*) sebagai substrat. *Reaktor*. 14(3): 87-192.