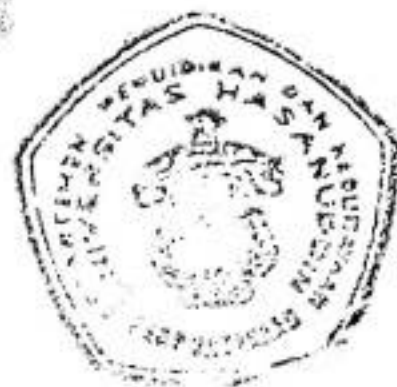


ISOLASI DAN PENENTUAN pH OPTIMUM  
AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$  - AMILASE DARI HASIL  
FERMENTASI KAPANG *Aspergillus niger*  
PADA AIR CUCIAN BERAS

Oleh :  
ROHANI LUKAS  
87 03 020



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. terima	Juli 1992
Asal dari	MIPA
Penyakaya	Zidua) Exp
Harah	Hadiah
No. Inventaris	95 2701 009
No. Klas	Sur. Wp. 93 Lok. I.

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
UJUNG PANDANG  
1993

**ISOLASI DAN PENENTUAN pH OPTIMUM  
AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ - AMILASE DARI HASIL  
FERMENTASI KAPANG *Aspergillus oryzae*  
PADA AIR CUCIAN BERAS**

**OLEH :**

**JOHNNY LUKAS**

**87 03 020**

**Skripsi untuk melengkapi tugas dan  
memenuhi syarat untuk memperoleh  
gelar sarjana**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
UJUNG PANDANG  
1993**

# SKRIPSI

OLEH :

JOHNNY LUKAS

87 03 020



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
UJUNG PANDANG  
1993

**ISOLASI DAN PENENTUAN pH OPTIMUM  
AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ - AMILASE DARI HASIL  
FERMENTASI KAPANG *Aspergillus oryzae*  
PADA AIR CUCIAN BERAS**



Disetujui Oleh

PEMBIMBING UTAMA

(DRS. M. NATSIR DJIDE, M.S.)

PEMBIMBING PERTAMA

(DRS. DAMMA SALAMA)

PEMBIMBING KEDUA

(DRA. NY. H. SUSANTI SAID)

Pada tanggal

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Yang Maha Esa, atas karunia yang telah dilimpahkanNya, sehingga skripsi ini dapat penulis selesaikan. Penyusunan skripsi ini didasarkan pada hasil penelitian yang penulis lakukan di Laboratorium Farmasetika, Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin selama kurun waktu tiga bulan.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada :

1. Drs. M. Natsir Djide, MS sebagai dosen pembimbing utama yang telah bersedia menyumbangkan pikiran dalam memberikan petunjuk, nasehat serta bimbingan selama penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
2. Drs. Damma Salama sebagai dosen pembimbing pertama yang telah banyak menyumbangkan gagasan serta bimbingan selama penelitian sampai terselesainya skripsi ini.
3. Dra. Ny.H.Susanti Said sebagai dosen pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan kepada penulis.
4. Staf dan karyawan laboratorium Farmasetika khususnya laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan laboratorium Kimia Farmasi yang telah membantu dalam penyediaan fasilitas selama penelitian.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Abd.Rauf Patong sebagai Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Dr.Muchsin Darise, MSc sebagai Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Ibu Dra. Siska Herlina Rovanio sebagai Penasehat Akademik penulis.
4. Ayah, Ibu, Kakak, Adik-adik serta kekasih yang senantiasa berdoa dan berkorban baik moril maupun materil demi suksesnya studi penulis.
5. Rekan-rekan mahasiswa seperti Farly Yusran, Herry Santos, serta rekan-rekan lain yang tidak dapat penulis sebutkan atas kerjasamanya dalam melaksanakan penelitian.
6. Semua pihak yang ikut membantu kelancaran penelitian dan penulisan skripsi ini.

Akhirnya kritik dan saran sangat penulis harapkan demi perbaikan tulisan selanjutnya dan semoga skripsi yang sederhana ini dapat dimanfaatkan bagi kepentingan mahasiswa farmasi khususnya bagi pengembangan bidang farmasi.

Ujung Pandang, Juli 1992

Penulis

## ABSTRAK

Telah dilakukan isolasi dan penentuan pH optimum aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diperoleh dari hasil fermentasi kapang *Aspergillus oryzae* pada air cucian beras dengan menggunakan variasi pH : 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5 dan 6,0.

Aktivitas enzim ditentukan berdasarkan jumlah glukosa yang terbentuk dengan menggunakan metode spektrofotometri sinar tampak dengan pereaksi "Glucose Test" yang diukur pada panjang gelombang 530 nm.

Hasil pengamatan aktivitas enzim dianalisis menggunakan model rancangan acak lengkap dan grafik.

Hasil perhitungan aktivitas enzim dengan menggunakan 7 variasi pH memperlihatkan aktivitas terbesar pada pH 4,5 (2,7882 mmol/ml menit).

Filtrat enzim yang diuji masih dalam keadaan kasar, aktivitas optimum pada pH 4,0 - 5,5.

## ABSTRACT

Isolation and determination the optimum pH of  $\alpha$ -amylase enzyme from fermentation in washed rice water by *Aspergillus oryzae* has been conducted. This investigation using variation pH from 3.0; 3.5; 4.0; 4.5; 5.0; 5.5 and 6.0.

The activity of enzyme can be determined based on the formation of glucose using visible spectrophotometry with Glucose Test reagent in 530 nm wave length.

The result of the experiment of enzyme activities then be analysed by complete random design and grafic method.

Calculation of enzyme activity using 7 variation of pH resulted the maximum activity was at pH 4,5 (2,7882 mmol/ml menit).

The tested enzyme extract was crude enzyme, optimum activity at pH 4.0 - 5.5.



## DAFTAR ISI

ISI	HALAMAN
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II POLA PENELITIAN .....	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA .....	8
III.1 URAIAN MIKROORGANISME .....	8
III.1.1 KLASIFIKASI .....	8
III.1.2 GENUS KHAS <i>Aspergillus</i> .....	8
III.2 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PERTUMBUHAN KAPANG DAN PEMBENTUKAN PRODUK .....	10
III.2.1 SUHU .....	10
III.2.2 HARGA pH .....	11
III.2.3 ZAT MAKANAN (NUTRIEN) .....	11
III.3 PATI DAN BERAS .....	12
III.3.1 DEFINISI DAN PENGERTIAN PATI .....	12
III.3.2 BERAS .....	13
III.3.3 AIR CUCIAN BERAS (LERI) .....	15
III.4 ENZIM .....	16
III.4.1 DEFINISI DAN PENGERTIAN ENZIM .....	16

III.4.2 ENZIM PEMECAH PATI (AMILASE) ..	17
III.4.3 ENZIM $\alpha$ -AMILASE .....	17
III.4.4 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PRODUKSI ENZIM .....	20
III.4.5 PENGUKURAN KUANTITATIF AKTIVITAS ENZIM .....	28
III.4.6 FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI AKTIVITAS ENZIM .....	29
BAB IV. ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN .....	35
IV.1 ALAT YANG DIGUNAKAN .....	35
IV.2 BAHAN-BAHAN YANG DIGUNAKAN .....	36
IV.3 METODE PENELITIAN .....	37
IV.3.1 PENGAMBILAN BAHAN PENELITIAN	37
IV.3.2 SUMBER MIKROORGANISME .....	37
IV.3.3 STERILISASI ALAT DAN BAHAN ..	37
IV.3.4 PEMBUATAN MEDIUM PDA DAN PENYIAPAN BIAKAN MIKROBA ....	38
IV.3.5 PRODUKSI ENZIM .....	38
IV.3.5.1 PEMBUATAN MEDIA PRODUKSI .....	38
IV.3.5.2 PENYIAPAN SUSPENSI SPORA .....	39
IV.3.5.3 FERMENTASI .....	39
IV.3.5.4 UJI IODINE .....	40
IV.3.5.5 ISOLASI ENZIM .....	40

IV.3.6 PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM ...	40
IV.3.6.1 PEMBUATAN DAPAR	
SITRAT .....	40
IV.3.6.2 PENETAPAN PANJANG	
GELOMBANG MAKSIMUM.	41
IV.3.6.3 PEMBUATAN KURVA	
BAKU KADAR GLUKOSA	
TERHADAP SERAPAN...	41
IV.3.6.4 UJI AKTIVITAS ENZIM	42
IV.3.7 PENGOLAHAN DATA .....	43
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....	44
V.1 HASIL PENELITIAN .....	44
V.2 PEMBAHASAN .....	44
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....	48
VI.1 KESIMPULAN .....	48
VI.2 SARAN .....	48
DAFTAR PUSTAKA .....	49

## TABEL

## DAFTAR TABEL

## HALAMAN

I.	KOMPOSISI VITAMIN DALAM BERAS .....	14
II.	KOMPOSISI ASAM AMINO DALAM BERAS .....	14
III.	KOMPOSISI ASAM LEMAK DALAM BERAS .....	15
IV.	SIFAT-SIFAT $\alpha$ -AMILASE DARI KAPANG <i>Aspergillus oryzae</i> .....	20
V.	KOMPOSISI ASAM AMINO ENZIM $\alpha$ -AMILASE YANG DIPEROLEH DARI KAPANG <i>Aspergillus</i> <i>oryzae</i> .....	20
VI.	KOMPOSISI ASAM SITRAT DAN Na. SITRAT PADA PEMBUATAN DAPAR SITRAT BERBAGAI pH.....	40
VII.	SERAPAN LARUTAN GLUKOSA DENGAN KONSEN- TRASI 1 mg/ml SETELAH PENAMBAHAN LARU- TAN "GLUCOSE TEST" PADA BERBAGAI PANJANG GELOMBANG .....	52
VIII.	SERAPAN LARUTAN GLUKOSA DENGAN BERBA- GAI KONSENTRASI SETELAH PENAMBAHAN "GLUCOSE TEST" PADA PANJANG GELOMBANG 530 nm.....	53
IX.	HASIL UJI IODINE TERHADAP MEDIUM FERMENTASI.....	54
X.	AKTIVITAS ENZIM $\alpha$ -AMILASE PADA BERBA- GAI VARIASI pH .....	54

## DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	HALAMAN
1. SISTIM INDUKSI MODEL JACOB-MONOD. JIKA ADA INDUSER.....	21
2. SISTIM INDUKSI MODEL JACOB-MONOD. JIKA TIDAK ADA INDUSER.....	22
3. AKTIVASI PREKURSOR.....	24
4. SISTIM REPRESI UMPAN BALIK MODEL JACOB-MONOD JIKA ADA KOREPRESOR.....	26
5. SISTIM REPRESI UMPAN BALIK MODEL JACOB-MONOD JIKA TIDAK ADA KOREPRESOR.....	26
6. PENGARUH KONSENTRASI ENZIM TERHADAP LAJU REAKSI.....	30
7. PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT TERHADAP LAJU REAKSI.....	33
8. GRAFIK HUBUNGAN ANTARA PANJANG GELOMBANG DAN SERAPAN LARUTAN GLUKOSA DENGAN KONSEN- RASI 1 mg/ml .....	52
9. KURVA BAKU HUBUNGAN ANTARA KONSENTRASI DAN SERAPAN LARUTAN GLUKOSA .....	53
10. MEDIUM AIR CUCIAN BERAS SEBELUM INOKU- LASI.....	55
11. HASIL UJI IODINE TERHADAP MEDIUM FER- MENTASI.....	56

12. MEDIUM AIR CUCIAN BERAS SETELAH FER- MENTASI .....	56
13. CRUDE ENZIM YANG DIDAPATKAN.....	57
14. ALAT SPEKTROFOTOMETER .....	57

## DAFTAR LAMPIRAN.

LAMPIRAN	HALAMAN
A. PERHITUNGAN STATISTIK PENGARUH pH TERHADAP AKTIVITAS ENZIM DENGAN UJI RANCANGAN ACAK LENGKAP .....	58
B. GRAFIK HUBUNGAN ANTARA pH DAN AKTIVITAS ENZIM	.60
C. KOMPOSISI MEDIA DAN PEREAKSI YANG DIGUNAKAN	...61
D. SKEMA Pengerjaan .....	62

# BAB I

## PENDAHULUAN

Pada tahun-tahun terakhir ini, bidang bioteknologi memegang peranan penting dalam pembangunan khususnya pembangunan di bidang teknologi. Salah satu senyawa kimia yang berperan penting dalam pengembangan bioteknologi adalah enzim. Enzim merupakan katalisator protein untuk reaksi-reaksi kimia pada sistem biologi. Pada hakekatnya semua reaksi biokimia dikatalisis oleh enzim (1).

Enzim dapat diperoleh dari jaringan tanaman, hewan dan mikroorganisme. Enzim yang berasal dari mikroorganisme lebih banyak digunakan dibandingkan dengan enzim dari jaringan tanaman atau hewan karena dapat diperoleh dalam jumlah yang tidak terbatas (2). Salah satu enzim yang penting dalam bidang bioteknologi dan farmasi adalah enzim  $\alpha$ -amilase.

Enzim  $\alpha$ -amilase dalam industri fermentasi etanol digunakan untuk proses likuifikasi dan juga umum digunakan pada pabrik-pabrik glukosa (2). Dalam bidang farmasi, enzim ini digunakan sebagai pencahar, anti inflamasi dan untuk pengobatan edema (3).

Enzim  $\alpha$ -amilase merupakan salah satu dari tiga kelompok besar enzim amilase yang meliputi  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase dan glukoamilase (amiloglukosidase) (4). Diban-



ding  $\beta$ -amilase kemampuan menghidrolisis  $\alpha$ -amilase lebih kuat (5). Enzim pada tahap awal dapat mendegradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Pada tahap kedua terjadi degradasi amilopektin yang akan menghasilkan glukosa, maltosa dan berbagai jenis limit dekstrin (6).

Menurut Crueger W & A. Crueger 1984,(7), dan Mangun Wardoyo dkk 1991,(8), bahwa enzim  $\alpha$ -amilase dihasilkan oleh *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis* dan *Aspergillus oryzae*. Enzim  $\beta$ -amilase umumnya dihasilkan oleh tumbuh-tumbuhan dan beberapa mikroorganisme seperti *Bacillus polymyxa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Streptomyces* sp, *Pseudomonas* sp dan *Rhizopus javanicus*. Sedangkan glukamilase dihasilkan oleh kelompok kapang *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Rhizopus niveus*, *Rhizopus dilemar*, *Rhizopus formasensis* dan *Rhizopus javanicus*.

Aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, komposisi media dan ketersediaan nutrisi selama proses fermentasi. Senyawa karbon merupakan komponen penting bagi mikro organisme. Ion hidrogen juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim (9).

Air cucian beras cukup banyak mengandung karbohidrat, protein, mineral dan vitamin yang terbawa dari selaput beras ketika dicuci. Dengan demikian dimungkinkan untuk dapat dimanfaatkan sebagai media bagi mikroorga-

nisme untuk keperluan tertentu. Salah satu diantaranya adalah untuk media yang digunakan dalam produksi enzim  $\alpha$ -amilase (10).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan atas keaktifan enzim (mmol/ml menit) dari hasil fermentasi pada media produksi yang diuji pada berbagai variasi pH. Semua data dimasukkan dalam tabel dan dianalisis menggunakan uji statistik rancangan acak lengkap (RAL).

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan air cucian beras untuk produksi enzim  $\alpha$ -amilase oleh kapang *Aspergillus oryzae* serta untuk menentukan pH optimum aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase tersebut.



## BAB II

### POLA PENELITIAN

#### II.1 Pengambilan Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang berupa beras diambil dari Desa Romanglasa Kecamatan Bontonompo Kabupaten Gowa.

#### II.2 Sumber Mikroorganismenya

Kapang *Aspergillus oryzae* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi Mikrobiologi Farmasi Laboratorium Farmasetika Jurusan Farmasi, F.MIPA UNHAS.

#### II.3 Sterilisasi Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan sesuai dengan petunjuk buku-buku resmi.

#### II.4 Pembuatan Medium Potato Dextrose Agar (PDA) dan Penyiapan Biakan Mikroba

##### II.4.1 Pembuatan Medium PDA

Medium PDA mengandung kentang, Dextrose, agar dan air suling dengan pH 5,6  $\pm$  0,1.

##### II.4.2 Penyiapan Biakan Mikroba

Dibuat secara aseptis, kapang *Aspergillus oryzae* diinokulasikan pada agar miring PDA dan diinkubasikan selama 10 hari pada suhu 30<sup>o</sup> C.

## II.5 Produksi Enzim

### II.5.1 Pembuatan Media Produksi

Media produksi terdiri dari air cucian beras sebagai sumber karbon,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 4,0

### II.5.2 Penyiapan Suspensi Spora

Dilakukan secara aseptis, pada permukaan agar yang ditumbuhi spora dimasukkan larutan NaCl fisiologis 0,9 % lalu digosok perlahan dengan jarum inokulasi steril.

### II.5.3 Fermentasi

Fermentasi dilakukan pada alat fermentasi yang dimodifikasi dan dilengkapi aerator dan pengaduk magnetik (stirer).

### II.5.4 Uji Iodine

Dilakukan untuk melihat pertumbuhan sel secara kualitatif.

### II.5.5 Isolasi Enzim

Dilakukan dengan cara penyaringan.

## II.6 Pengujian Aktivitas Enzim

### II.6.1 Pembuatan Dapar Sitrat

Dapar sitrat terdiri dari larutan 0,1 M asam sitrat dan larutan 0,1 M sodium sitrat dengan perbandingan tertentu sehing-

ga diperoleh variasi pH 3,0; 3,5 ;4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0.

#### II.6.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Dilakukan dengan mengukur serapan larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/ml pada beberapa panjang gelombang, lalu dibuat grafik hubungan antara panjang gelombang dan serapan unyuk menentukan panjang gelombang maksimum.

#### II.6.3 Pembuatan Kurva Baku Kadar Glukosa Terhadap Serapan

Dilakukan menurut metode Nelson-Somogyi.

#### II.6.4 Uji Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim diuji berdasarkan atas jumlah enzim (ml) yang dapat menghasilkan 1 mmol glukosa permenit dari hasil hidrolisis pati terlarut.

#### II.7 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dikumpulkan dan selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan model Rancangan Acak Lengkap (RAL)

#### II.8 Pembahasan Hasil

Pembahasan hasil dilakukan terhadap data yang telah diolah secara statistik.

## II.9 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pembahasan dan analisis data.

BAB III  
TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Uraian Mikroorganisme

III.1.1 Klasifikasi (11,12)

Divisi	: Mycota
Subdivisi	: Eumycotina
Klas	: Ascomycetes
Subklas	: Eueascomycetidae
Ordo	: Aspergillales
Famili	: Aspergillaceae
Genus	: <i>Aspergillus</i>
Spesies	: <i>Aspergillus oryzae</i>

III.1.2 Genus Khas *Aspergillus* (11,12,13)

*Aspergillus* terdapat dimana-mana, baik di daerah kutub maupun di daerah tropik, dan hampir pada setiap substrat. Sporanya berhamburan di udara maupun di tanah dan tidak jarang terdapat pada makanan yang dibiarkan pada udara terbuka.

Di antara spesies-spesies *Aspergillus* ada yang patogen pada manusia dan hewan. Di samping itu ada pula spesies-spesies yang dimanfaatkan oleh manusia dalam perindustri-an. Orang membuat asam organik, asam gluko-

nat dan asam sitrat, dengan menggunakan *Aspergillus niger*. beberapa sediaan enzim dan jenis antibiotika dapat dihasilkan oleh *Aspergillus*.

Perkembangbiakan *Aspergillus* dengan cara aseksual lebih banyak dikenal, dan memang perkembangbiakan dengan konidia yang biasa dilakukan dimana-mana. Pembentukan konidia dimulai dari ujung-ujung hifa tertentu yaitu hifa-hifa yang tumbuh sedikit tegak. Pada pangkal hifa ini terdapat suatu alas yang disebut sel-kaki. Sebenarnya sel kaki ini bukan suatu sel tersendiri, melainkan suatu sel dengan bagian yang tegak sebagai hifa. Pada suatu waktu ujung dari hifa yang menegak ini menggelembung merupakan vesikel. Pada permukaan vesikel tumbuh bangunan serupa botol yang ujungnya menghasilkan konidia. Pembentukan konidia dimulai dari ujung, jadi konidia yang paling tua adalah konidia yang paling ujung. Seringkali beberapa konidia masih tampak bergandengan meskipun sudah terlepas dari sel-sel yang dibawahnya. Sel-sel penghasil konidia disebut sterigma, dan sterigma tidak segera



lepas dari vesikel. Pada spesies *Aspergillus* terdapat dua lapisan sterigma, lapisan yang terdekat pada vesikel disebut sterigma pertama, sedang lapisan berikutnya disebut sterigma kedua. Bagian hifa dibawah vesikel sampai sel-kaki disebut konidiofor.

Dalam substrat yang cocok, maka baik askospora maupun konidiospora cepat tumbuh menjadi koloni kecil berupa serabut putih. Seringkali dalam waktu kurang dari satu hari telah mulai tampak warna tertentu. Ini berarti bahwa sporulasi telah terjadi, konidia telah terbentuk.

### III.2 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Kapang Dan Pembentukan Produk (14,15)

#### III.2.1 Suhu

Suhu berpengaruh langsung pada kecepatan pertumbuhan mikroorganisme, kecepatan sintesis enzim dan kecepatan inaktivasi enzim. Suhu terlalu tinggi dapat mengakibatkan proses pengeringan protein yang mengakibatkan kematian sel, sedangkan suhu yang terlalu rendah akan mengurangi aktivitas enzim hingga pertumbuhan mikroorganisme terganggu.

Pembentukan enzim ekstraseluler akan lebih baik pada suhu yang lebih rendah dari suhu optimum pertumbuhan. Hal ini terjadi karena energi yang diperoleh dari respirasi lebih banyak digunakan untuk melakukan pembentukan spora dari pada miselium. Pembentukan miselium akan mempengaruhi jumlah enzim yang dihasilkan kapang.

### III.2.2 Harga pH

Harga pH media adalah salah satu faktor yang penting untuk pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan produk fermentasi.

Kapang pada umumnya lebih toleran terhadap suasana asam sampai netral yaitu pH 3-7. *Aspergillus oryzae* mempunyai kisaran pH untuk tumbuh cukup luas yaitu 2,8 - 8,8, sedangkan pH optimumnya tergantung pada produk apa yang diharapkan.

### III.2.3 Zat Makanan (Nutrien)

Karbohidrat adalah sumber utama yang diperlukan dalam pertumbuhan kapang. *Aspergillus oryzae* akan tumbuh dengan baik jika menggunakan glukosa, fruktosa dan manosa. Demikian pula halnya dengan maltosa, sukrosa dan xylosa.

Nutrien lain yang cukup memegang peranan penting adalah senyawa nitrogen. Mineral adalah nutrisi lain yang dibutuhkan mikroorganisme. Media untuk pertumbuhan pada umumnya memerlukan Magnesium (Mg), Fosfor (P), Kalium (K), Sulfur (S), Kalsium (Ca) dan Klor (Cl) sebagai komponen esensialnya. Unsur-unsur tersebut ditambahkan berupa garamnya dengan konsentrasi yang tepat.

### III.3 Pati dan Beras

#### III.3.1 Definisi dan Pengertian Pati (1,5)

Pati merupakan polimer D-glukosa dengan bobot molekul yang besar dan merupakan cadangan karbohidrat yang utama dalam tanaman. Pati dibentuk dari rantai  $\alpha$ -glukosa. Senyawa seperti ini yang hanya menghasilkan glukosa pada hidrolisis disebut glukosa atau glukukan. Pati alam tidak larut dalam air dan memberi warna biru dengan larutan yodium. Bentuk mikroskopik dari butir-butir pati adalah khas untuk sumber pati.

Dua unsur utama pati adalah amilosa dan amilopektin. Perbandingan kandungan amilosa dan amilopektin bervariasi dalam

pati tetapi umumnya berkisar antara 1 bagian amilosa dan 3 bagian amilopektin.

Struktur amilosa berbentuk heliks tanpa cabang dan menyebabkan warna dengan yodium dan amilopektin terdiri dari rantairantai yang sangat bercabang yang hanya memberi warna merah dengan yodium sebab mereka tidak membelit dengan baik. Masing-masing rantai terdiri atas  $\alpha$ -glukosa 20-30 residu glukosa. Residu glukosa dihubungkan oleh ikatan 1 ---> 4 dalam rantai dan oleh ikatan 1 ---> 6 pada tempat percabangan.

#### 111.3.2 Beras (16)

Menurut Buckle K.A dkk (1978), bahwa komponen kimia utama dari beras adalah karbohidrat (utamanya pati, kurang lebih 80 % dari material kering), lemak (kurang lebih 5 % dari material kering), cengan tambahan mineral (kurang lebih 2 %), air dan vitamin-vitamin.

Berikut ini disajikan tabel komposisi vitamin, asam amino, asam lemak dan mineral dalam beras.

TABEL I. Komposisi Vitamin Dalam Beras

Vitamin	Jumlah (ug/g)
Vitamin B1	4,0
Riboflavin (B2)	0,6
Asam nikotinat	53
Asam pantotenat	17
Biotin	0,1
Piridoksin (B6)	10,3
Asam folat	0,6
Kholin	900

\*) Buckle, dkk 1978

TABEL II. Komposisi Asam Amino Dalam Beras

Asam Amino	Jumlah (g asam amino 16 g protein)
Arginin	7,7
Cystine	1,1
Histidin	2,3
Isoleusin	3,9
Leusin	8,0
Lisin	3,7
Meotinin	2,4
Fenilalanin	5,2
Treonin	4,1
Triptofan	1,4
Tirosin	3,3
Valin	5,7
Alanin	6,0
A.Aspartat	10,4
A.Glutamat	20,4
Glisin	5,0
Prolin	4,8
Serin	5,2
Protein NX5,7	11,1

TABEL III. Komposisi Asam lemak Dalam Beras

Asam lemak	Jumlah(%)
Jenuh :	
Miristat	-
Palmitat	-
Stearat	17,6
Tidak Jenuh :	
Palmitoleat	47,6
Oleat	34,0
Linoleat	0,8
Linolenat	-

\*) Buckle, dkk (1978)

### III.3.3 Air Cucian Beras (Leri) (10,17).

Negara Indonesia merupakan negara agraris yang telah mencapai swasembada beras pada pelita IV ini dengan makanan pokok penduduk Indonesia adalah beras. Hal ini menunjukkan hampir setiap hari rumah tangga perharinya menghasilkan/membuang limbah yang berupa air cucian beras (leri). Jenis limbah ini sejak dahulu hingga sekarang belum jelas bentuk dan jenis pemanfaatannya. Pada umumnya terbuang percuma ke selokan-selokan atau tergenang bersama air limbah yang lainnya.

Selaput beras (pada bagian permukaan butir padi pecah kulit) merupakan sumber vitamin B1 (thiamin) yang penting dalam

metabolisme tubuh disamping juga dikenal sebagai zat anti beri-beri, maka dimungkinkan jenis limbah ini kaya akan zat-zat karbohidrat, protein, mineral dan vitamin dari beras yang tercuci dan masih dapat dimanfaatkan.

### III.4 Enzim

#### III.4.1 Definisi Dan Pengertian Enzim (1,5)

Enzim adalah protein yang diproduksi oleh sel hidup dan digunakan oleh sel tersebut untuk mengkatalisis reaksi kimia yang spesifik.

Enzim diklasifikasikan berdasarkan peraturan Komisi Enzim Internasional atau sistem IEC. Sistem tersebut membagi enzim menjadi : Dksidoreduktase yang mengkatalisis reaksi oksidasi reduksi; Liase yang mangkatalisis reaksi addisi pada ikatan rangkap atau kebalikan reaksi tersebut; Transferase yang mengkatalisis pemindahan gugus fungsional; Ligase yang mengkatalisis reaksi pembentukan ikatan dengan pembebasan ATP; Isomerase yang mengkatalisis reaksi rasemisasi dan Hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis.

### III.4.2 Enzim Pemecah Pati (amilase) (10,14,15)

Enzim-enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pati terdapat banyak dalam bahan alam, sekret pencernaan hewan dan dalam sel hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Enzim-enzim ini dapat dibagi dalam beberapa kelompok berdasarkan mekanisme aksinya yaitu:

- a.  $\alpha$ -amilase, yang memecah pati secara acak dari tengah atau dari bagian dalam molekul, karena itu disebut endoamilase.
- b.  $\beta$ -amilase, yang menghidrolisis unit-unit gula dari ujung molekul pati, karena itu disebut eksoamilase.
- c. Glukoamilase, yang dapat memisahkan glukosa dari terminal gula non-pereduksi substrat pati.

### III.4.3 Enzim $\alpha$ -amilase (5,14,18)

Enzim  $\alpha$ -amilase (  $\alpha$ -1,4 glukanhidrolase atau EC 3.2.1.1 ) terdapat pada tanaman, jaringan mamalia dan mikroorganisme.  $\alpha$ -amilase termasuk enzim ekstraseluler yang memecah molekul dari dalam (endoamilase).



Dari kapang,  $\alpha$ -amilase dapat diisolasi dari *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*.

Sifat  $\alpha$ -amilase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* sama dengan yang dihasilkan oleh *Aspergillus oryzae*. Tetapi beberapa strain *Aspergillus niger* dapat menghasilkan  $\alpha$ -amilase tahan asam yang stabil pada pH 2 dan kurang stabil pada suhu tinggi.

Cara kerja  $\alpha$ -amilase melalui 2 tahap, pertama degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Kedua, degradasi amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa dan beberapa jenis limit dekstrin.

Aktivitas  $\alpha$ -amilase ditentukan dengan mengukur hasil degradasi pati, biasanya penurunan kadar pati larut atau dari kadar dekstrinnya dengan menggunakan substrat jenuh. Hilangnya substrat dapat diukur dengan pengurangan derajat pewarnaan iodium terhadap substrat.

Enzim  $\alpha$ -amilase yang berasal dari kapang termasuk enzim labil terhadap panas. Enzim tersebut inaktif sebelum tercapai suhu gelatinisasi pati.

*Aspergillus niger* mampu menghasilkan  $\alpha$ -amilase stabil asam dan  $\alpha$ -amilase tidak stabil asam bila tumbuh pada kondisi netral.

$\alpha$ -amilase mengandung paling sedikit 1 gram atom Ca per molekul dan melekat erat pada enzim. Adanya Ca menyebabkan enzim ini disebut "calcium metal coenzim".

Tetapi atom Ca dapat dilepas dengan pengkelat (EDTA) seperti yang terjadi pada  $\alpha$ -amilase tahan asam dan tidak tahan asam dari *Aspergillus niger* yang mengandung 1 atom Ca per molekul. Untuk mengatasi kehilangan Ca ditambahkan kembali atom Ca.

Atom Ca berfungsi menjaga molekul enzim pada konformasi yang optimum untuk aktivitas dan stabilitas. Oleh karena itu diperlukan Ca yang cukup agar enzim mempunyai aktivitas maksimum. Penambahan garam Ca pada umumnya digunakan untuk mencegah denaturasi protein enzim karena panas, walaupun pada kenyataannya Ca yang ada di molekul pati cukup untuk menyeimbangkan Ca yang lepas dari enzim.

Berikut ini disajikan beberapa sifat enzim  $\alpha$ -amilase :

Tabel IV. Sifat-sifat Enzim  $\alpha$ -amilase Yang Diperoleh Dari kapang

Mikroorganisme	pH	Suhu	BM
<i>A. niger</i>	5,0-6,0	60	--
<i>A. oryzae</i>	4,5-5,9	40	52.600

\*) Pazur J.H (1965).

Tabel V. Komposisi Asam Amino Enzim  $\alpha$  Amilase Yang Diperoleh Dari Kapang *Aspergillus oryzae*

Jenis Asam Amino	Jumlah (g/100 g protein)
Asam aspartat	15,91
Threonin	8,38
Serin	6,04
Asam glutamat	8,09
Prolin	4,22
Glisin	5,68
Alanin	5,92
Valin	6,03
Metionin	2,14
Isoleusin	6,34
Leusin	7,64
Tirosin	10,88
Fenilalanin	3,99
Histidin	1,82
Lisin	4,77
Arginin	2,97
Triptofan	3,78
Cystin	2,29

\*) Pazur J.H (1965)

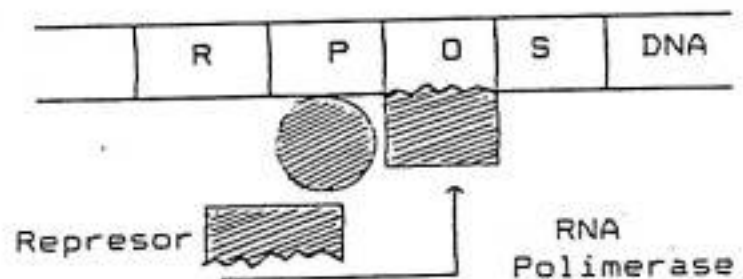
#### 111.4.4 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Enzim. (14,19).

Faktor-faktor penting untuk produksi metabolit primer, metabolit sekunder dan

enzim adalah induksi, pengaturan katabolit dan pengaturan umpan balik.

a. Induksi

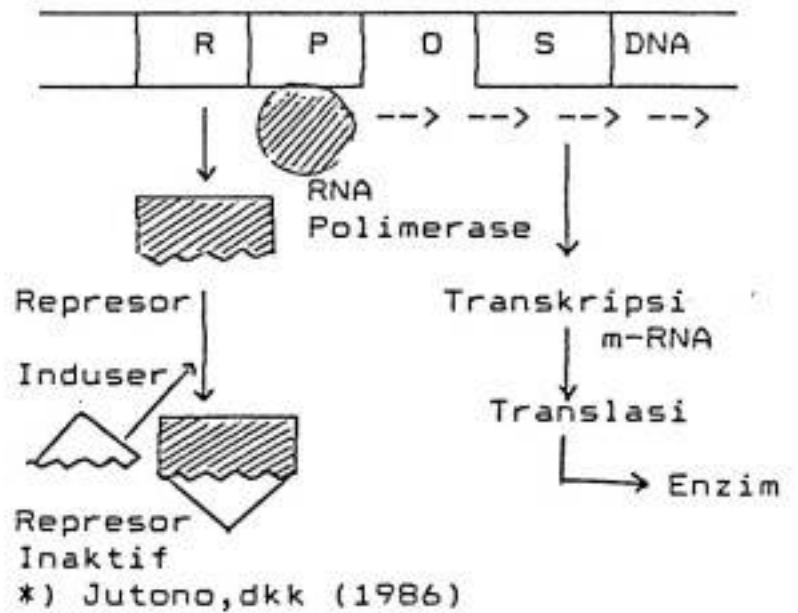
Induksi enzim adalah peningkatan produksi enzim tertentu karena adanya penambahan substrat spesifik. Substrat yang ditambahkan disebut penginduksi. Model induksi yang paling banyak diterima masyarakat ilmiah adalah yang dikemukakan oleh Jacob-Monod seperti pada gambar: . .



\*) Jutono,dkk (1986)

Gambar 1. Sistim Induksi Model Jacob-Monod

Jika Tidak Ada Induser.



Gambar 2. Sistim Induksi Model Jacob-Monod  
Jika Ada Induser.

Mutasi dalam gen R dan gen O dapat terjadi. Gen R dapat berubah menjadi tidak mampu berfungsi atau membuat suatu protein represor yang inaktif. Sedangkan gen O dapat tidak memiliki afinitas untuk protein represor. Mutasi yang demikian dinamakan konstitutif, dan enzim yang terbentuk disebut enzim konstitutif.

**b.Pengaturan Katabolit**

Bila media yang mengandung lebih dari satu macam substrat, mikroorganisme mampu memproduksi semua enzim yang diperlukan untuk mencerna berbagai substrat tersebut. Tetapi sel mikroorga-

nisme hanya akan memproduksi enzim yang diperlukan untuk mencerna substrat yang lebih sesuai atau disukai terlebih dulu, yang biasanya adalah glukosa. Substrat yang lebih disukai disebut primer. Jika substrat primer telah habis, mikroorganisme akan mensintesa enzim yang diperlukan untuk mencerna substrat sekunder.

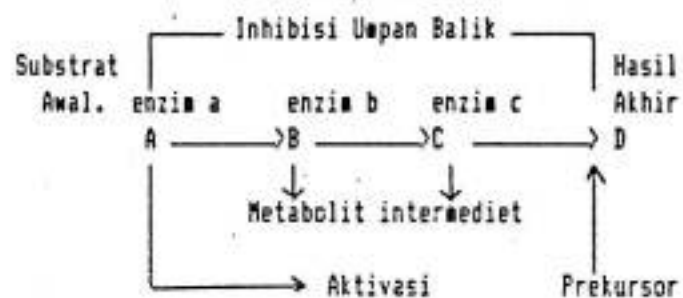
Katabolit represi adalah fenomena tentang kemampuan suatu produk atau zat antara dalam rangkaian reaksi katabolit yang dikatalis oleh enzim, untuk merepresi pembentukan beberapa atau semua enzim katabolit yang bersangkutan.

Satu tipe lain pengaturan katabolit adalah penghambatan katabolit yaitu katabolisme dari suatu sumber karbon yang dapat dengan cepat digunakan untuk menghambat aktivitas enzim tertentu.

#### c. Pengaturan Umpan Balik

Terdapat dua pengaturan umpan balik yaitu penghambatan umpan balik (inhibition) dan sintesa represi umpan balik (repression). Selain itu terdapat

fenomena lain yang mampu menggerakkan suatu rangkaian reaksi, kejadian ini disebut aktivasi prekursor. Penggambaran aktivasi prekursor adalah sebagai berikut



\*) Jutono, dkk (1986)

Gambar 3. Aktivasi Prekursor

Aktivitas enzim di dalam sel diatur sesuai dengan kebutuhan. Jika hasil dari suatu rangkaian reaksi enzim mulai menumpuk di dalam sel. Maka kerja enzim pertama yang terlibat dalam sintesa tersebut dihambat. Dengan demikian hasil dari rangkaian reaksi dihentikan untuk sementara. Fenomena ini disebut penghambatan umpan balik.

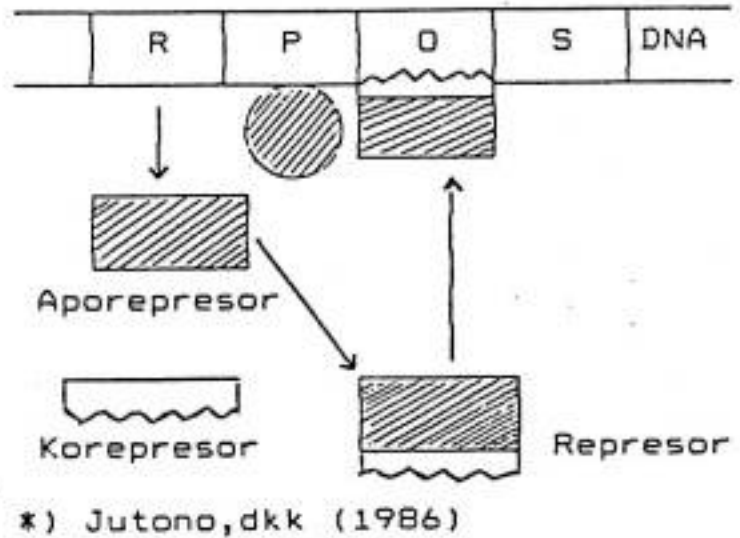
Berbeda dengan inhibisi kompeti-

tif, dalam penghambatan umpan balik, inhibitor adalah produk akhir yang harus sama dengan substrat baik struktur maupun bentuknya. Enzim yang dihambat melalui penghambatan umpan balik ini mempunyai dua sisi fungsional. Satu sisi akan berikatan dengan inhibitor dan satu sisi berikatan dengan substrat. Terisiny sisi yang berikatan dengan inhibitor menyebabkan perubahan bentuk molekul enzim, sehingga mengganggu aktivitas sisi yang berikatan dengan substrat.

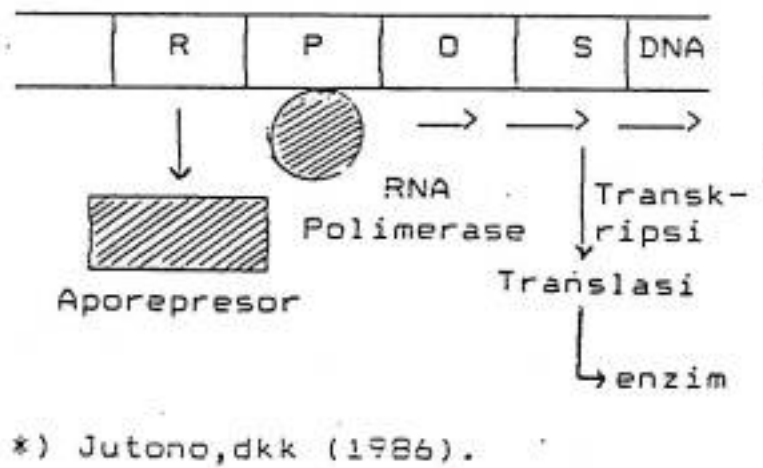
Represi umpan balik lebih menunjukkan kepada pencegahan pembentukan enzim. Represi biasanya terjadi karena adanya suatu turunan produk sasaran pada jalur konversi tersebut.

Sistim represi umpan balik adalah sebagai berikut.





Gambar 4. Sistim Represi Umpan Balik  
Model Jacob - Monod  
Jika Ada Korepresor



Gambar 5. Sistim Represi Umpan Balik  
Model Jacob - Monod  
Jika Tidak Ada Korepresor

Enzim yang mengalami represi umpan balik yang memiliki gen R yang

menghasilkan protein represor (Aporepresor). Aporepresor bersifat inaktif, tetapi dapat diaktifkan dengan sebuah korepresor yang merupakan hasil akhir jalur biosintesa.

Protein represor yang teraktivasi kemudian berinteraksi dengan gen O dan mencegah transkripsi gen S kepada m-RNA. sehingga enzim tidak terbentuk.

Bila korepresor tidak ada, maka aporepresor tetap inaktif. Sehingga tidak berinteraksi dengan gen O, dan transkripsi gen S kepada m-RNA terjadi. Enzim-enzim degradatif umumnya diatur oleh proses induksi dan pengaturan katabolit. Sedangkan enzim biosintesa yang menyebabkan senyawa antara metabolit menjadi senyawa kompleks, umumnya diatur oleh pengaturan umpan balik. Potensi induksi dan penghambatan katabolit pada sebuah sel menjamin bahwa enzim inducibel hanya diproduksi bila substrat tersedia. Pengaturan umpan balik terjadi untuk mengatur kecepatan produksi akhir terhadap kecepatan sintesa makromolekul.

### III.4.5 Pengukuran Kuantitatif Aktivitas Enzim (1)

Jumlah enzim yang sangat sedikit dalam sel menimbulkan masalah dalam penetapan jumlah enzim dalam ekstrak jaringan atau cairan, sangat berbeda dari penetapan konsentrasi zat-zat organik atau anorganik yang jumlahnya lebih banyak. Untunglah aktivitas katalitik enzim menciptakan cara yang sensitif dan spesifik untuk pengukurannya. Untuk mengukur jumlah enzim dalam ekstrak jaringan atau cairan biologik lainnya, kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim dalam cairan diukur. Dalam keadaan yang layak, kecepatan yang diukur sesuai dengan jumlah enzim yang ada. Bila mungkin, kecepatan ini dibandingkan dengan kecepatan katalisis oleh enzim yang sangat murni dalam jumlah yang diketahui.

Bila pengukuran keduanya dilakukan pada keadaan yang benar-benar dapat dibandingkan dan dimana konsentrasi enzim merupakan "rate limiting" (konsentrasi substrat tinggi dan konsentrasi produk rendah, dan pH serta suhu yang sesuai), maka enzim

dalam ekstrak dapat diukur. Akan tetapi, tidak mudah menentukan jumlah molekul atau massa enzim yang ada. Oleh karena itu hasilnya dinyatakan dalam enzim unit. Jumlah relatif enzim pada berbagai ekstrak kemudian dapat dibandingkan enzim unit paling baik dinyatakan dalam milimol ( $\text{mmol}; 10^{-3}$  mol), mikromol ( $\mu\text{mol}; 10^{-6}$  mol), nanomol ( $\text{nmol}; 10^{-9}$  mol), atau pikomol ( $\text{pmol}; 10^{-12}$  mol) substrat yang bereaksi atau produk yang dihasilkan per menit. Enzim unit Internasional yang sesuai adalah mU, uU, nU dan pU.

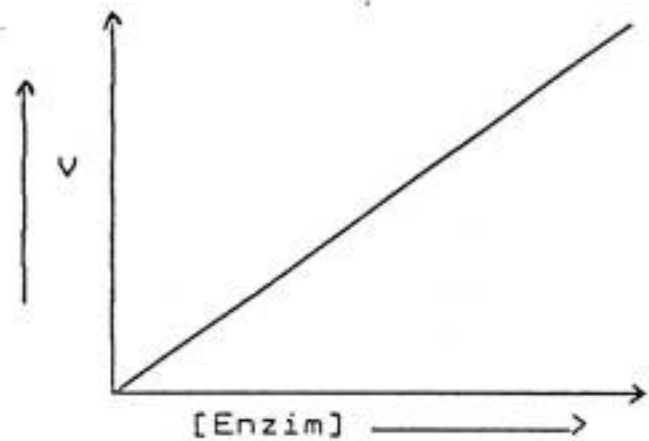
#### III.4.6 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim (1,19).

##### a. Konsentrasi Enzim.

Pada banyak keadaan, adalah berguna untuk mengetahui tidak hanya apakah enzim tertentu saja, tetapi juga berapa banyak enzim itu. Pada keadaan yang sesuai, kecepatan reaksi yang dikatalis oleh enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim.

Pengaruh konsentrasi enzim terhadap laju suatu reaksi yang

dikatalis oleh enzim pada umumnya terlihat seperti yang ditunjukkan dalam gambar di bawah ini.



\*) Martin.DW,dkk (1984)

Gambar 6. Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Laju Reaksi.

#### b. Konsentrasi Substrat

Pada konsentrasi substrat yang amat rendah, kecepatan reaksi pun amat rendah, tetapi kecepatan ini akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat.

Pengaruh kejenuhan ini diperlihatkan oleh hampir semua enzim. Hal inilah yang membawa Victor Henri pada tahun 1903, kepada kesimpulan, bahwa enzim bergabung dengan molekul subs-

trat, untuk membentuk suatu kompleks enzim substrat sebagai tahap yang harus dilalui dalam katalisis enzim. Pemikiran ini diperluas menjadi suatu teori umum kerja enzim, terutama oleh Leonor Michaelis dan Maud Menten pada tahun 1913. Mereka mengemukakan bahwa enzim E pertama-tama bergabung dengan substrat S dalam reaksi dapat balik, membentuk kompleks enzim-substrat ES. Reaksi ini berlangsung relatif cepat.



Kompleks ES lalu terurai dalam reaksi dapat balik kedua, yang lebih lambat, menghasilkan enzim bebas E dan produk reaksi P



Pada setiap saat didalam reaksi enzimatis, enzim terdapat dalam dua bentuk, bentuk bebas atau tak terikat dan bentuk yang sudah terikat ES. Kecepatan reaksi katalitik ini jelas menjadi maksimum jika semua enzim terdapat sebagai kompleks ES dan konsentrasi enzim B menjadi sangat

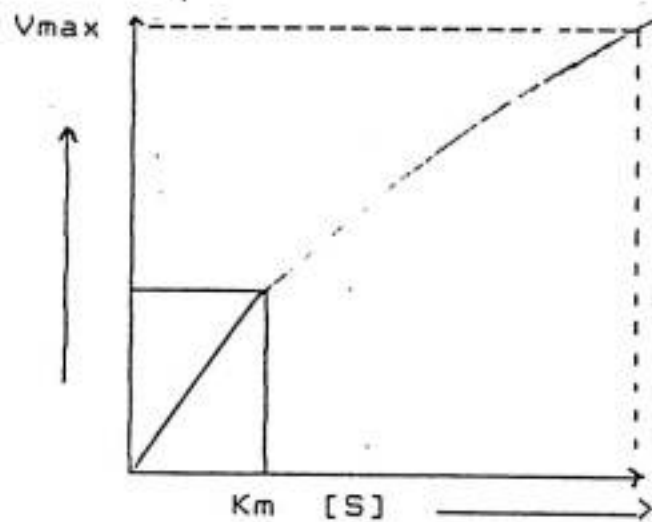
kecil. Keadaan ini akan tercapai pada konsentrasi substrat tinggi, karena menurut hukum aksi massa, kesetimbangan reaksi pertama akan digeser ke kanan jika konsentrasi S ditingkatkan.



Jika S ditingkatkan sampai batas ke batas yang cukup tinggi, dapat dikatakan semua enzim bebas E tentulah akan berubah menjadi bentuk ES. Pada reaksi yang kedua dalam siklus katalitik ini, kompleks ES terus menerus terurai dengan cepat menghasilkan produk P dan Enzim bebas E. Tetapi, jika konsentrasi S cukup tinggi, enzim bebas E segera akan berikatan dengan molekul S yang lain. Pada keadaan ini, tercapai suatu keadaan seimbang, dengan enzim yang senantiasa jenuh dengan substratnya dan tercapai kecepatan maksimumnya (14).

Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim pada umumnya terlihat

seperti yang ditunjukkan dalam gambar



\*) Martin.DW, dkk (1984).

Gambar 7. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Laju Reaksi.

c. pH

Pada umumnya enzim bersifat amfolitik, yang berarti enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam dan gugus basanya.

Diperkirakan perubahan keaktifan enzim akibat perubahan pH lingkungan disebabkan terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat, atau kompleks enzim substrat.



Suatu enzim tertentu mempunyai kisaran pH optimum yang sangat sempit. Di sekitar pH optimum enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Enzim yang sama sering pH optimumnya berbeda tergantung asal enzim tersebut.

**d. Suhu**

Pada umumnya semakin tinggi suhu semakin naik laju reaksi kimia, baik yang tidak dikatalis maupun yang dikatalis oleh enzim. Tetapi perlu diingat bahwa enzim adalah protein, jadi semakin tinggi suhu proses inaktivasi enzim juga meningkat. Keduanya mempengaruhi laju reaksi enzimatik secara keseluruhan.

## BAB IV

### ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN

#### IV.1 Alat-Alat Yang Digunakan

1. Gegep besi
2. Fermentor modifikasi yang dilengkapi aerator dan pengaduk magnetik
3. Oven ( MEMMERT )
4. Timbangan analitik ( SARTORIUS )
5. Tabung reaksi ( PYREX )
6. Erlenmeyer ( PYREX )
7. Batang pengaduk
8. Sendok tanduk
9. Gelas ukur ( PYREX )
10. Jarum Inokulasi
11. Inkubator ( MEMMERT )
12. Kapas
13. Alumunium foil
14. Kertas pH ( MERCK )
15. Lampu spiritus
16. Laminar air flow ( EACI )
17. Otoklaf ( PORTABLE )
18. Mikroskop ( NIKON )
19. Ruang penghitung ( BURKER )
20. Pipet
21. Shaker ( BURREL )

- |                                      |                |
|--------------------------------------|----------------|
| 22. Water bath                       | ( BUCHLER )    |
| 23. Lemari es (kulkas)               | ( HITACHI )    |
| 24. Bunsen                           |                |
| 25. Gelas piala                      |                |
| 26. Corong piala                     | ( PYREX )      |
| 27. Corong saring                    | ( PYREX )      |
| 28. Kertas saring                    | ( WHATMAN )    |
| 29. Botol volumetrik (labu ukur)     | ( PYREX )      |
| 30. Spektrofotometer (Spectronic 21) | (Milton & Roy) |

#### IV.2 Bahan-Bahan Yang Digunakan

- |  |                 |
|--|-----------------|
| 1. Potato Dextrose Agar (PDA)                    |                 |
| 2. Beras tipe IRRI                               |                 |
| 3. NaCl 0,9 %                                    |                 |
| 4. <i>Aspergillus oryzae</i>                     |                 |
| 5. Natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) | ( MERCK )       |
| 6. Natrium bikarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ )       | ( MERCK )       |
| 7. Kalium iodida ( KI )                          | ( KIMIA FARMA ) |
| 8. Iodium  | ( MERCK )       |
| 9. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$     | ( MERCK )       |
| 10. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$    | ( MERCK )       |
| 11. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$    | ( MERCK )       |
| 12. HCl pekat                                    |                 |
| 13. NaOH   |                 |
| 14. Na.sitrat                                    |                 |
| 15. Asam sitrat                                  |                 |
| 16. Glukosa                                      | ( MERCK )       |
| 17. Pati terlarut                                | ( MERCK )       |

### IV.3 Metode Penelitian

#### IV.3.1 Pengambilan Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang berupa beras diambil dari Desa Romanglasa Kecamatan Bontonompo Kabupaten Gowa. Tipe beras yang diambil adalah tipe IRRI.

#### IV.3.2 Sumber Mikroorganisme

Kapang *Aspergillus oryzae* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi Mikrobiologi Farmasi, Laboratorium Farmasetika Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Biakan dipelihara pada media agar miring PDA.

#### IV.3.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan sebelumnya dicuci dengan detergen, kemudian dikeringkan. Alat yang terbuat dari bahan kaca disterilkan dalam oven pada suhu  $170^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam, sedangkan alat yang terbuat dari platina (jarum inokulasi) disterilkan menggunakan api langsung hingga memijar. Media yang digunakan berupa media PDA dan media produksi disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

#### IV.3.4 Pembuatan Medium PDA dan Penyiapan Biakan Mikroba

##### IV.3.4.1 Pembuatan Medium PDA

Bahan-bahan yang seperti yang disebutkan dalam lampiran, dilarutkan dalam air suling kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah didinginkan hingga suhu  $45^{\circ}\text{C}$  pHnya diukur. Media tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 7 ml, lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 2 atm selama 15 menit. Media dalam tabung reaksi yang telah disterilkan tersebut diletakkan pada posisi miring dan dibiarkan hingga membeku.

##### IV.3.4.2 Penyiapan Biakan Mikroba (20)

Dengan menggunakan jarum inokulasi steril, sejumlah biakan murni mikroba diinokulasikan pada media agar miring PDA lalu diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 7 X 24 jam.

#### IV.3.5 Produksi Enzim

##### IV.3.5.1 Pembuatan Media Produksi (10)

Media produksi yang berupa

air cucian beras dibuat dengan mengocok 1 Kg beras dalam 1 liter air suling selama 5 menit, ditambahkan sejumlah mineral seperti yang disebutkan pada lampiran C lalu diukur pHnya 4,0 kemudian volumenya ditepatkan hingga 1 liter.

#### IV.3.5.2 Penyiapan Suspensi Spora (2)

Suspensi spora disiapkan dengan memasukkan larutan garam fisiologis NaCl 0,9 % steril ke dalam media agar miring dan permukaan agar yang ditumbuhi spora digosok perlahan dengan jarum inokulasi steril. Jumlah spora dihitung dengan menggunakan kamar hitung.

#### IV.3.5.3 Fermentasi (2,10)

Suspensi spora yang didapatkan sejumlah  $3 \times 10^6$  sel/ml diinokulasikan pada media produksi dan diinkubasikan pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 2 x 24 jam sambil diaduk dengan menggunakan pengaduk magnetik (stirer)

#### IV.3.5.4 Uji Iodine (8)

Dilakukan dengan penambahan 4 ml medium hasil fermentasi ditambahkan 1 tetes larutan KI/Iodine.

#### IV.3.5.5 Isolasi Enzim (2)

Enzim yang terbentuk diisolasi dengan cara menyaring hasil fermentasi menggunakan kapas.

### IV.3.6 Pengujian Aktivitas Enzim

#### IV.3.6.1 Pembuatan Dapar Sitrat (21)

Dapar sitrat terdiri dari Larutan A : 0,1 M larutan asam sitrat 21,01 gram dalam 1000 ml). Larutan B : 0,1 M larutan Na sitrat (29,41 gram dalam 1000 ml). Untuk, memperoleh pH yang diinginkan, sejumlah tertentu larutan A dan B dicampurkan lalu diencerkan hingga 100 ml.

TABEL VI. KOMPOSISI ASAM SITRAT DAN Na.SITRAT PADA PEMBUATAN DAPAR SITRAT BERBAGAI pH

pH	A (ml)	B (ml)
3,0	46,5	3,5
3,5	38,5	11,5
4,0	33,0	17,0
4,5	23,25	26,75
5,0	20,5	29,5
5,5	14,85	35,15
6,0	9,5	41,5

\*) Sudarmadji, dkk (1984)

#### IV.3.6.2 Penetapan panjang gelombang maksimum

Dibuat larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/ml dalam 5 ml aquadest lalu ditambahkan 1 ml "Glucose Test". Dengan menggunakan panjang gelombang yang berbeda-beda, ditentukan serapan dari larutan tersebut. Lalu dibuat grafik hubungan antara panjang gelombang (absis) dan serapan (ordinat). Panjang gelombang yang menghasilkan serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum.

#### IV.3.6.3 Pembuatan Kurva Baku Kadar Glukosa Terhadap Serapan (22)

Dilakukan menurut metode Nelson Somogyi, sebanyak 50,0 mg glukosa dimasukkan ke labu takar 50,0 ml kemudian ditambahkan air hingga tanda. Dari larutan ini dipipet 10 ml lalu dimasukkan ke dalam labu takar 25,0 ml dan diencerkan dengan air sampai tanda. Dari larutan ini dipipet lagi 10 ml lalu diencerkan



lagi hingga 25 ml. Pengerjaan ini diulangi lagi hingga diperoleh berbagai variasi konsentrasi. Masing-masing dipipet 5,0 ml dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,0 ml pereaksi "Glucose Test" dan campuran diinkubasikan selama 20 menit pada suhu 30°C. Penambahan pada masing-masing tabung dilakukan dengan selang waktu 30 detik. Reaksi enzim dihentikan dengan menempatkan tabung dalam air mendidih selama 10 menit lalu dikocok hingga homogen dan didinginkan hingga mencapai suhu ruangan. Setelah dingin diukur serapannya masing-masing pada panjang gelombang maksimum lalu dibuat kurva standar hubungan antara konsentrasi glukosa dan serapan.

#### IV.3.6.4 Uji Aktivitas Enzim (21,22).

Sebanyak 1 ml filtrat enzim, dimasukkan dalam tabung yang berisi 5 ml larutan 2 % pati terlarut dalam dapar sitrat dengan berbagai variasi

pH, campuran diinkubasi dalam penan-  
gas air pada suhu 60 °C selama 1 me-  
nit lalu dikocok. Reaksi dihentikan  
dengan memasukkan tabung dalam air  
mendidih setelah didinginkan campur-  
an diencerkan hingga 500 kali lalu  
dipipet sebanyak 5 ml dan ditambah-  
kan 1,0 ml pereaksi "Glucose Test"  
Campuran diinkubasikan selama 20  
menit pada suhu 30 °C. Reaksi enzim  
dihentikan dengan menempatkan tabung  
dalam air mendidih selama 5-10  
menit, lalu diukur serapannya pada  
panjang gelombang maksimum (530nm).  
Pengukuran dilakukan 3 kali.

#### IV.3.7 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil  
pengukuran resapan menggunakan spektrofotom-  
eter visibel pada panjang gelombang 530 nm  
dimasukkan dalam persamaan regresi yang  
diperoleh dari kurva baku. Selanjutnya data  
tersebut diolah berdasarkan uji statistik  
model rancangan acak lengkap dan grafik.  
Persamaan regresi :  $y = 0,3888 X + 0,0468$

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Data pengamatan aktivitas enzim disajikan pada tabel X halaman 55, hasil uji Iodine pada tabel IX halaman 55 dan sidik ragamnya pada lampiran A halaman 59.

Tabel X memperlihatkan aktivitas maksimal pada pH 4,5 dengan aktivitas sebesar 2,7882 mmol/ml menit.

Penentuan pH optimum secara grafik dapat dilihat pada lampiran B halaman 61.

#### IV.2 Pembahasan

*Aspergillus oryzae* yang diinokulasikan pada medium PDA diinkubasikan selama sepuluh hari, sedangkan fermentasi *Aspergillus oryzae* pada media produksi air cucian beras dilakukan selama tiga hari.

Perubahan-perubahan yang terjadi selama masa inkubasi menunjukkan bahwa pada awal inkubasi belum terlihat pertumbuhan, tetapi pada hari ketiga inkubasi terlihat pertumbuhan yang pesat. Pertumbuhan ini ditentukan dengan hilangnya miselium yang diganti dengan spora berwarna hijau yang semakin lebat. Hal ini diduga bahwa kapang tersebut memasuki fase

pertumbuhan logaritmik.

Setelah hari keenam sampai hari ketujuh pertumbuhan isolat kapang *Aspergillus oryzae* tidak nyata. Hal ini diduga karena kapang tersebut mulai memasuki pertumbuhan statis.

Air cucian beras (leri) yang merupakan selaput beras yang terbawa pada saat pencucian cukup banyak mengandung karbohidrat (pati) yang merupakan sumber karbon, vitamin-vitamin terutama vitamin B1 yang merupakan kofaktor bagi mikroorganisme, protein yang merupakan sumber nitrogen dan dengan tambahan mineral-mineral, sehingga dapat digunakan sebagai media produksi enzim  $\alpha$ -amilase bagi mikroorganisme.

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH dan suhu. Menurut Winarno (1986), pengaruh pH terhadap aktivitas enzim terutama disebabkan oleh perubahan ionisasi enzim pada gugus ioniknya pada sisi aktif atau sisi lain yang secara tidak langsung mempengaruhi sisi aktif. Selain itu juga dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti denaturasi protein pada pH yang terlalu tinggi atau terlalu rendah.

Pada penelitian ini digunakan pH medium produksi 4,0 dengan suhu fermentasi 30<sup>o</sup> karena

berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Djide, N (1986) bahwa enzim  $\alpha$ -amilase yang diisolasi dari kapang *Aspergillus oryzae* mempunyai aktivitas maksimum pada pH awal medium 4,0 dengan suhu fermentasi 30°C.

Dari hasil uji Iodine, pada pengamatan 3X24 jam, terlihat bahwa medium fermentasi setelah penambahan 1 tetes larutan Iodine tidak menampakkan perubahan warna ( warna kuning ). Hal ini menandakan bahwa pati yang terkandung dalam media fermentasi telah habis. Karena pati yang merupakan substrat bagi mikroorganismenya telah habis, maka fermentasi harus dihentikan, sehingga waktu fermentasi yang digunakan selama 3 hari.

Pada umumnya enzim ekstraseluler dihasilkan paling banyak pada pH pertumbuhan yang mendekati nilai pH untuk aktivitas maksimumnya meskipun terdapat berbagai perkecualian. Dalam penelitian ini ternyata pH optimum aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diperoleh mendekati nilai pH medium produksi, sehingga enzim  $\alpha$ -amilase dapat dimasukkan dalam kelompok enzim yang pembentukannya maksimumnya pada pH medium yang berbeda dengan pH maksimumnya aktivitasnya meskipun nilainya tidaklah terlalu jauh.

Daftar sidik ragam pada tabel IX memperli-

hatkan  $F$ . Hitung  $> F$ . Tabel baik pada taraf 0,05 maupun pada taraf 0,01. Hal ini berarti bahwa pH sangat berpengaruh terhadap aktifitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diperoleh dan terdapat sekurang-kurangnya sepasang perlakuan yang berbeda nyata.

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji BNT, ternyata antara tiap tingkatan pHperlakuan terdapat perbedaan aktivitas yang sangat nyata pada taraf 0,01.

Pada lampiran B memperlihatkan puncak pada perlakuan pH 4,5. Hal ini menunjukkan bahwa pada pH 4,5 aktivitas enzim maksimal yaitu dengan angka 2,7882 mmol/ml menit yang sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Pazur J.H (1965) bahwa aktivitas optimum enzim  $\alpha$ -amilase yang diperoleh dari *Aspergillus oryzae* pada pH 4,5-5,9.

Enzim  $\alpha$ -amilase yang diperoleh dalam penelitian ini masih dalam bentuk yang kasar (crude enzim) yang masih perlu pemurnian lebih lanjut sehingga aktivitas yang dihasilkannya tidaklah terlalu tinggi.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### VI.1 Kesimpulan.

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- Air cucian beras (leri) dapat dimanfaatkan sebagai media produksi enzim  $\alpha$ -amilase oleh kapang *Aspergillus oryzae*.
- pH sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang diperoleh dari hasil fermentasi kapang *Aspergillus oryzae* pada air cucian beras.
- Aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus oryzae* optimum pada pH 4,0 - 5,5

#### VI.2 Saran-Saran

Perlu dilakukan usaha pemurnian enzim yang diperoleh agar aktivitas enzim yang diperoleh dapat menjadi lebih tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Martin, D.W., Mayers, P.A., Rodwell, V.W., (1984), *Biokimia*, Ed 19, EGC, 64-70.
2. Saraswati, Eko, A.T., & Hardoyo, (1987), *Isolasi Jamur Penghasil Enzim Amilase Dan Penggunaannya Untuk Fermentasi Etanol : Bahan Seminar Nasional Teknologi Fermentasi*, Puslitbang Energi Biomassa, BPPT, Bandung, 4-13.
3. Wade A, Reynolds J.E.F., (1977), *Martindalle The Extra Pharmacopoeia*, ed 27, Pharmaceutical Press, London, 574.
4. Robyt, J.F., (1984), *Enzymes In The Hydrolysis And Synthesis Of Starch*, Academic Press INC, Orlando, 87-123.
5. Pazur, J.H., (1965), *Enzymes In Synthesis and Hydrolysis Of Starch*, Academic Press, New York, 57-61.
6. Winarno, F.G., (1984), *Kimia Pangan dan Gizi*, PT Gramedia, Jakarta, 33-48.
7. Crueger, W dan Crueger A, (1984), *Biotechnology : A Text Book Of Industrial Microbiology*, Science Tech INC, Madison, 104-111.
8. Mangunwardoyo, W. dkk., (1991), *Amilase Bakteri Termofil Bacillus sp. Th-4 : Bahan Seminar Nasional Mikrobiologi*, Jurusan Biologi Fakultas MIPA UI, Bogor, 1-6.
9. Austrup, K., (1979), *Production isolation and Economic Of Extracellular Enzymes*, Academic Press INC, London 27-69.



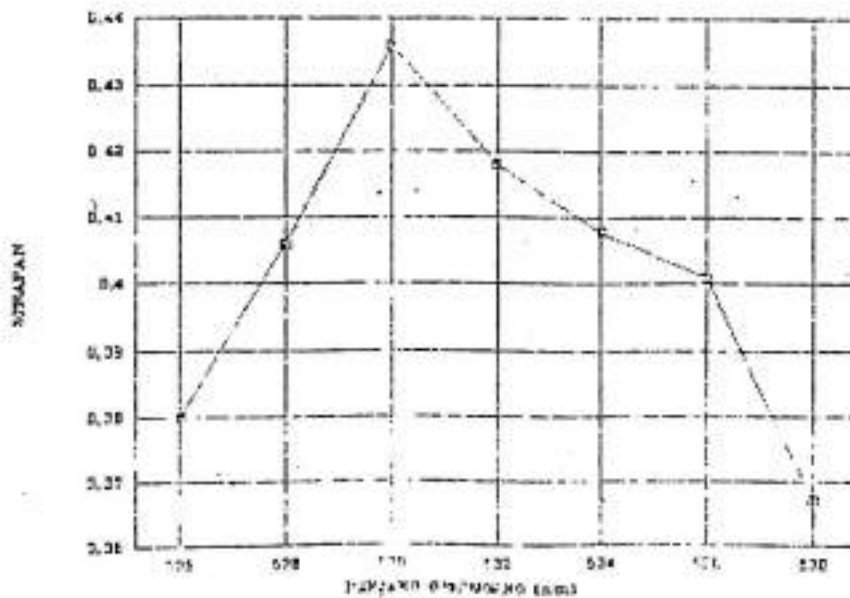
10. Djajakusuma dkk, (1990), Pemanfaatan Limbah Cair Cucian beras untuk Produksi Enzim : Bahan Seminar Nasional Bioteknologi industri, Balitbang Mikrobiologi Puslitbang Biologi, LIPI Bogor, Bandung, 2-8.
11. Dwijoseputro, D, (1987), Pengantar Mikologi, Ed II, Alumni, Bandung, 147-152, 285-288.
12. Suryawiria, U, (1986), Pengantar Untuk Mengenal dan Menanam Jamur, Angkasa, Bandung, 4-5.
13. Wolf, A.F dan Wolf F.T., (1969), The Fungi Hafner Publishing Co, New York, 116-157.
14. Jutono, dkk, (1986), Mikrobiologi Untuk Universitas, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 78-95.
15. Winarno, F.G., (1986), Enzim Pangan, PT Gramedia, Jakarta, 1 - 2, 48 - 53.
16. Djide, N., (1986), Identifikasi dan sifat-sifat Mikroba Pemecah Pati Yang Diisolasi Dari Limbah Pabrik Tapioka di Daerah Bogor, Fakultas Pasca Sarjana, ITB, Bandung, 2, 4-7, 9-12
17. Buckle, K.A, Edwards R.A, Fleet G.H and Wootton G.H., (1978), Food Science, Australian Vice Cancellor's Commite, Brisbane, 208-212.
18. Widodo, U.L., (1987), Fermentasi Limbah Domestik Air Cucian Beras Sebagai Bahan Pembuat Anggur Temulawak: Bahan Seminar Nasional Teknologi Fermentasi, Bandung, 4 - 10

19. Suprayatmi, M. (1966), Mempelajari Produksi Enzim  $\alpha$ -Amilase dari kapang *Aspergillus niger*, Fakultas Teknologi IPB, 1 - 2, 4 - 7.
20. Nurlela, (1989), Penentuan pH dan Suhu Optimum Aktifitas Enzim Pemecah Pati dari Kapang *Aspergillus niger* Hasil Isolasi Dari Pabrik Tapioka di Daerah Bogor, Tesis Jurusan Farmasi FMIPA Unhas, 7 - 15.
21. Seeley, H.W. & Van Demark, P.J (1972), *Microbes In Action : A Text Book Manual Of Microbiology*, W.H. Freeman and Co. San Fransisco, 27-88.
22. Sudarmadji S, haryono B, Suhardi., (1984), *Prosedur Analisa Untuk Makanan Dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta, 133-135.
23. Apriyantono, A, dkk., (1989), *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*, Departemen P&K, Dirjen Dikti, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor, 196

Tabel VII. Serapan Larutan Glukosa Dengan Konsentrasi 1 mg/ml Setelah Penambahan Larutan "Glucose Test" Pada Berbagai Panjang Gelombang

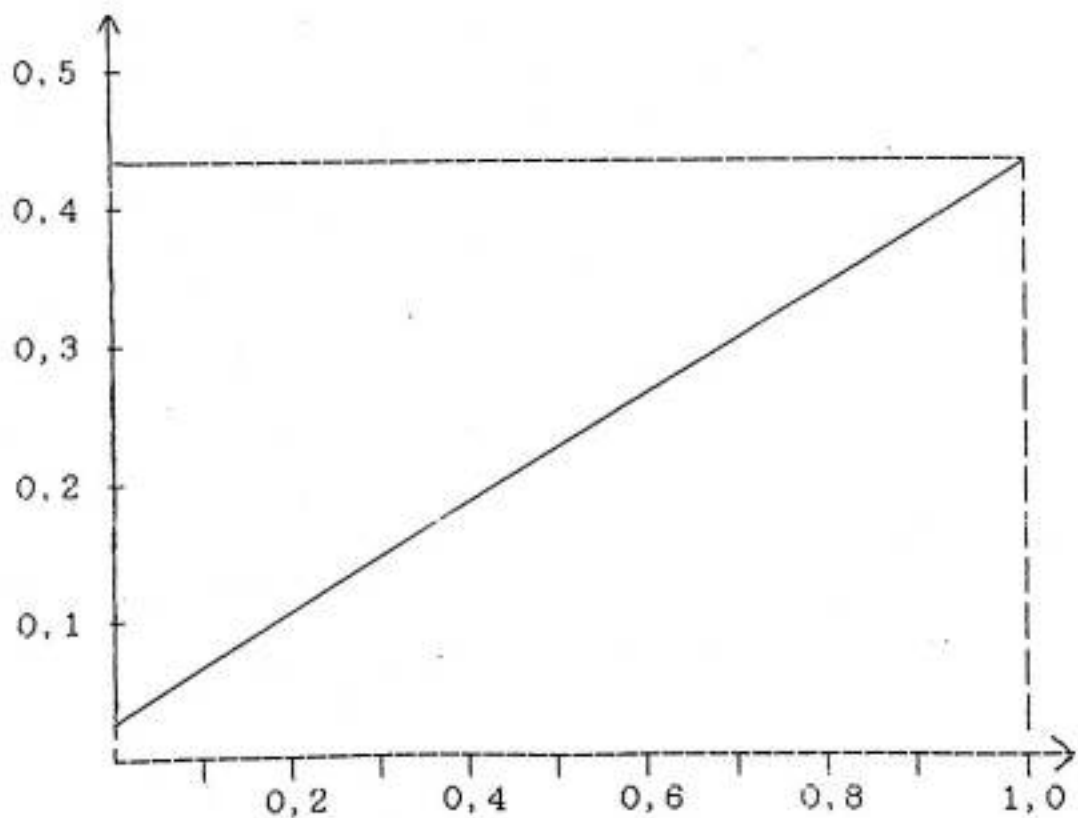
PANJANG GELOMBANG	SERAPAN
526	0,380
528	0,406
530	0,436
532	0,418
534	0,408
536	0,401
538	0,367

Gambar 8. Grafik hubungan antara panjang gelombang dan serapan larutan glukosa dengan konsentrasi 1 mg/ml



Tabel VIII. Serapan Larutan Glukosa Dengan Berbagai Konsentrasi Setelah Penambahan "Glucose Test" Pada Panjang Gelombang 530 nm.

KONSENTRASI (mg/ml)	SERAPAN
0,0256	0,091
0,064	0,095
0,16	0,102
0,40	0,198
1	0,436



Persamaan Regresi :  $Y = 0,3888 X + 0,0468$

Gambar 9. Kurva Baku Hubungan Antara Konsentrasi (X) dan Serapan Larutan Glukosa (Y)

Tabel IX. Hasil Uji Iodine Terhadap Medium Fermentasi

WAKTU FERMENTASI	UJI IODINE	PERTUMBUHAN
0 jam	Biru tua	-
1 * 24 jam	Ungu	+
2 * 24 jam	Merah Kecoklatan	++
3 * 24 jam	Kuning	+++

Keterangan:

- = belum ada pertumbuhan  
 + = pertumbuhan kurang baik  
 ++ = pertumbuhan cukup baik  
 +++ = pertumbuhan baik

Tabel X. Aktivitas Enzim  $\alpha$ -amilase Pada Berbagai Variasi pH

pH	SERAPAN			JUMLAH GLUKOSA YANG TERBENTUK (mg/ml)			AKTIVITAS ENZIM (mmol/ml menit)			RATA-RATA AKTIVITAS (mmol/menit)
	3,0	0,181	0,184	0,180	172,6219	176,4804	171,3357	0,9590	0,9804	0,9519
3,5	0,239	0,243	0,240	247,2195	252,3641	249,5056	1,3734	1,4020	1,3806	1,3853
4,0	0,417	0,412	0,413	476,1570	469,7261	471,0123	2,6453	2,6096	2,6167	2,6339
4,5	0,438	0,438	0,435	503,1664	503,1664	499,3079	2,7954	2,7954	2,7739	2,7882
5,0	0,421	0,424	0,420	481,3016	485,1601	480,0155	2,6683	2,6953	2,6668	2,6768
5,5	0,398	0,403	0,405	451,7198	458,1506	460,7230	2,5096	2,5453	2,5596	2,5382
6,0	0,307	0,311	0,305	334,6787	339,8234	332,1064	1,8593	1,8879	1,8450	1,8641

\* Jumlah glukosa yang terbentuk =  
 Jumlah glukosa hasil perhitungan  
 x 500 (faktor pengenceran)  
 dari persamaan regresi

\*\* Milimol glukosa =  $\frac{\text{jumlah glukosa yang terbentuk}}{180 \text{ (BM glukosa)}}$

\*\*\* Aktivitas enzim = mmol glukosa yang terbentuk tiap  
 penambahan 1 ml enzim per menit  
 ( mmol/ml menit )

STATISTIK UJI RANCANGAN ACAK LENGKAP

REPLIKASI	PERLAKUAN					
	1	2	3	.....	K	
1	A <sub>1.1</sub>	A <sub>2.1</sub>	A <sub>3.1</sub>	.....	A <sub>k.1</sub>	
2	A <sub>1.2</sub>	A <sub>2.2</sub>	A <sub>3.2</sub>	.....	A <sub>k.2</sub>	
3	A <sub>1.3</sub>	A <sub>2.3</sub>	A <sub>3.3</sub>	.....	A <sub>k.3</sub>	
.	.	.	.	.....	.	
.	.	.	.	.....	.	
.	.	.	.	.....	.	
.	.	.	.	.....	.	
n	A <sub>1.n</sub>	A <sub>2.n</sub>	A <sub>3.n</sub>	.....	A <sub>k.n</sub>	
TOTAL RATA-RATA	$\frac{n \sum A_1}{n}$ A <sub>1</sub>	$\frac{n \sum A_2}{n}$ A <sub>2</sub>	$\frac{n \sum A_3}{n}$ A <sub>3</sub>	.....	$\frac{n \sum A_k}{n}$ A <sub>k</sub>	$\frac{n \sum A}{n}$

$$\text{Faktor Koreksi (FK)} = \frac{(n \sum A)^2}{n \times k}$$

n = banyak replikasi  
k = banyak perlakuan

$$\text{JK PERLAKUAN} = \frac{n \sum A_1^2 + n \sum A_2^2 + n \sum A_3^2 + \dots + n \sum A_k^2}{n} - \text{FK}$$

$$\text{JK TOTAL} = (A_{1.1})^2 + (A_{1.2})^2 + (A_{1.3})^2 + \dots + (A_{k.n})^2 - \text{FK}$$

TABEL ANOVA

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	FH	FT	
					0,05	0,01
Perlakuan	k-1	JKP	JKP/DBP	KTP/KTS		
SISA	(nxk)-k	JKS	JKS/DBS			
TOTAL	(nxk)-k	JKT				

DB = Derajat bebas

KT = Kuadrat tengah

FH = F, Hitung

FT = tabel F pada DB sisa

Kesimpulan :

Jika FH > FT, Maka signifikan (berbeda nyata)

FH < FT, Maka non signifikan (tidak berbeda nyata)

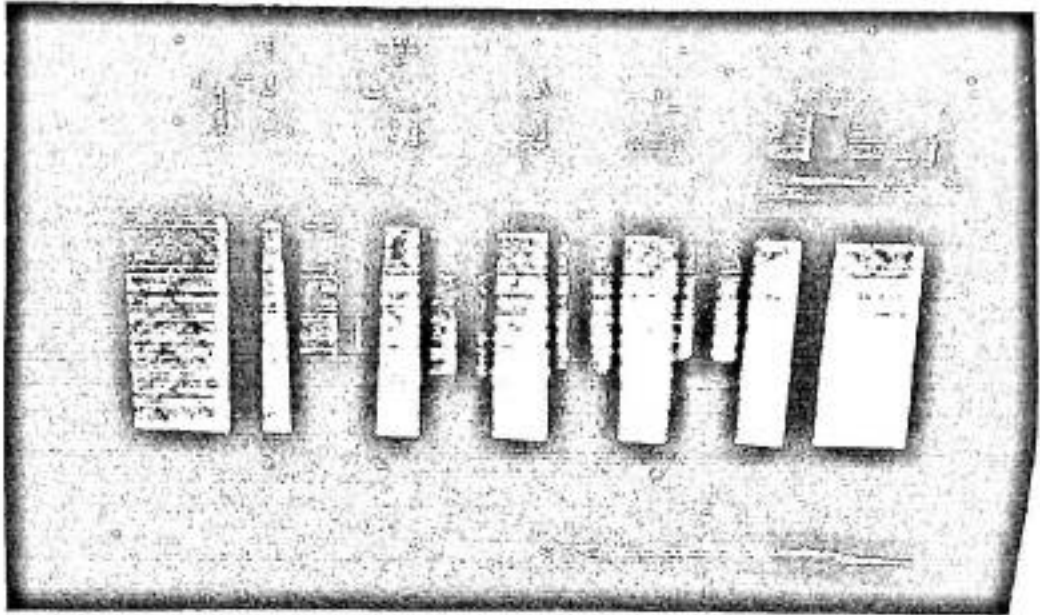
\* : Berbeda nyata pada taraf 0,05

\*\* : Berbeda nyata pada taraf 0,05 & 0,01

$$\text{JKS} = \text{JKT} - \text{JKP}$$



GAMBAR 10. MEDIUM AIR CUCIAN BERAS SEBELUM INOKULASI

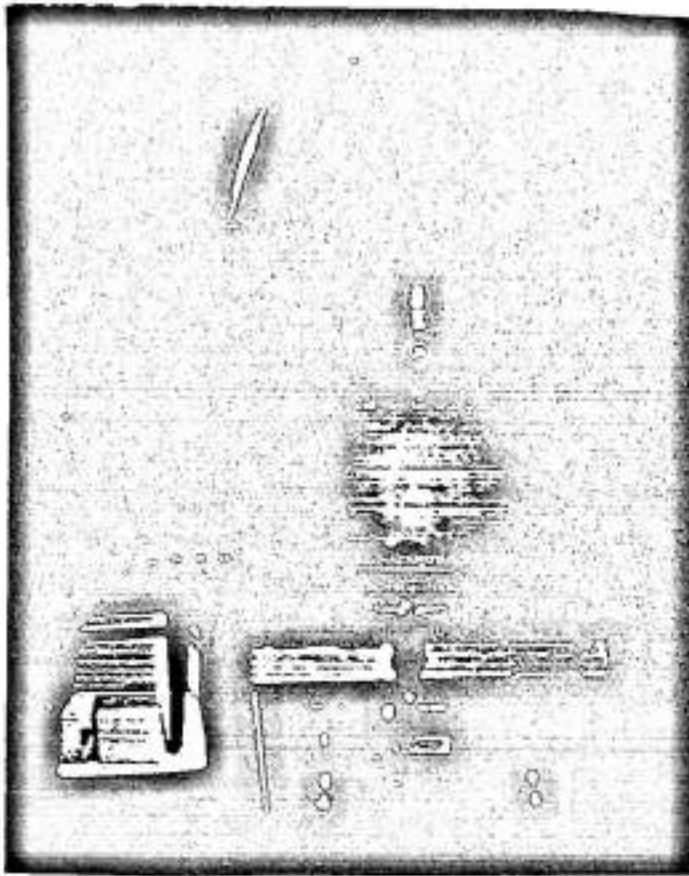


GAMBAR 11. HASIL UJI IODINE TERHADAP MEDIUM FERMENTASI

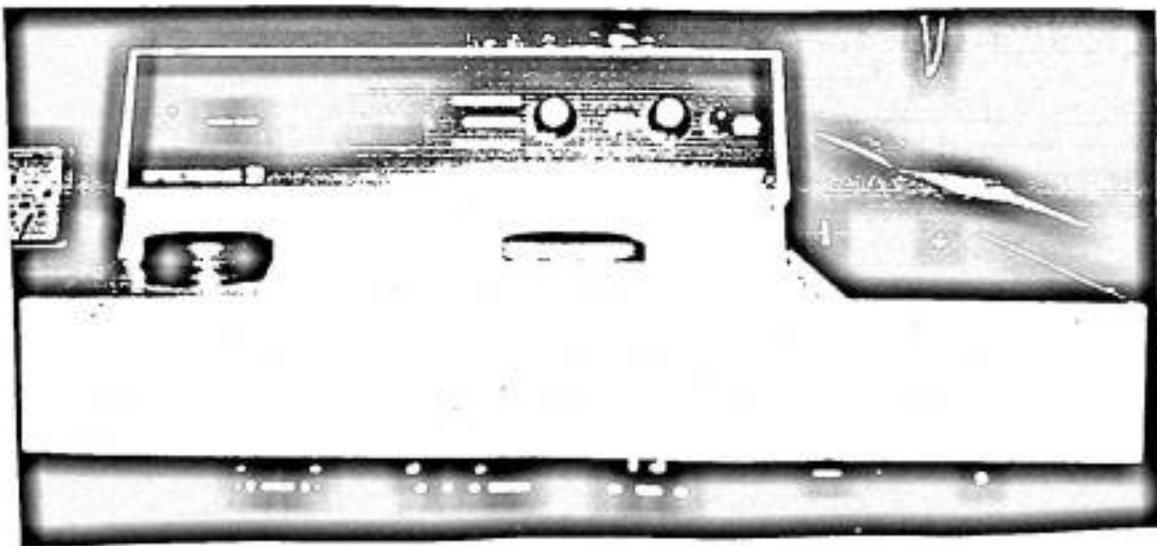


GAMBAR 12. MEDIUM AIR CUCIAN BERAS SETELAH FERMENTASI





GAMBAR 13. CRUDE ENZIM YANG DIDAPATKAN



GAMBAR 14. ALAT SPEKTROFOTOMETER

**LAMPIRAN A**  
**PERHITUNGAN STATISTIK PENGARUH pH TERHADAP AKTIVITAS**  
**ENZIM DENGAN UJI RANCANGAN ACAK LENGKAP**

REPLIKASI	VARIASI pH							
	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	
1	0,9590	1,3734	2,6453	2,7954	2,6683	2,5096	1,8593	
2	0,9804	1,4020	2,6096	2,7954	2,6953	2,5453	1,8879	
3	0,9519	1,3806	2,6167	2,7739	2,6668	2,5596	1,8450	
TOTAL	2,8913	4,1560	7,8716	8,3647	8,0304	7,6145	5,5922	44,5207
RATA-RATA	0,9638	1,3853	2,6239	2,7882	2,6768	2,5382	1,8641	

$$FK = \frac{(44,5207)^2}{21} = 94,3854$$

JK PERLAKUAN =

$$\frac{2,8913^2 + 4,1560^2 + 7,8716^2 + 8,3647^2 + 8,0304^2 + 7,6145^2 + 5,5922^2}{3} - 94,3854$$

$$= 9,3822$$

$$JK \text{ TOTAL} = 0,9590^2 + 0,9804^2 + 0,9519^2 + \dots + 1,8450^2 - 94,3854$$

$$= 9,3869$$

**TABEL SIDIK RAGAM (ANOVA)**

.LH8

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	FH	FT	
					0,05	0,01
Perlakuan	6	9,3822	1,5637	4653,869 <sup>***</sup>	5,80	14,02
SISA	14	0,0047	3,36x10 <sup>-4</sup>			
TOTAL	20	9,3869				

Kesimpulan : Signifikan pada  $p = \leq 0,01$

terdapat sekurang-kurangnya sepasang perlakuan yang berbeda nyata.

UJI ANTAR PERLAKUAN SECARA BEDA NYATA TERKECIL (BNT)

$$BNT = \sqrt{KTS \left(\frac{2}{n}\right)}$$

KTS = Kuadrat tengah sisa

n = pengulangan

$$KTS = 3,36 \times 10^{-4}$$

$$t_{0,05, 20} = 1,72$$

$$t_{0,01, 20} = 2,53$$

$$BNT_{0,05} = 1,72 \sqrt{3,36 \times 10^{-4} \left(\frac{2}{3}\right)} \longrightarrow BNT_{0,05} = 0,0257$$

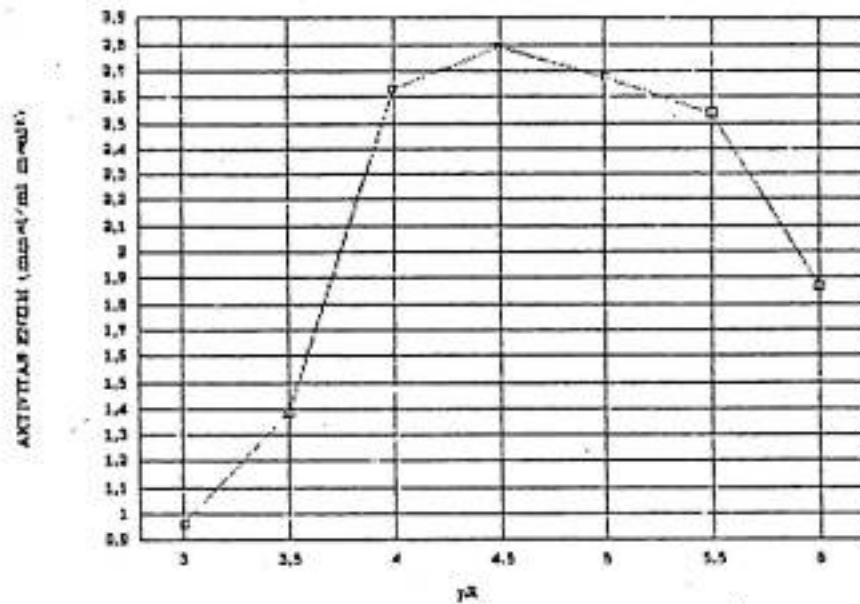
$$BNT_{0,01} = 2,53 \sqrt{3,36 \times 10^{-4} \left(\frac{2}{3}\right)} \longrightarrow BNT_{0,01} = 0,0379$$

TABEL BNT

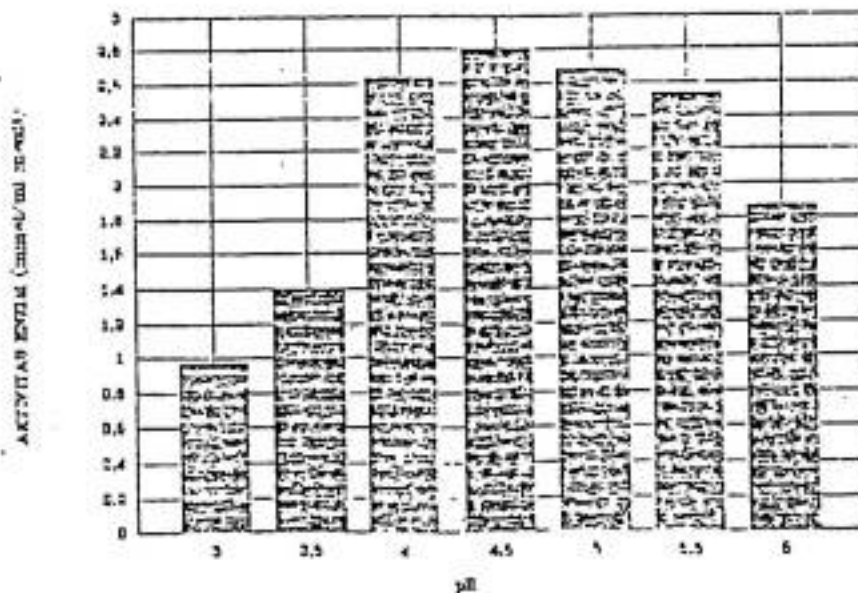
PERLAKUAN	BEDA RATA-RATA PERLAKUAN	BNT		PERLAKUAN	
		0,05	0,01	0,05	0,01
3,0 X 3,5	0,4215	0,0257	0,0379	‡	‡
3,0 X 4,0	1,6601			‡	‡
3,0 X 4,5	1,8244			‡	‡
3,0 X 5,0	1,7130			‡	‡
3,0 X 5,5	1,5744			‡	‡
3,0 X 6,0	0,9003			‡	‡
3,5 X 4,0	1,2476			‡	‡
3,5 X 4,5	1,4029			‡	‡
3,5 X 5,0	1,2915			‡	‡
3,5 X 5,5	1,1529			‡	‡
3,5 X 6,0	0,4788			‡	‡
4,0 X 4,5	0,1643			‡	‡
4,0 X 5,0	0,0529			‡	‡
4,0 X 5,5	0,0857			‡	‡
4,0 X 6,0	0,7598			‡	‡
4,5 X 5,0	0,1114			‡	‡
4,5 X 5,5	0,25			‡	‡
4,5 X 6,0	0,9241			‡	‡
5,0 X 5,5	0,1386			‡	‡
5,0 X 6,0	0,8127			‡	‡
5,5 X 6,0	0,6741			‡	‡

Keterangan : \*\* Signifikan (Berbeda sangat nyata pada  $p < 0,01$ )  
Signifikan jika beda rata-rata perlakuan lebih besar dari BNT.

LAMPIRAN B  
 GRAFIK HUBUNGAN ANTARA pH DAN AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ -AMILASE



GRAFIK HISTOGRAM HUBUNGAN ANTARA pH DAN AKTIVITAS ENZIM  $\alpha$ -AMILASE



LAMPIRAN C  
KOMPOSISI MEDIA DAN PEREAKSI YANG DIGUNAKAN

Komposisi Media Potato Dextrose Agar :

- Kentang                            200 g
  - Dextrose                            20 g
  - Agar                                15 g
  - Air Suling ad                    1000 ml
- pH 5,6 ± 0,1

Komposisi Media Produksi :

- $KNO_3$                                 0,2 %
  - $MgSO_4 \cdot 7H_2O$                     0,12 %
  - $KH_2PO_4$                             0,27 %
  - Air Cucian Beras ad            1000 ml
- pH 4,0

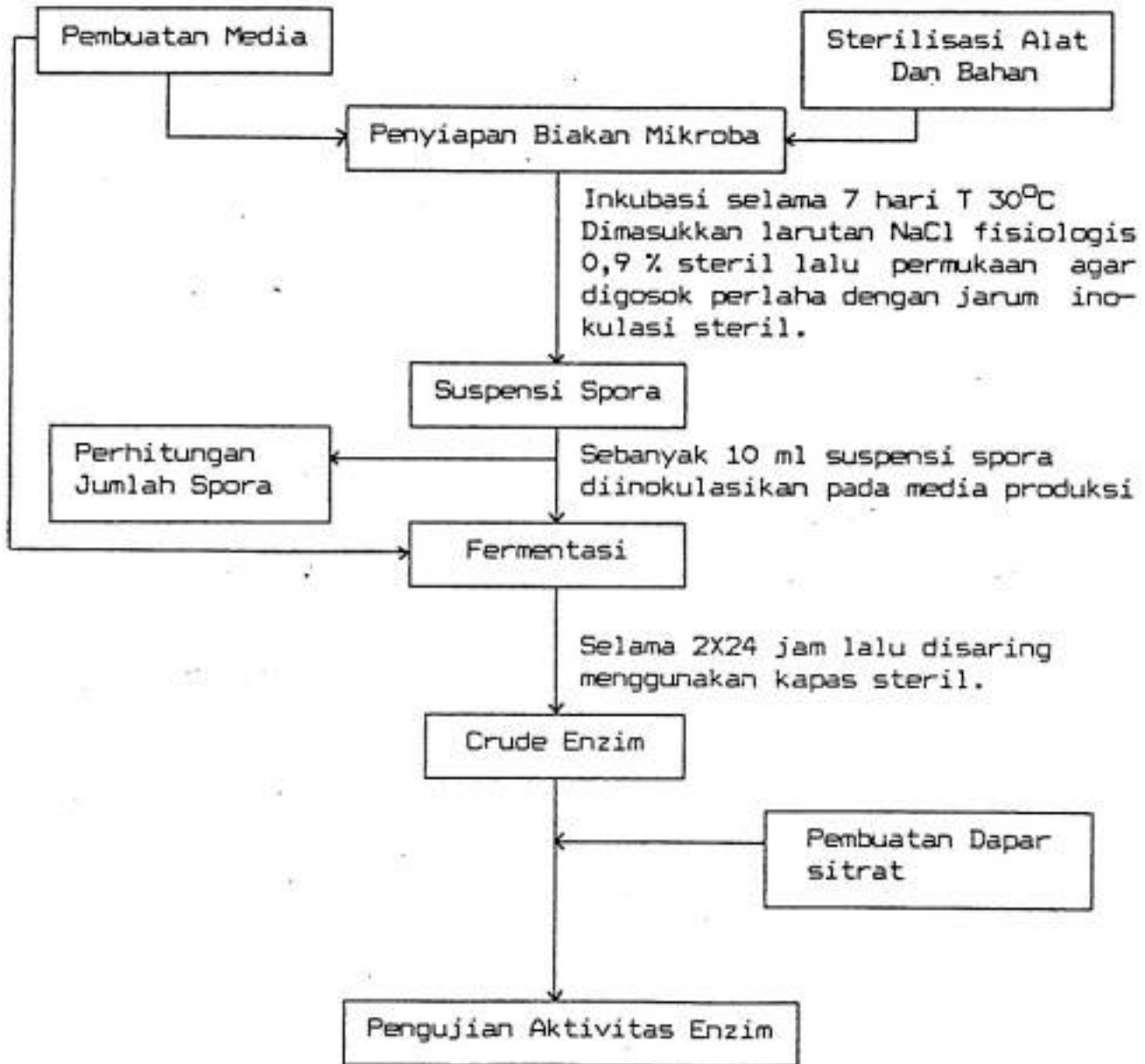
Komposisi Larutan NaCl Fisiologis 0,9 % (20) :

- Sodium Klorida                9 g
- Air suling ad                    1000 ml

Komposisi Larutan I/KI :

- Kalium Iodida                    2 g
- Iodine                                1 g
- Air suling ad                    1000 ml

LAMPIRAN D  
SKEMA Pengerjaan



## SKEMA PENGUJIAN AKTIVITAS ENZIM

