

**Produksi Enzim Pektinase Dengan Fermentasi Media Padat Kulit
Buah Kakao oleh Kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae***

*Pectinase Enzyme Production by Solid State Fermentation Cocoa Shell
by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae**

OLEH:

**MUHPIDAH
G31109264**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**Produksi Enzim Pektinase Dengan Fermentasi Media Padat Kulit
Buah Kakao oleh Kapang *Aspergillus niger* dan
*Aspergillus oryzae***

Oleh

**MUHPIDAH
G 311 09 264**



SKRIPSI
Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada
Jurusan Teknologi Pertanian

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Produksi Enzim Pektinase dengan Fermentasi Media Padat Kulit Buah Kakao oleh Kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*

Nama : MUHPIDAH

Stambuk : G 311 09 264

Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan

Disetujui

1. Tim Pembimbing

Dr. Ir. Mariyati Bilang, DEA
Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS
Pembimbing II

Mengetahui

2. Ketua Jurusan Teknologi
Pertanian

3. Ketua Panitia Ujian Sarjana

Prof. Dr. Ir. Hj. Mulyati M. Tahir, MS
NIP. 19570923 198312 2 001

Ir. Nandy K. Sukendar, M.App.Sc
NIP. 19571103 198406 1 001

Tanggal Lulus: AGUSTUS 2013

Muhpidah (G31109264). Produksi Enzim Pektinase dengan Fermentasi Media Padat Kulit Buah Kakao oleh kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*. Dibawah Bimbingan Mariyati Bilang dan Amran Laga

ABSTRAK

Enzim memiliki peran yang sangat penting dalam industri khususnya industri pangan. Salah satu jenis enzim yang berperan penting yaitu enzim pektinase. Enzim pektinase dapat diproduksi dengan sistem fermentasi media kulit buah kakao. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk memproduksi enzim pektinase dengan sistem fermentasi media padat dan mengkaji pengaruh suhu dan waktu pemanasan media (121°C selama 30 menit, 100°C selama 60 menit dan 100°C selama 90 menit) serta waktu inkubasi kultur (24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam) terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan dari kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*. Analisa aktivitas enzim dilihat dengan pengukuran absorbansi metode DNS, analisa aktivitas enzim endopoligalakturonase dilihat melalui pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 235 nm dan aktivitas enzim endopoligalakturonase dilakukan dengan pengukuran tingkat penurunan absorbansi pada panjang gelombang 520 nm. Parameter pengamatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim dan perubahan berat substrat. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yaitu aktivitas enzim ekso-poligalakturonase, endopoligalakturonase serta pektat dan pektin liase tertinggi terhadap perlakuan suhu dan waktu pemanasan substrat yaitu pada suhu 121°C selama 30 menit dari enzim yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*. Waktu inkubasi 96 jam memberikan hasil aktivitas enzim tertinggi dari ekso-poligalakturonase, endopoligalakturonase dan pektat liase yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*.

Kata Kunci : enzim pektinase, fermentasi media padat, kulit kakao, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*

Muhipidah (G31109264). Pectinase Enzyme Production by Solid State Fermentation Cocoa Shell by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*. Supervised by Mariyati Bilang dan Amran Laga

ABSTRACT

Enzymes are very important in industries, especially in food industry. One of them, that has important role is pectinase enzyme. Pectinase enzyme could be produced by Solid State Fermentation of cocoa shell. The purpose of this research were to produce enzymes pectinase by solid state fermentation system and to examine the effect of temperature and heating time (121°C for 30 minutes, 100°C for 60 min and 100°C for 90 min) and the incubation time (24 hours, 48 hours, 72 hours and 96 hours) on the activity of enzymes that produced by fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*. Enzyme exopoligalakturonase activity analysis was observed by measuring the absorbance using DNS method, enzyme activity of pectic lyase was observed by measuring the absorbance at 235 nm and enzyme activity of endopoligalakturonase was conducted by observing the decrease of absorbance in 520 nm. Observation parameters in this study were the activity of the enzyme and substrate weight change. The results from this research showed that the highest enzyme activity of eksoopoligalakturonase, endopoligalakturonase and pectic lyase was in temperature and heating time 121°C for 30 minutes which was produced by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*. 96-hour incubation time showed that the highest enzyme activity of eksoopoligalakturonase, endopoligalakturonase and pektat lyase that had been produced by *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*.

Key Words : pectinase enzyme, solid state fermentation, cocoa shell, *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae*

KATA PENGANTAR

Rasa syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kepada Allah s.w.t yang kemudian dituliskan dalam kata pengantar ini. Atas rahmat dan hidayah-Nya pula sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sebagai salah satu karya dari proses belajar saat menjadi mahasiswa, baik yang diperoleh diruang kuliah atau pun di ruang sosial. Serta guna memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan studi pada Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin. Salam dan shalawat semoga selalu tercurah pada baginda Rasulullah Muhammad SAW, kepada para sahabatnya dan keluarganya.

Penulis menghaturkan terima kasih banyak yang sebesar besarnya kepada **Dr. Ir. Maryati Bilang, DEA** dan **Prof. Dr. Ir. Amran Iaga, MS** selaku pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, kritikan, saran dan motivasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi. Penulis juga menghaturkan terima kasih Kepada Ketua dan sekretaris Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin. Ketua dan sekretaris Program Study Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Hasanuddin. Seluruh dosen Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin yang telah mendidik dan mentransformasikan ilmunya kepada penulis serta jajaran staf akademik jurusan Teknologi Pertanian dan staf akademik Fakultas Pertanian yang selalu melayani penulis disetiap kebutuhan administrasi penulis. Terkhusus untuk para dosen sekaligus orang tua

kami yang telah berpulang ke rahmatullah mendahului kita semua, Terima kasih telah berbagi ilmu dan pelajaran hidup yang sangat berguna bagi penulis, semoga Allah SWT memberikan tempat yang terbaik, dan membalas semua amal ibadah dengan surga yang dijanjikan bagi hambanya yang beriman. Terima kasih!

Makassar, Agustus 2013

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada segenap pihak-pihak yang telah membantu penulis sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan, “terima kasih kepada”:

1. Ketua dan sekretaris Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin.
2. Ketua dan sekretaris Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Hasanuddin.
3. Seluruh dosen Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin yang telah mendidik dan mentransformasikan ilmunya kepada penulis serta jajaran staf akademik jurusan Teknologi Pertanian dan staf akademik Fakultas Pertanian yang selalu melayani penulis disetiap kebutuhan administrasi penulis.
4. Kanda-kanda '06, '07, '08, adik-adik '10, '11 dan seluruh keluarga HIMATEPA UNHAS, terima kasih atas semua bantuannya selama ini. Terima kasih telah menerima penulis dalam keluarga HIMATEPAUNHAS Jaya Teknologi.
5. Sahabat OBOR '09 yang nama-namanya selalu ada di hati. Terima kasih untuk rasa kekeluargaan yang kalian berikan selama ini.
6. Teman-teman seperjuangan yang tak hentinya memberikan dukungan, Azizah, In, teman timku (Munirah, Aci, Kak Arni dan Kak Aan), Tim Cabai (Vanvan, Novi dan Ikky) Tim Kelapa (Amma,

Yuyun, Anita dan Riska), Tim Glukosa (John, Husnul, Yoland dan Kak Dijah), Hikmah, Rahmah Saleh, Tim Bumbu (Acha, Mahe dan Kak Bams), Kak Yulianty dan terima kasih untuk Ibu Ati atas bantuannya selama ini . Terima kasih untuk kalian yang selalu menjadi penyemangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

Terakhir dan yang paling utama tulisan ini kupersembahkan kepada Ayahanda tercinta **M. Rum** dan Ibunda **Muliati**, terima kasih atas ajaran tentang kemandirian, kasih sayang, kerja keras, dan tuntunan agama yang kalian berikan pada penulis. Mohon maaf telah banyak membebankan hidup dan tetap tegar walaupun terus dipusingkan oleh tingkah laku penulis. Semoga Allah SWT terus memberikan kesehatan dan keselamatan-NYA dunia akhirat kelak amin.

Akhirnya penulis mengharapkan bahwa kiranya tulisan ini bermanfaat bagi penulis sendiri serta yang membacanya. Semoga tulisan ini dapat memberikan sedikit inspirasi, walau itu hanya sedikit.

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Muhipidah lahir di Mallanroe, Kabupaten Soppeng tepatnya pada tanggal 20 Maret 1992. Merupakan anak ke dua dari dua bersaudara dari pasangan M. Rum, SP, MMA dan Muliati, S.Pd.

Pendidikan formal yang pernah dijalani adalah :

1. Sekolah Dasar Negeri 9 Mallanroe (1998 – 2003)
2. Sekolah Lanjutan Tingkat Pertama Negeri 3 Watansoppeng (2003 – 2006)
3. Sekolah Menengah Umum Negeri 2 Tinggimoncong (2006-2009)
4. Pada Tahun 2009 penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin Program Strata Satu (S1) dan tercatat sebagai mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar.

Selama menjalani studi penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Teknologi Pertanian (Himatepa UH), Ikatan Mahasiswa Teknologi Pertanian Indonesia (IMTPI)

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Enzim	5
1. Pektinase	6
2. Produksi Enzim	10
3. Pengaplikasian Enzim Pektinase	12
B. Teknik Fermentasi	12
1. Fermentasi Media Padat	12
2. Kulit Kakao	14
3. Dedak Padi	14
C. Mikroorganisme.....	15
1. Kapang <i>Aspergillus sp</i>	15
2. Pertumbuhan Mikroorganisme	18

	Halaman
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	20
A. Waktu dan Tempat	20
B. Alat dan Bahan.....	20
C. Prosedur Penelitian	21
D. Perlakuan Penelitian	25
E. Parameter Pengamatan	26
F. Pengolahan Data.....	27
G. Prosedur Analisa	27
H. Diagram Alir.....	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Penelitian Pendahuluan	35
B. Penelitian Utama	38
1. Aktivitas Enzim	38
2. Perubahan Berat Substrat	52
V. PENUTUP	56
A. Kesimpulan	56
B. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1	Beberapa Jenis Enzim Pektinase dari Mikroba.....	9
2	Komposisi Media Produksi.....	24
3	Perlakuan Penelitian	26
4	Hasil Analisa Awal Substrat.....	36

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1	Fase-Fase Pertumbuhan Mikroba	18
2	Pembuatan Larutan Spora.....	33
3	Proses Produksi Enzim.....	34
4	Hubungan Suhu dan Waktu Pemanasan Media serta Lama Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase.....	39
5	Aktivitas Enzim Endopoligalakturonase terhadap Absorbansi Jus Pepaya dari Berbagai Umur Kultur dan Jenis Kapang	44
6	Hubungan Suhu dan Waktu Pemanasan Media serta Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase	46
7	Pengaruh Waktu Pengukuran Aktivitas terhadap Aktivitas Enzim Pektat liase	50
8	Grafik Hubungan Evolusi Berat Kering terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase.....	52
9	Grafik Hubungan Evolusi Berat Kering terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase.....	52
10	Grafik Hubungan Evolusi Berat Kering terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase	53

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Halaman
1a	Hasil Pengukuran Berat Kering Media Fermentasi	60
1b	Hasil Pengukuran Berat Kering Media Fermentasi	61
2.	Kurva Standar Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase.....	61
3a.	Tabel Hasil Analisa Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	62
3b.	Tabel Analisa Sidik Ragam Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	62
3c.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	62
3d.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas ... Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	63
3e.	Uji Lanjutan BJND Analisa Pengaruh Interaksi Suhu Pemanasan dan Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	63
4a.	Tabel Hasil Analisa Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	64
4b.	Tabel Analisa Sidik Ragam Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	64
4c.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	64
4d.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	65

No.	Teks	Halaman
4e.	Uji Lanjutan BJND Analisa Pengaruh Interaksi Suhu Pemanasan dan Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Exopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	65
5a.	Hasil perhitungan Absorbansi Aktivitas Enzim Endopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	66
5b.	Hasil perhitungan Absorbansi Aktivitas Enzim Endopoligalakturonase dari kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	67
6a.	Tabel Hasil Analisa Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	68
6b.	Tabel Analisa Sisik Ragam Pektak Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	70
6c.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	70
6d.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	70
6e.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Suhu Pemanasan dan Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	71
6f.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	71
6g.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Suhu Pemanasan dan Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	72
6h.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Waktu Inkubasi dan Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	72
6i.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Waktu Inkubasi dan Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	73

No.	Teks	Halaman
7a.	Tabel Hasil Analisa Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	77
7b.	Tabel Analisa Sidik Ragam Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	77
7c.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	78
7d.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Suhu Pemanasan dan Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	78
7e.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	79
7f.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Suhu Pemanasan dan Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	79
7g.	Uji Lanjutan BJND Pengaruh Interaksi Waktu Inkubasi dan Waktu Hidrolisa terhadap Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	80
8.	Hasil Analisa Standar Deviasi Aktivitas Enzim Eksopoligalakturonase.....	81
9a.	Hasil Analisa Standar Deviasi Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	81
9b.	Hasil Analisa Standar Deviasi Aktivitas Enzim Pektat Liase dari Kultur <i>Aspergillus oryzae</i>	83
10a.	Hasil Analisa Standar Deviasi Aktivitas Enzim Endopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	85
10b.	Analisa Standar Deviasi Aktivitas Enzim Endopoligalakturonase dari Kultur <i>Aspergillus niger</i>	86
11.	Rumus Perhitungan Aktivitas Enzim	87

No.	Teks	Halaman
12a.	Pembuatan Larutan Buffer Asetat	87
12b.	Pembuatan Larutan Tris HCl Buffer	87
13.	Gambar Pembuatan Larutan Spora	88
14.	Gambar Larutan Spora <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Aspergillus oryzae</i>	88
15.	Gambar Proses Pembotolan Enzim Hasil Sentrifugasi	88
16.	Gambar Proses Fermentasi Media Pertumbuhan Kapang <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Aspergillus oryzae</i>	89
17.	Gambar Proses Penyaringan Filtrat Enzim	89

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bioteknologi diartikan sebagai bidang yang mencakup pemanfaatan mikroorganisme dan segala unsur-unsur yang berkaitan dengan makhluk hidup termasuk mikroorganisme. Bioteknologi mencakup banyak bidang salah satunya yaitu teknologi enzim yang mempunyai masa depan yang cerah, sebagai suatu katalisator alami.

Enzim sangat dibutuhkan dalam industri pangan dan industri-industri lainnya. Enzim yang banyak digunakan dalam industri pangan yaitu diantaranya enzim pektinase. Enzim pektinase berperan dalam industri pangan seperti industri jus buah-buahan sementara untuk industri non pangan misalnya industri tekstil. Karena peranannya yang sangat penting, akan lebih baik jika enzim pektinase dapat diperoleh dengan harga yang lebih murah sebab enzim biasanya dijual dengan harga yang relatif mahal.

Dari beberapa hasil penemuan, menunjukkan bahwa mikroorganisme dapat dijadikan sebagai salah satu penghasil enzim, dikarenakan sumbernya yang melimpah di alam, kemampuan mikroorganisme yang luar biasa didalam memproduksi enzim. Selain itu satu mikroorganisme mampu memproduksi lebih dari satu macam

enzim. Menggunakan mikroorganisme akan mempercepat proses produksi karena siklus hidupnya yang pendek, sehingga dapat menghemat biaya dan enzim yang dihasilkan dalam jumlah besar.

Penggunaan mikroorganisme sebagai salah satu penghasil enzim dapat dilakukan dengan fermentasi media padat (Solid State Fermentation) dan fermentasi media cair (Sub Marge Fermentation). Produksi enzim yang dilakukan saat ini yaitu dengan fermentasi media padat. Salah satu bahan baku media padat yang dapat digunakan untuk produksi enzim pektinase dengan sistem fermentasi media padat yaitu kulit kakao. Limbah kulit kakao masih dapat dipergunakan lebih lanjut, diantaranya yaitu untuk media atau substrat fermentasi yang menghasilkan enzim. Biji kakao merupakan salah satu komoditi perkebunan yang mempunyai produksi yang cukup besar dari tahun ke tahun. Berdasarkan data Badan Pusat Statistika (2013), hasil produksi kakao tahun 2009 yaitu 163.001,47 ton, tahun 2010 yaitu 172.083,00 ton dan pada tahun 2011 yaitu 196.573,00 ton. Buah kakao terdiri dari 23-24% berat biji dan 76-77% kulit buah, yang setelah biji kakao diambil maka akan menjadi limbah. Kulit kakao mengandung 9,65% protein kasar, glukosa 1,16%, sukrosa 0,18% dan serat kasar sebesar 33,90%. Penggunaan limbah kulit kakao tidak hanya untuk memanfaatkan limbah sebagai media pertumbuhan mikroorganisme, akan tetapi di dalam kulit kakao juga terdapat kandungan karbon dan nitrogen yang cukup untuk pertumbuhan mikroorganisme dalam

proses fermentasi. Selain limbah kulit kakao yang digunakan sebagai media fermentasi juga dapat digunakan limbah pertanian lain yaitu dedak padi akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam fermentasi sebagai sumber nitrogen. Untuk memenuhi kebutuhan selama pertumbuhan mikroorganisme dapat pula ditambahkan sumber mineral dan garam-garam ke dalam media fermentasi.

B. Rumusan Masalah

Seiring dengan semakin berkembangnya industri pangan maka kebutuhan akan enzim pektinase semakin meningkat pula. Oleh karena itu perlu diikuti dengan ketersediaan enzim yang memadai dengan metode fermentasi media padat (*Solid State Fermentation*) untuk memproduksi enzim pektinase yang cepat, mudah, murah, efisien dan produktifitasnya tinggi. Produksi enzim pektinase dengan mikroorganisme merupakan salah satu solusi dari permasalahan tersebut. Karena siklus hidup mikroorganisme umumnya singkat dan produktifitas yang tinggi dan beberapa diantaranya sudah teruji oleh beberapa peneliti sebelumnya. Mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan dalam produksi enzim pektinase yang ditumbuhkan pada media kulit buah kakao dan dedak padi melalui fermentasi media padat (*Solid State Fermentation*) diantaranya *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*. Agar mikroorganisme dapat memanfaatkan media atau substrat pertumbuhan dengan maksimal, maka perlu dilakukan pemanasan sehingga komponen didalam media pertumbuhan dapat

digunakan sebagai sumber nutrisi utamanya karbon dan nitrogen. Selain itu aktivitas enzim perlu dikaji dengan mengukur evolusi kultur kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae* per periode waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan.

C. Tujuan Penelitian

Agar substrat (kulit kakao) baik dan layak serta ketersediaan nutrisinya lengkap bagi kapang maka perlu dikaji :

1. Produksi enzim pektinase pada substrat atau media kulit kakao dengan menggunakan sistem fermentasi media padat melalui uji aktivitasnya, pengaruh suhu, lama pemanasan media pertumbuhan (kulit kakao dan dedak padi) kultur kapang *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae* terhadap aktifitas enzim pektinase yang dihasilkan.
2. Aktivitas enzim pektinase yang dihasilkan menurut waktu inkubasi kultur jamur (*Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae*) yang diukur melalui kapasitas hidrolisa enzim pektinase terhadap substratnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Enzim

Enzim merupakan biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia organik. Molekul awal yang disebut substrat akan dipercepat perubahannya menjadi molekul lain yang disebut produk (Wong, 1995).

Ada tiga sumber enzim menurut Fowler *et al.* (1988) yaitu dari hewan, tumbuhan, dan sel mikroba. Dahulu hewan dan tumbuhan merupakan sumber enzim tradisional, namun dengan berkembangnya ilmu bioteknologi, masa depan terletak pada sistem mikrobial. Tidak dapat dipungkiri bahwa sebagian besar sumber enzim dalam skala industri adalah mikroorganisme. Beberapa alasan digunakan mikroba adalah (a) sistem produksi mikrobial dapat diperoleh di bawah kontrol tertutup, (b) level/tingkat enzim, sehingga produktivitas enzim dapat dimanipulasi secara lingkungan dan genetika dan (c) metode pengayakan untuk sistem mikrobial cukup sederhana.

Perkembangan dan kemajuan bio-engineering yang sangat cepat berpengaruh sangat besar bagi perkembangan industri enzim. Pada tahun 2001 terdapat sekitar 160 enzim pangan dan sekitar 36 produk berasal dari modifikasi genetik mikroorganisme. Umumnya enzim-enzim tersebut digunakan dalam industri pangan

seperti pada pembuatan roti, pengolahan buah dan sayuran, pembuatan sirup, penolahan susu dan pada industri minuman (Winarno, 2004).

1. Pektinase

Pektin pada umumnya terdiri dari senyawa karbohidrat. Senyawa utamanya adalah poligalakturonat yang terdiri dari unit galakturonat. Pektin terdapat pada jaringan tanaman, terutama sayuran dan buah-buahan. Letak pektin mula-mula pada dinding sel primer, kemudian menempati ruang antar sel yang disebut middle lamella. Menurut Glicksman (1969), istilah pektin pertama kali digunakan untuk menggambarkan komponen pembentuk gel pada buah-buahan yang berarti mengentalkan.

Menurut Winarno (2004), bahwa yang termasuk senyawa pektin antara lain (a) protopektin yaitu senyawa pemula (prekursor) pektin yang bersifat tidak larut dalam air dan jika terhidrolisa akan menghasilkan pektin serta asam pektinat, (b) asam pektinat adalah asam poligalakturonat yang mengandung gugus metil ester dalam jumlah sedikit, disamping itu pada kondisi yang sesuai, asam pektinat mampu membentuk gel dengan gula dan asam, (c) pektin adalah asam pektinat yang dapat larut dalam air dengan derajat metilasi dan kadar metilasi yang bervariasi, dan dapat membentuk

gel dengan gula dan asam pada kondisi yang sesuai, (d) asam pektat merupakan senyawa pektin yang tidak mengandung gugus metil ester.

Enzim pektinase yang dihasilkan oleh mikroorganisme dikelompokkan menjadi tiga kelompok besar, yaitu (1) pektinesterase (PE), disebut juga sebagai pektin metal esterase (PME), terdapat pada tanaman dan beberapa mikroorganisme. Enzim ini menghidrolisa pektin menjadi alkohol dan asam poligalakturonat. (2) poligalakturonase (PG) yang menghidrolisa asam pektat seperti menghidrolisa asam pektinat dengan membuka ikatan glikosida yang disebabkan pemotongan acak. Enzim ini juga dikenal sebagai pektolase atau pektinase dan termasuk *pectic acid depolimerase*. (3) pektin liase juga disebut sebagai pektin eliminase (Satiawihardja, 1982).

Prinsip kerja enzim poligalakturonase yaitu menghidrolisa ikatan glikosidik (α -1,4-glikosidik) pada substansi pektin. Pektat liase memotong pada ikatan glikosidik melalui transeliminasi hydrogen dari atom C4 dan C5 pada substrat. Perbedaan antara poligalakturonase dan pektat liase yaitu (a) pektat liase hanya diproduksi oleh mikroorganisme dan tidak pada tanaman tingkat tinggi (b) pH optimum dari pektat liase yaitu 8,5 – 9,5 sementara pH optimum poligalakturonase yaitu 5 - 6,5 dan (c) pektat liase biasanya membutuhkan ion kalsium sementara penggunaan ion

kalsium tidak terlalu berpengaruh terhadap poligalakturonase. Beberapa mikroorganisme hanya memproduksi pektat liase tetapi ada pula yang memproduksi pektat liase dan galakturonase. Ketika pektat liase dan galakturonase diproduksi bersamaan maka jumlah dari gula reduksi yang terbentuk lebih rendah daripada *double bond* (Whitaker, 1994).

Enzim pektinase merupakan enzim yang menyerang senyawa pektat. Menurut Winarno (2004), berdasarkan cara kerjanya enzim pektinase dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu enzim depolimerase dan pektin esterase atau enzim saponifikasi. Enzim deesterifikasi memotong ikatan ester antara grup karboksil dari unit asam poligalakturonat dan grup metanol. Enzim depolimerase berdasarkan cara kerjanya dibagi menjadi 2 bagian yaitu hidrolase dan liase. Hidrolase memotong pada ikatan α -1,4 pektat polisakarida dengan cara hidrolisa. Sedangkan liase memotong dengan transeliminasi hidrogen pada posisi C4 dan C5. Pemecahan hidrolisa dan transeliminasi dapat berlangsung secara acak (endoenzim) atau hanya memutus bagian ujung (eksoenzim).

Pembagian jenis enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme menurut Fogarty *et al.* (1983), bahwa enzim pektinase terbagi menjadi lima kelompok enzim. Enzim tersebut yaitu pektinesterase, endopoligalakturonase, pektin liase, poligalakturonase dan

endopolimetilgalakturonatliase. Masing-masing enzim tersebut dihasilkan dari mikroorganisme yang berbeda-beda pula. Tabel 1 menunjukkan beberapa jenis enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Tabel 1. Beberapa Jenis Enzim Pektinase dari Mikroorganisme

Jenis Enzim	Mikroba
Pektinesterase	<i>Acrocylindrium sp</i>
	<i>Coniothyrium diplodiella</i>
	<i>Corticium rolfsi</i>
	<i>Fusarium oxysporum</i>
	<i>Clostridium</i>
	<i>multifermentang</i>
Endopoligalakturonase	<i>Aspergillus niger I</i>
	<i>Aspergillus niger II</i>
	<i>Aspergillus japonicus</i>
	<i>Fusarium oxysporum</i>
	<i>Neurospora sithophilia</i>
	<i>Rhizootonia fragariae</i>
	<i>Kluyveromyces fragilia</i>
Pektin liase	<i>Aspergillus niger</i>
	<i>Aspergillus japonicus</i>
	<i>Erwinia aroideae</i>
Poligalakturonase	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Erwina aroideae</i>
	<i>Erwina carotovora</i>
Endopolimetilgalakturonatliase	<i>Penicillium digitatum</i>
	<i>Penicillium italicum</i>

Fogarty *et al.* (1983)

Mikroorganisme yang paling utama digunakan untuk memproduksi enzim pektinase yaitu kapang. Terutama enzim-enzim yang dihasilkan oleh kapang dari genus *Aspergillus*. Disamping *Aspergillus niger*, Satiawihardja (1982), menyebutkan kapang-kapang lain penghasil enzim pektinase yaitu *Botrytis cinera*, *Botrytis alii*, *Rhizopus aritici*, *Scelrotina spp.*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus wenti*, *Asp. Chevalieri*, *Asp. Carbonarius*, *Pullularia spp.*, *Mycoderma spp.*, *Mucor spp.*, *Tricoderma spp.*, *Nigrospora spp.*, *Hendersonia spp.*

2. Produksi Enzim

Proses produksi enzim yang banyak dilakukan saat ini adalah mengembangbiakkan mikroba penghasil enzim yang dikehendaki pada media tertentu kemudian di ekstraksi dan akhirnya dimurnikan. Ada beberapa keuntungan menggunakan mikroba sebagai penghasil enzim. Keuntungan itu antara lain, biaya produksi relatif ringan, dapat diproduksi dalam waktu yang tidak terlalu lama serta mudah untuk dikontrol. Pada proses fermentasi mikroba dapat berkembang biak dengan cepat dan saat berkembang biak akan mengeluarkan cairan yang mengandung enzim, sehingga dapat makanan atau bahan-bahan lain di lingkungannya menjadi produk hasil fermentasi (Muchtadi *et al.*, 1992).

Mikroorganisme untuk memproduksi enzim harus memenuhi beberapa syarat. Mikroorganisme tersebut harus stabil, mempunyai produktivitas yang cukup tinggi, dan dapat tumbuh pada media yang tersedia. Selain itu mikroorganisme yang digunakan tidak menghasilkan senyawa toksik atau bebas dari aktifitas antibiotik (Boing, 1982).

Said (1987) mengatakan, bahwa apabila sebuah galur mikroorganisme yang baik telah diperoleh parameter-parameter fermentasi harus diatur sampai titik optimal untuk memaksimalkan pertumbuhan dan produksi enzim. Di antara parameter yang penting adalah suhu, pH dan transfer oksigen. Hal penting lainnya yaitu zat gizi (nutrient) untuk mikroorganisme, khususnya senyawa yang mengandung karbon, fosfor dan garam-garam mineral.

Menurut Casida (1968) enzim yang dihasilkan mikroorganisme berdasarkan lokasinya dibagi menjadi dua, yaitu endoseluler (intraseluler) dan eksoseluler (ekstraseluler). Endoseluler diproduksi didalam sel atau didalam membran sitoplasma dan tidak dikeluarkan pada lingkungannya. Sedangkan eksoseluler dikeluarkan pada lingkungan untuk mendegradasi substrat. Sintesa enzim eksoseluler yang mengkatalis pemecahan makromolekul menjadi molekul sederhana oleh mikroorganisme pada umumnya dapat diimbangi oleh senyawa kimia tertentu.

3. Pengaplikasian Enzim Pektinase

Pektinase dapat dipakai untuk menjernihkan jus apel, ketimun, anggur, tomat, pisang, jambu biji dan pepaya. Disamping itu juga untuk menurunkan kekentalan, memudahkan penyaringan, mempercepat pengendapan sedimen, mempertahankan tekstur dan penampakan produk akhir, mempertinggi produksi sari buah dan memudahkan pengeluaran jus selama pengepresan (Satiawihardja, 1982).

Fogarty *et al.* (1983) menyatakan, bahwa salah satu pemanfaatan enzim pektinase yaitu untuk mengawetkan kayu-kayu lunak untuk komersial seperti kayu cemara. Pektinmetilesterase berfungsi untuk penghilangan gugus metil pektin teh, sehingga terbentuk partikel teh hitam keras dan mengkilap. Selain itu enzim pektinase sengaja ditambahkan untuk mengurangi tendensi terbentuknya buih. Enzim pektinase juga digunakan untuk *retting* serat-serat tekstil dari rami, goni dan tanaman-tanaman lain.

B. Teknik Fermentasi

1. Fermentasi Media Padat

Produksi enzim dapat dilakukan dengan fermentasi. Fermentasi terbagi atas dua cara yaitu fermentasi padat (*solid state fermentation*) dan fermentasi cair (*submerged fermentation*). Proses produksi enzim pektinase secara komersial, umumnya

dikakukan dengan cara fermentasi padat. Fermentasi media padat merupakan sistem fermentasi yang menggunakan media padat sebagai substrat dan tidak mengandung air bebas. Media padat ini berfungsi sebagai sumber karbon, nitrogen maupun sumber energi. Air yang terdapat dalam media biasanya dalam keadaan terserap atau dalam bentuk kompleks yang menyebabkan media padat menjadi lembab (Satyawiharja, 1982).

Substrat pada fermentasi media padat dicampur dengan cairan yaitu air atau air dengan kandungan mineral tertentu yang menjadikan substrat menjadi semi padat. Substrat yang banyak digunakan sekarang ini biasanya dari limbah pertanian seperti dedak padi, ampas tapioka, ampas jagung, jerami padi, jerami gandum atau campuran limbah tersebut. Fermentasi padat umumnya memberikan substrat lebih banyak (20%-50% padatan). Selain itu, enzim yang dihasilkan biasanya beragam. Cara fermentasi padat disukai untuk menghasilkan enzim ekstraseluler (Suhartono, 1989).

Fermentasi media padat memiliki keuntungan dibandingkan dengan fermentasi media cair antara lain (1) menggunakan media alami yang sifatnya tunggal, (2) kontrol terhadap kontaminasi rendah, (3) persiapan inkulum lebih sederhana, (4) kondisi inkubasi hampir menyerupai yang alami, (5) dapat menghasilkan produk

dengan kepekatan yang lebih tinggi dan (6) aerasi optimum dari sistem lebih muda karena banyak ruangan yang terdapat antara partikel dari media (Satyawiharja, 1982).

2. Kulit Kakao

Kulit buah kakao merupakan limbah agroindustri yang dihasilkan tanaman kakao (*Theobroma cacao L.*). Buah coklat yang terdiri dari 74 % kulit buah, 2 % plasenta dan 24 % biji (Nasrullah, 1993). Pahlevi (1987) melalui penelitiannya mengungkapkan bahwa hasil analisa kimia kulit kakao yaitu kadar air 14.37%, total padatan 85.63%, lemak 0.32%, serat kasar 26.81% dan pektin 4.80%. Kulit kakao mengandung kandungan pektin yang cukup tinggi yang dapat digunakan sebagai pengimbas(inducer), sehingga memungkinkan pemakaian kulit buah coklat sebagai salah satu media produksi enzim pektinase.

3. Dedak Padi

Dedak padi merupakan hasil ikutan penggilingan padi yang berasal dari lapisan luar beras pecah kulit dalam proses penyosohan beras. Proses pengolahan gabah menjadi beras akan menghasilkan dedak padi kira-kira sebanyak 10%. Dedak merupakan limbah dalam proses pengolahan gabah menjadi beras yang mengandung bagian luar beras yang tidak terbawa, tetapi tercampur pula dengan bagian penutup beras itu (Rasyaf, 1990).

Satiawihardja (1984), melaporkan bahwa dedak padi merupakan media padat yang terbaik dalam menghasilkan enzim pektinase karena kandungan yang dimilikinya. Komposisi kimia dedak padi menurut Widyawati (1990) yaitu kadar protein 13,30%, kadar lemak 15,80% dan karbohidrat sebesar 50,80%.

C. Mikroorganisme

1. Kapang *Aspergillus sp*

Umumnya kapang genus *Aspergillus* non patogenik digunakan dalam produksi enzim pektinase. *Aspergillus niger* dan *Aspergillus oryzae* merupakan kapang non patogenik yang bersifat aerobik sehingga dalam pertumbuhannya butuh oksigen dalam jumlah yang cukup. Suhu optimum pertumbuhannya yaitu 37°C. Terdapat 23 jenis enzim yang dapat diidentifikasi dari pertumbuhan *Aspergillus oryzae* dan 20 jenis enzim dari pertumbuhan *Aspergillus niger*. Beberapa strain secara komersial digunakan untuk menghasilkan asam sitrat, glukonat dan beberapa jenis enzim. Enzim yang dihasilkan antara lain amilase, pektinase, selulase, katalase, amiloglukosidase dan glukosa oksidase (Frazier *et al.*, 1981). Pertumbuhan Kapang *Aspergillus* dipengaruhi oleh beberapa faktor :

a) Temperatur

Temperatur berpengaruh langsung pada kecepatan pertumbuhan mikroorganisme, kecepatan sintesa enzim dan kecepatan inaktivasi enzim. Jamur pada umumnya tidak tahan terhadap temperatur tinggi. Temperatur terlalu tinggi dapat mengakibatkan proses pengeringan protein yang menyebabkan kematian sel, sedangkan temperatur yang terlalu rendah akan mengurangi aktifitas enzim hingga pertumbuhan mikroorganisme terganggu (Maciel *dkk.*, 2008).

b) Zat makanan (nutrien)

Karbon adalah sumber nutrien utama yang diperlukan dalam pertumbuhan jamur. *Aspergillus niger* akan tumbuh dengan baik jika menggunakan glukosa, fruktosa, maltosa, sukrosa, xylosa dan manosa sebagai sumber karbonnya. Nutrien lain yang cukup memegang peranan penting adalah unsur nitrogen. Selama fase pertumbuhan, jamur menggunakan nitrogen dengan cepat dan pada periode ini enzim mulai terdapat di dalam media. Media untuk pertumbuhan pada umumnya memerlukan magnesium (Mg), Fosfor (P), kalium (K), sulfur (S), kalsium (Ca) dan khlor (Cl) sebagai komponen "essensial"nya. Unsur-unsur ditambahkan dalam bentuk garamnya dengan konsentrasi yang tepat. Kapang *Aspergillus* sp, khususnya *Aspergillus niger* dalam pertumbuhannya berhubungan dengan zat makanan (nutrien) yang terkandung dalam medium

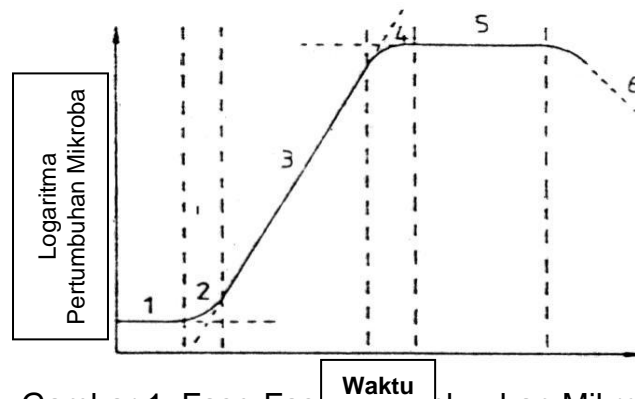
fermentasi. Molekul-molekul sederhana seperti glukosa yang terlarut dalam air yang terkandung pada sekeliling hifa, dapat langsung diserap oleh hifa. Senyawa-senyawa polimer seperti selulosa, pati dan protein harus diuraikan terlebih dahulu menjadi molekul yang lebih sederhana. Selanjutnya molekul-molekul sederhana tersebut diserap ke dalam sel dan digunakan sebagai substrat oleh enzim intraselular (Narasimha *dkk.*, 2006).

c) Kadar air

Kadar Air merupakan faktor penting dalam proses sistem fermentasi padat karena variabel ini dapat berpengaruh pada pertumbuhan mikroorganisme, biosintesis, dan sekresi enzim. Kadar air yang rendah menyebabkan berkurangnya kelarutan nutrisi di dalam substrat, derajat pertumbuhan rendah, dan tegangan air tinggi. Sedangkan level Kadar air yang lebih tinggi dapat menyebabkan reduksi porositas (jarak interpartikel) pada matriks padatan, sehingga menghalangi transfer oksigen. Moisture content yang optimal untuk pertumbuhan Kapang adalah 85% (Maciel *dkk.*, 2008).

2. Pertumbuhan Mikroorganismen

Setiap mikroorganismen mempunyai kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan fungi mempunyai beberapa fase, antara lain fase lag, fase akselerasi, fase eksponensial, fase deselerasi, fase stasioner dan fase kematian. Fase-fase kehidupan mikroba dengan jelas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Fase-Fase Pertumbuhan Mikroba

Mikroorganismen akan melewati fase-fase kehidupan dimana setiap fase mempunyai ciri yang berbeda-beda. (1) fase lag, yaitu fase penyesuaian sel-sel dengan lingkungan pembentukan enzim-enzim untuk mengurai substrat; (2) fase akselerasi, yaitu fase mulainya sel-sel membelah dan fase lag menjadi fase aktif; (3) fase eksponensial, merupakan fase perbanyakan jumlah sel yang sangat banyak, aktivitas sel sangat meningkat, dan fase ini merupakan fase yang penting bagi kehidupan fungi. Pada awal fase-fase ini kita dapat memanen enzim-enzim dan akhir pada fase ini atau (4) fase deselerasi, yaitu waktu sel-sel mulai kurang aktif

membelah, kita dapat memanen biomassa sel atau senyawa-senyawa yang tidak lagi diperlukan oleh sel; (5) fase stasioner, yaitu fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang. Selanjutnya pada (6) fase kematian dipercepat, jumlah sel-sel yang mati lebih banyak daripada sel-sel yang masih hidup (Abdul *dkk.*, 1995).