

## PENENTUAN AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM INULINASE HASIL PURIFIKASI DARI BAKTERI *Lactobacillus plantarum* B1765

### ACTIVITY OF INULINASE ENZYME FROM *Lactobacillus plantarum* B1765

Lukia Nabila\* and Prima Retno Wikandari

Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
State University of Surabaya  
Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

\*Corresponding author, telp.081328262678, email: [primaretno@unesa.ac.id](mailto:primaretno@unesa.ac.id)

**Abstrak.** Telah dilakukan penelitian terkait dengan aktivitas enzim inulinase yang diisolasi dari bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765. Bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 ditumbuhkan dalam media MRS yang diperkaya dengan inulin 3% untuk kemudian ditentukan kurva pertumbuhan dalam menentukan waktu inkubasi optimum dalam produksi enzim inulinase. Ekstrak enzim yang diperoleh diuji dengan metode Nelson-Somogyi untuk mengetahui besar aktivitas enzim. Penelitian yang telah dilakukan memberikan hasil bahwa waktu optimum untuk menghasilkan enzim inulinase yang maksimal adalah waktu inkubasi selama 18 jam dengan aktivitas enzim inulinase sebesar 0,047 Unit/ml.

**Kata Kunci:** enzim inulinase, waktu inkubasi, aktivitas enzim.

**Abstract.** Researches to know activity of inulinase enzyme was isolated from *Lactobacillus plantarum* B1765 bacteria. *Lactobacillus plantarum* B1765 was inoculated onto MRS medium containing of 3% inulin. Then, determine the growth curve of *Lactobacillus plantarum* B 1765 for inulinase production. The activity of extract inulinase enzyme was determined by quantifying the reducing sugar with Nelson-Somogyi method. Based on experiment *Lactobacillus plantarum* B1765 produced with the highest enzymatic activity (0,047 Unit/ml) at 18 h.

**Key words:** inulinase enzyme, incubation time, enzymatic activity.

## PENDAHULUAN

Belakangan ini inulin mulai banyak diteliti karena fungsinya sebagai sumber serat dan prebiotik yang banyak memberi manfaat baik bagi kesehatan manusia. Inulin merupakan polimer fruktan, sehingga bilamana inulin mengalami hidrolisis maka dapat dihasilkan fruktooligosakarida (FOS) ataupun fruktosa dan glukosa. FOS sendiri merupakan sumber prebiotik yang dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri di dalam usus manusia sehingga berperan juga pada beberapa kesehatan manusia seperti anti diabetes.

Inulin dapat dihidrolisis dengan bantuan enzim inulinase. Enzim inulinase adalah enzim ekstraseluler yang memiliki target rantai inulin dengan ikatan  $\beta$ -2,1 yang berupa sebuah polifruktan yang terdiri dari rantai fruktosa  $\beta$ -2,1 dan akan menghidrolisisnya menjadi fruktosa. Enzim inulinase merupakan enzim yang bersifat induktif.

Enzim inulinase ini dapat diisolasi dari beberapa mikroorganisme seperti yeast, mikroba, dan kapang. Telah dilakukan penelitian isolasi dan karakterisasi enzim inulinase dari jenis yeast yaitu *Aspergillus niger*

Gmn11.1 dimana diketahui bahwa waktu inkubasi optimum adalah 15 jam . [1]

Penelitian terdahulu juga telah dilakukan produksi enzim inulinase dari *Basillus sp.* B51f dan menunjukkan bahwa produksi inulinase dimulai dari waktu inkubasi 12 jam dan mencapai aktivitas maksimum pada waktu inkubasi 24 jam. Aktivitas enzim inulinase mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya waktu inkubasi .[2]

Untuk dapat memproduksi enzim inulinase perlu diketahui waktu inkubasi optimum yang dapat diketahui melalui kurva pertumbuhan bakteri.

Dalam sebuah penelitian diketahui bahwa *Lactobacillus plantarum* WCFS1 dapat tumbuh dengan baik dalam sebuah medium inulin . [3]

Terkait dengan bakteri *Lactobacillus plantarum*, sebelumnya telah dilakukan isolasi bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 dari produk makanan bekasam . [4]

Mengingat masih kurangnya penelitian terkait dengan enzim inulinase yang bersumber dari bakteri terutama bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765, maka perlu dilakukan penelitian untuk dapat mengetahui aktivitas enzim inulinase. Bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 adalah bakteri asam laktat yang diisolasi dari bekasam. Sebelumnya telah dilakukan penelitian Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui waktu inkubasi optimum untuk produksi enzim inulinase.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Terdapat beberapa bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya: bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765, inulin, aquades, MRS broth (Merck), reagen nelson, reagen arsenomolibdat, buffer asetat pH 4,5.

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian penentuan aktivitas enzim inulinase ini adalah: alat-alat gelas berupa gelas kimia, labu ukur, gelas ukur, cawan petri, neraca analitik, autoclave (Hirayama HVE-50), stirerr,

inkubator, spektrofotometer UV-VIS, pipet mikro.

## Prosedur Penelitian

### 1. Penentuan Kurva Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765

Isolat bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yang ditumbuhkan dalam media agar MRS dihitung pertumbuhannya dengan lama fermentasi 3,6,9,18,21,24 dan 48 jam. Metode yang digunakan dalam penentuan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 adalah dengan total plate count. Pengukuran TPC dilakukan dengan metode tuang. 1mL inokulan bakteri diinokulasikan ke dalam 9mL media MRS yang telah ditambahkan 3% inulin dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3,6,9,18,21,24 dan 48 jam. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah total bakteri tiap tiga jam.

### 2. Penentuan Aktivitas Enzim Inulinase

Penentuan aktivitas inulinase dilakukan dengan mencampurkan 0,1mL ekstrak enzim dengan 0,5mL substrat 1% inulin yang disuspensikan dalam buffer natrium fosfat pH 6,0 dan 0,4mL buffer pH 4,0 kemudian, larutan tersebut diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit. Setiap campuran yang telah diinkubasi kemudian dipanaskan di dalam air mendidih dalam waktu 5 menit. Setelah larutan dingin ditambahkan 1mL reagen Nelson dan dipanaskan ke dalam gelas kimia yang berisi air mendidih dengan lama waktu 5 menit. Campuran yang telah dingin ditambahkan beberapa tetes reagen arsenomolibdat hingga endapan larut kemudian ditambahkan aquades 5mL dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550nm. Dibuat larutan blangko dalam tabung reaksi dengan campuran yang sama tetapi tanpa melalui proses inkubasi .[5]

## HASIL DAN PEMBAHASAN

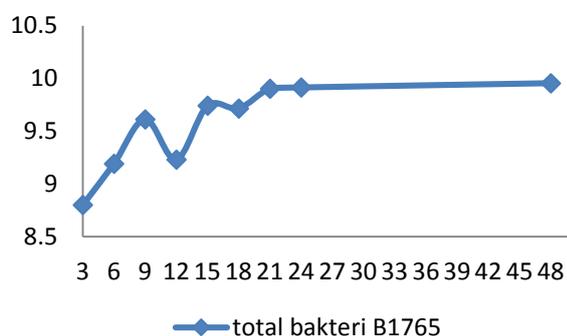
Pada penelitian penentuan aktivitas ekstrak kasar enzim inulinase dari *Lactobacillus plantarum* B1765 ini dilakukan penentuan kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*

*plantarum* B1765 yang kemudian diuji aktivitas enzimnya.

### 1. Penentuan kurva pertumbuhan

Penentuan kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 menggunakan metode perhitungan jumlah BAL dengan Total Plate Count (TPC). Prinsip pada metode ini adalah jumlah koloni hidup yang tumbuh pada media padat yang dapat dihitung berkisar 25-250 koloni.

Berdasarkan penelitian didapatkan data jumlah total bakteri yang telah dibuat kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yang ditunjukkan seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765

Seperti yang telah ditunjukkan pada Gambar 1. dapat diketahui bahwa bakteri memasuki fase lag pada waktu inkubasi 3 hingga 6 jam dan memasuki fase log pada waktu inkubasi 9 hingga 18 jam. Pada waktu inkubasi selanjutnya hingga 48 jam bakteri memasuki fase stasioner dimana jumlah total bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 relatif konstan.

Enzim inulinase yang dihasilkan paling optimal pada fase log hal ini karena pada fase tersebut sel bakteri membelah secara cepat dan relatif stabil sehingga kebutuhan sumber energi menjadi lebih tinggi daripada fase yang lainnya (Wijanarka, 2007).[6]

Hasil penelitian ini menunjukkan kecenderungan hasil sama dengan yang telah dilakukan oleh Panggayuh (2014) yang menguji kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yang ditumbuhkan pada media MRS ditambahkan dengan casein dan menunjukkan bahwa bakteri mengalami fase log pada jam ke-8 hingga jam ke-16 dimana bakteri tumbuh dengan cepat. Total bakteri tertinggi dihasilkan pada waktu inkubasi 16 jam.[7]

Selain itu, Huda (2016) juga telah melakukan uji kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yang ditumbuhkan pada media yoghurt dengan menunjukkan hasil bahwa bakteri mengalami fase log pada jam ke-6 dan mencapai pertumbuhan tertinggi pada jam ke-24 dengan nilai kerapatan optik 0,638 nm, analisa dilakukan dengan metode turbidimeter menggunakan spektrofotometri UV-VIS.[8]

### 2. Penentuan Aktivitas Enzim Inulinase

Uji aktivitas enzim inulinase dilakukan untuk mengetahui waktu inkubasi optimum dalam menghasilkan produk enzim inulinase secara optimal. Setelah diketahui fase log dari kurva pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765, maka ditentukan berapa waktu inkubasi optimum melalui uji aktivitas enzim dengan metode Nelson-Somogyi.

Prinsip dari metode uji Nelson-Somogyi adalah kupri oksida tereduksi membentuk kupro oksida (CuO) karena adanya kandungan senyawa gula di dalam sampel yang kemudian kupro oksida dioksidasi kembali dengan larutan asam arsenomolibdat yang membentuk warna biru arsenomolibdat (Bintang, 2010).[9]

Uji aktivitas enzim inulinase dilakukan pada tiga titik waktu inkubasi yaitu 12, 15, dan 18 jam. Hasil uji aktivitas enzim dipaparkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil aktivitas enzim pada waktu inkubasi yang berbeda

No.	Waktu Inkubasi (Jam)	Aktivitas enzim (U/ml)
1.	12	0,005
2.	15	0,039
3.	18	0,047

Dari hasil uji aktivitas yang telah dilakukan, diketahui bahwa waktu inkubasi yang sesuai untuk menghasilkan enzim inulinase aktivitas tertinggi adalah 18 jam dengan aktivitas enzim sebesar 0,047 Unit/ml.

### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian penentuan aktivitas enzim inulinase yang telah dilakukan diketahui bahwasanya enzim inulinase yang dihasilkan dari bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 dapat diproduksi secara optimum pada waktu inkubasi 18 jam. Aktivitas enzim inulinase yang dihasilkan dari bakteri *Lactobacillus plantarum* B1765 yaitu sebesar 0,047 Unit/ml.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Saryono, 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Inulinase dari Aspergillus niger Gmn11.1 Galur Lokal*. Pekanbaru: Universitas Riau
2. Aruna K. 2014. *Optimization of Inulinase Production by Bacillus sp. B51f Isolated from Rhizosphere Soil of Agave sisalana*. Mumbai: Wilson Collage vol ISSN: 2320 - 7051
3. Delphine, dkk. 2007. *Identification of Prebiotic Fruktooligosaccharide Metabolism in Lactobacillus plantarum WCFS1 Through Microarrays*. America: Society of Microbiology. vol 73, No 6
4. Wikandari, Prima Retno. 2011. *Potensi Bakteri asam laktat Indigenous Sebagai Penghasil Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Pada Fermentasi Bekasam*. Disertasi tidak dipublikasikan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
5. Noha Abdullah. 2011. *Studies On Possible Activation Of Microbial Inulinase*

*Production Using Gamma Radiation Under Solid State Fermentation*. Cairo: Cairo University

6. Wijanarka, M.G, Isworo Rukmi, Lynda Sutrisna. 2007. *Pengaruh Pepton dan Waktu Inkubasi Terhadap Produksi Inulinase oleh Pichia alni DUCC-W4 Berbahan Dasar Tepung Umbi Dahlia (Dahlia variabilis Willd)*. Surabaya: Universitas Diponegoro Vol.9, No. 2
7. Panggayuh, Diah Puri Pangastuti dan Prima Retno Wikandari. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Amonium Sulfat Terhadap Aktivitas Protease Ekstraseluler Lactobacillus plantarum B1765 Isolat Bekasam*. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya
8. Huda, Mar'atul dan Prima Retno Wikandari. 2016. *Penentuan Aktivitas  $\beta$ -Glukosidase Pada fermentasi Sari Kedelai Dengan Kultur Starter Lactobacillus plantarum B1765*. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya
9. Bintang, Maria. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga