

PENGARUH SIRUP GULA CAIR HASIL HIDROLISIS ENZIMATIS DARI SAGU (*Metroxylon sp.*) SEBAGAI MEDIA FERMENTASI TERHADAP KADAR SEFALOSPORIN C

*Effect of Glucose Syrup Results Enzymatic Hydrolysis of Sago (Metroxylon sp.)
as Media Fermentation Against Cephalosporins C.*

Soraya, Sahri Yanti*, Mikhratunnisa

*Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Teknologi Sumbawa

*email: sahri.yanti@uts.ac.id.

Diterima 2 Maret 2019 / Disetujui 22 Mei 2019

ABSTRACT

Liquid sugar syrup which made by sago's starch material can be use as fermentation media for sefalosporin. The hydrolisis is a one way to obtain a liquid sugar syrup itself. The enzymatically hydrolisis divided into two process, they are Liquification and sacharification. The research purpose to understanding the way of hydrolisis sago's starch by enzymatically. Next, glucose quality result. Then the influence of the syrup by enzymatically hydrolisis as fermentation media toward quality of sefalosporin. The sample of this research was taken from PT. Selat Panjang, Riau. In Liquification process, the result showed that the maximum glucose quality was obtained about 3874 ppm from concentration of starch and enzym (60g/L: 300µL) meanwhile, the minimum glucose quality was obtained about 3501ppm from concentration of starch and enzym (40g/L: 200µL). Next, sacharification process (lasting 24-48 hours) maximum glucose quality was obtained about 12070 ppm with duration 48hours of hydrolisa. The addition liquid syrup of hydrolisis with five levels concentration, there are 1.5; 2.0; 2.5; 3.0, and 3.5% affected sefalosporin quality. The maximum quality of sefalosporin about 3709 ppm by concentration lyquid syrup GS 3.0% and minimum quality about 2044 ppm by concentration lyquid syrup Gs 1.5%. Meanwhile, by the positive control (glucose monohidrat) with similar treatment, the sefalosporin's quality was about 2170 ppm.

Key words: *Sago, Sago Starch, Enzymatic Hydrolysis, Fermentation, Cephalosporins C.*

ABSTRAK

Sirup gula cair dari pati sagu dapat digunakan sebagai media fermentasi sefalosporin. Sirup gula cair dapat dengan cara dihidrolisis. Hidrolisis pati sagu secara enzimatis meliputi proses likuifikasi dan sakarifikasi. Penelitian bertujuan mengetahui cara hidrolisis pati sagu secara enzimatis dan kadar glukosa yang dihasilkan, serta pengaruh sirup gula cair hasil hidrolisis enzimatis sebagai media fermentasi terhadap kadar Sefalosporin C. Sampel pati sagu diperoleh dari PT Selat Panjang, Riau. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada tahap likuifikasi (2 jam) diperoleh kadar glukosa maksimum sebesar 3874 ppm dari konsentrasi pati sagu dan enzim (60g/L:300µL). Sedangkan kadar glukosa minimum diperoleh sebesar 3501 ppm dari konsentrasi pati sagu dan enzim (40g/L:200µL). Pada tahap sakarifikasi (24-48 jam) kadar glukosa maksimum diperoleh sebesar 12070 ppm dengan waktu hidrolisa 48 jam. Dalam penambahan sirup gula cair hasil hidrolisis dengan lima level konsentrasi sirupgula cair 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 dan 3,5% mempengaruhi kadar Sefalosporin C. Kadar maksimum Sefalosporin C dihasilkan sebesar 3709 ppm dari konsentrasi sirup gula cair GS 3,0% dan kadar minimum diperoleh sebesar 2044 ppm dari konsentrasi sirup gula cair GS 1,5%. Sedangkan pada kontrol positif (glukosa monohidrat) dengan perlakuan yang sama diperoleh kadar Sefalosporin C sebesar 2170 ppm.

Kata kunci: Sagu, Pati Sagu, Hidrolisis enzimatis, Fermentasi, Sefalosporin C.

PENDAHULUAN

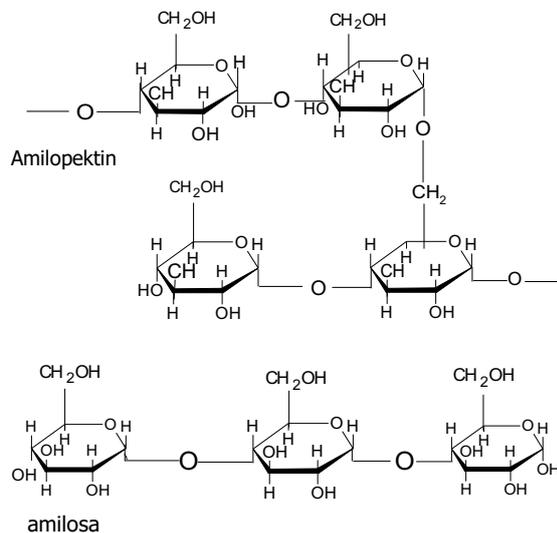
Sagu merupakan tanaman tropis Asia Tenggara, yang jika dibandingkan dengan tanaman penghasil karbohidrat lain, kandungan patinya relatif tinggi. Sagu tidak memerlukan penanaman kembali karena tunas

dapat tumbuh secara terus-menerus. Sagu juga mampu bertahan hidup pada lingkungan ekstrim seperti tanah berawa. Potensi pati sagu tertinggi mencapai 25 ton pati kering/ha/tahun. Jumlah produksi pati sagu tiga hingga empat kali lebih tinggi dari beras, jagung, atau gandum dan sekitar tujuh belas

kali lebih tinggi dibandingkan dengan singkong (Karim *et al.*, 2008). Singkatnya, saat kondisi lingkungan dan ekonomi yang memprihatinkan, sagu adalah tanaman yang unggul untuk pertanian berkelanjutan.

Batang sagu dapat diolah menjadi pati sagu. Namun penggunaan pati alami (*native*) secara langsung menyebabkan beberapa permasalahan yaitu retrogradasi¹, sineresis², kestabilan rendah, dan rendahnya ketahanan pasta terhadap pH dan suhu. Oleh karena itu, perlu dilakukan modifikasi pati baik secara fisik, kimia, dan enzimatis. Pemanfaatan pati sebagai produk farmasi dan media fermentasi dilakukan melalui biokonversi salah satunya hidrolisis (Azmi *et al.*, 2017).

Metode hidrolisis dapat diaplikasikan dalam produksi sirup glukosa atau sirup gula cair. Triyono (2008) mengemukakan bahwa, bahan baku pembuatan sirup glukosa adalah pati. Pati sagu memiliki kandungan amilosa 27% dan 73% amilopektin.



Gambar 1. Struktur amilosa³ dan amilopektin⁴

Amilopektin yang tinggi membuat pati sagu dapat dihidrolisis secara kimiawi dan enzimatis. Enzim aktif dalam media berbentuk

gel (Misset dan Bhat, 2013). Menurut Tester dan Karkalas (2016) sebagian besar hidrolisis asam telah diganti dengan enzimatis menggunakan enzim α -amilase dan glukamilase yang mampu memberikan 95% lebih banyak yield glukosa.

Secara enzimatis telah banyak dilakukan hidrolisis, dan memberikan hasil yang baik diantaranya oleh Rofiq *et al.*, (2013), hidrolisis pati sagu menggunakan enzim α -amilase dan dekstrozyme menghasilkan gula pereduksi tertinggi berturut-turut sebesar 7% (b/v) dan 17,1% (b/v). Hidrolisis enzimatis dalam pembuatan sirup gula cair terjadi melalui dua tahap yaitu likuifikasi dan sakarifikasi. Pada tahap likuifikasi, enzim α -amilase memecah molekul pati dalam rantai pada ikatan 1,4 glikosidik menjadi molekul yang lebih kecil meliputi glukosa, maltosa, dekstrin dan oligosakarida yang ditandai dengan rendahnya viskositas larutan. Sedangkan tahap sakarifikasi memecah ikatan α -1,6 glikosidik secara acak pada dekstrin menjadi glukosa.

Sirup gula cair dapat digunakan sebagai media fermentasi produksi antibiotik *Sefalosporin*. *Sefalosporin* adalah antibiotik golongan β -laktam yang dihasilkan oleh kapang *Acremonium chrysogenum*. Efektivitas *Sefalosporin* terhadap bakteri gram positif dan negatif lebih unggul jika dibandingkan dengan antibiotik golongan β -laktam lainnya (Penisilin) (Ruiz *et al.*, 2010). Untuk menghasilkan *Sefalosporin* dalam jumlah maksimum, kapang *Acremonium chrysogenum* membutuhkan nutrisi yang sangat kompleks diantaranya karbon, nitrogen, dan beberapa macam asam amino (Srivastava, 2006). Prabandari dkk (2017) menjelaskan bahwa glukosa menempati posisi kedua, terbaik setelah molases dengan produksi *Sefalosporin C* 3696 mg/L, meningkat sebesar 1,48 kali dan maksimal hanya menghasilkan 2487 mg/L.

Melihat besarnya peluang untuk memanfaatkan pati sagu, perlu dilakukan penelitian pengaruh sirup gula cair hasil hidrolisis enzimatis dari sagu (*Metroxylon sp.*) sebagai media fermentasi terhadap kadar *Sefalosporin C*. Tujuannya antara lain mengetahui cara hidrolisis pati sagu menjadi

¹Retrogradasi: kristalisasi kembalimatriks pati yang telah tergelatinisasi akibat suhu.

²Sineresis: keluarnya cairan dari gel pati yang dipotong/disimpan lama

³Amilosa: polimer dari glukosa, terbentuk dari ikatan 1-4 glikosidik yang tidak bercabang

⁴Amilopektin: polimer dari glukosa, terbentuk dari ikatan 1-4 glikosidik dan 1-6 glikosidik yang bercabang

sirup gula cair secara enzimatis, kadar glukosa yang dihasilkan, serta pengaruh sirup gula cair sebagai media fermentasi terhadap kadar *Sefalosporin C*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: beaker glass, spatula, microwave, shaker water bath, stirrer, hot plate, thermometer, HPLC, tabung vial, tabung eppendorf dan tatakan, mikro pipet, tip 200 μ L dan 1 mL, botol schott, timbangan analitik, piring timbang, labu takar, cawan petri, vortex, lemari es, sentrifus, corong, dan pengaduk. Alat yang digunakan dalam pembuatan media untuk fermentasi *Sefalosporin C* antara lain: piring timbang, timbangan analitik, mikro pipet, tip, glass bead, pH meter, erlenmeyer, tutup sumbat, autoklaf, pipet pasteur, stirrer, tabung reaksi, syringe 0,20 μ m, jarum suntik, hot plate, ampul, laminar air flow, pipet ukur, bulb, glass beaker, spatula, cawan petri, inkubator, shaker, mikroskop, tabung evendorf, tabung sentrifus, jarum ose, api bunsen, dan sentrifus.

Bahan yang digunakan ialah pati sagu produksi PT. Selat panjang Riau-Indonesia, enzim liquozyme supra 4.5x novozymes, enzim extenda peak 1,5x novozymes, kalsium klorida (CaCl_2), natrium azida, air suling, sabouroud maltose agar, bacteriological peptone, malt extract, agar bacteriological, CSL lokal (Corn Step Liquor), sukrosa, paraffin cair, DL-Metionin, ammonium asetat, soybean oil, sirup gula cair sagu hasil hidrolisis, corn starch, KH_2PO_4 , urea, maltodextrin, magnesium sulfat, CaCO_3 , trace element stok, air RO (reverse osmosis) dan glukosa monohidrat.

Produksi *Sefalosporin C* dari sirup gula cair hasil hidrolisis pati sagu

Tahap kultivasi kapang

Media MMP_1 (Maltose Malt Peptone) digunakan menumbuhkan kapang *A. chrysogenum*. Isolat murni *A. chrysogenum* ialah kultur koleksi Balai Bioteknologi BPPT diregenerasikan dan ditumbuhkan selama 7 hingga 14 hari dalam inkubator suhu 28°C.

Keberhasilan ditunjukkan dengan terbentuknya koloni berwarna kuning muda dengan diameter sekitar 1-2 mm (Onions dan Brady, 1987). Seluruh bahan ditimbang, sabouroud maltose agar 19,20 g/mL, bacteriological peptone 0,15 g/mL, malt extract 6,96 g/mL, agar bacteriological 2,83g/mL dan air RO 300 mL. Selanjutnya, semua bahan dimasukkan dalam gelas beaker dan tambahkan air RO sebanyak 300 mL, kemudian dihomogenkan. Setelah mencapai pH 7 ditambahkan NaOH. Selanjutnya, tambahkan agar bacteriological dilarutkan menggunakan microwave dan sterilisasi pada suhu 121°C selama 25 menit. Isolat kapang *A. Chrysogenum* ditumbuhkan dengan mengambil 1 mL larutan fisiologis dan distribusikan ke dalam ampul kemudian dikocok. Selanjutnya sebanyak 0,1 mL disebar pada media agar miring (*slant*) dalam cawan petri. Lalu, inkubasi pada suhu 28°C selama 7-14 hari.

Tahap vegetatif

Merupakan tahap peremajaan atau perbanyakkan kapang *A. Chrysogenum*. Tahap awal pembuatan media vegetatif dilakukan dengan mencampur semua bahan vegetatif, lalu menambahkan air RO hingga 200 mL. Ukur pH awal dan pH akhir hingga mencapai pH 7 dengan menambahkan NaOH atau HCl. Dimasukkan masing-masing 30 mL ke dalam Erlenmeyer. ditambahkan 3 buah glass bead dan soybean oil 0,6 mL. Sterilisasi 121°C selama 25 menit. Setelah itu tambahkan 1,5 mL DL-Metionin masing-masing 30 mL ke dalam media. Tahap kedua yaitu inokulasi kapang *A. chrysogenum* ke dalam media vegetatif. Sebanyak 6 mL air fisiologis, dimasukkan ke dalam tabung kultur agar miring dan disuspensikan, selanjutnya diinkubasi dalam *orbital shaker* pada suhu 28°C dengan kecepatan 220 rpm selama 72 jam (3 hari). Tahap ketiga yaitu perhitungan spora menggunakan haemocytometer⁵. Sebanyak 1 mL suspensi kapang *A. chrysogenum* dimasukkan ke dalam tabung berisi 9 mL air fisiologis, kemudian divorteks.

⁵Haemocytometer: alat penghitung jumlah sel spora

Selanjutnya larutan diambil dan diteteskan di atas alat haemositometer. Dilakukan pengamatan spora⁶ dibawah mikroskop perbesaran 500x. Perhitungan spora sebagai berikut:

$$\text{Jumlah spora (CFU/mL)} = N \times 104 \times 2.5 \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Ket: N= Jumlah sel yang ditemukan

Tahap fermentasi

Media fermentasi akan digunakan oleh kapang *A.chrysogenum* untuk menghasilkan *Sefalosporin C*. Jenis fermentasi yang digunakan yaitu fermentasi kultur terendam (Sub merged culture). Pada penelitian ini tahap pertama yang dilakukan ialah pembuatan media fermentasi dengan penambahan sirup gula cair sagu dan penambahan glukosa monohidrat untuk kontrol positif. Tahap awal ditimbang semua bahan untuk media fermentasi, tambahkan air hingga 500 mL, ditambahkan sirup gula cair dengan beberapa level konsentrasi 1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0% dan 3,5%. Cek pH awal dan atur pH menjadi 6. Masukkan 30 mL media ke masing-masing erlenmeyer serta 3 buah glass bead. Selanjutnya, sterilisasi dengan autoklaf suhu 121 °C selama 25 menit. terakhir ditambahkan DL-Metionin sebanyak 1,5 mL ke dalam media secara aseptis. Pembuatan media fermentasi untuk kontrol positif (glukosa monohidrat) sama halnya dengan pembuatan media fermentasi sebelumnya.

Selanjutnya proses inokulasi⁷ kapang dari media vegetatif ke media fermentasi. Inokulum hasil inkubasi pada media vegetatif diinokulasi sebanyak 3 mL ke dalam media fermentasi. Setelah itu, media fermentasi diinkubasi pada inkubator kocok dengan kecepatan 220 rpm pada suhu 25°C selama 5 hari.

⁶Spora: kumpulan sel yang dapat dibiakkan

⁷Inokulasi: menumbuhkan mikroba dalam media untuk melihat variasi jenis mikroba

Panen ekstrak kasar dan analisis kadar sefalosporin

Panen dilakukan dengan cara sentrifugasi kaldu media fermentasi sebanyak 10 mL, kecepatan 3000 rpm selama 20 menit, suhu 4°C. Supernatan diambil sebagai ekstrak kasar dan disentrifugasi kembali pada suhu 4°C kecepatan 15000 rpm selama 15 menit. Supernatan dianalisis menggunakan HPLC untuk melihat kadar *Sefalosporin C*. Panjang gelombang 254 nm dan kolom C-18 (4.6 x 150 mm).

Rancangan Percobaan Penelitian

Rancangan percobaan pertama yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Konsentrasi pati sagu dan volume enzim yang terdiri dari 3 level yaitu (40g/L:200µL, 50g/L:250µL, dan 60g/L:300µL). Percobaan ini dilakukan pada tahap likuifikasi (2 jam) dan sakarifikasi (24 jam dan 48 jam) sehingga menghasilkan 6 unit percobaan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan percobaan

Ulangan	Konsentrasi pati sagu dan volume enzim		
	40g/L:200µL	50g/L:250µL	60g/L:300µL
1	Y ₁₁	Y ₂₁	Y ₃₁
2	Y ₁₂	Y ₂₂	Y ₃₂

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian pengaruh variasi sirup gula cair sagu hasil hidrolisis terhadap kadar Sefalosporin adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor yang digunakan yaitu konsentrasi sirup gula cair sagu yang terdiri dari 5 level yaitu (1,5; 2,0; 2,5; 3,0 dan 3,5%). Percobaan dilakukan masing-masing sebanyak 5 kali ulangan, sehingga menghasilkan 25 unit percobaan.

Tabel 2. Parameter perlakuan penelitian

Ulangan	Konsentrasi sirup gula cair				
	GS-1,5%	GS-2,0%	GS-2,5%	GS-3,0%	GS-3,5%
1	Y ₁₁	Y ₂₁	Y ₃₁	Y ₄₁	Y ₅₁
2	Y ₁₂	Y ₂₂	Y ₃₂	Y ₄₂	Y ₅₂
3	Y ₁₃	Y ₂₃	Y ₃₃	Y ₄₃	Y ₅₃
4	Y ₁₄	Y ₂₄	Y ₃₄	Y ₄₄	Y ₅₄
5	Y ₁₅	Y ₂₅	Y ₃₅	Y ₄₅	Y ₅₅

Keterangan : GS : Gula Sagu

Dengan penetapan rancangan didasarkan pada asumsi bahwa semua faktor yang bukan perlakuan dibuat dan dianggap seragam, dengan model matematika sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij}: Nilai pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j;
 τ_i : Nilai tengah umum; ϵ_{ij} : Galat percobaan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j; i: Perlakuan; j: Ulangan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hidrolisis Pati Sagu Secara Enzimatis

Hidrolisis pati sagu secara enzimatis dilakukan dengan dua tahap yaitu likuifikasi dan sakarifikasi. Likuifikasi merupakan proses pencairan gel pati untuk memperoleh viskositas yang lebih rendah dengan cara menghidrolisis pati menjadi molekul-molekul sederhana. Sedangkan sakarifikasi merupakan proses pemecahan pati menjadi gula reduksi. Proses pendidihan dengan air RO bertujuan untuk meratakan panas ke seluruh bagian air sehingga mempermudah dan mempercepat berlangsungnya proses hidrolisis. Sementara penambahan CaCl₂ bertujuan untuk mempercepat reaksi enzim α -amilase yang sebagian besar merupakan kelompok metaloenzim. Senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatis. Kofaktor tersebut dapat berupa ion-ion anorganik seperti Zn, Fe, Ca, Mn, Cu, Mg atau dapat pula sebagai molekul organik kompleks yang disebut koenzim.

Pada penelitian ini pH berada pada kisaran 5,0 yang berarti pH telah mencapai range optimum. Sesuai dengan pendapat Nurkhotimah (2017) di luar pH optimum kenaikan pH (basa) atau penurunan pH (asam) menyebabkan penurunan aktivitas enzim dengan cepat dan bahkan kehilangan aktivitas katalitiknya. Hal ini terjadi karena struktur tiga dimensi enzim mulai berubah, sehingga substrat (pati sagu) tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim akibatnya proses katalitik tidak dapat berlangsung secara sempurna. Secara visual terjadi perubahan substrat yang semula berbentuk gel, berubah menjadi encer setelah penambahan enzim α -

amilase. Kelarutan yang tinggi menunjukkan bahwa pati akan mudah larut dan terbawa bersama air (Musatto, *et al.*, 2008).

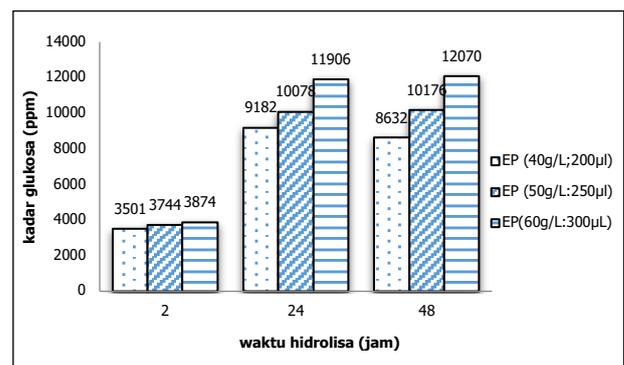


Gambar 1. (a) Gelatinisasi (b) likuifikasi (c) sakarifikasi

Sakarifikasi dimulai dengan memanaskan waterbath hingga suhu 60°C, karena enzim AMG (amiglukosidase) extenda peak 1.5X bekerja pada suhu optimum 60-63°C dengan pH optimum 4,5-6,5. Selama sakarifikasi sampel ditutup untuk menghindari penguapan. Secara visual terlihat bahwa pati sagu tahapan sakarifikasi terlihat jernih, lebih encer dan terjadi pengurangan volume. Pengamatan pati sagu sebelum dan setelah hidrolisis terlihat dalam Gambar 1. Untuk menghentikan reaksi enzimatis, larutan dipanaskan pada suhu 98-105°C selama 10 menit.

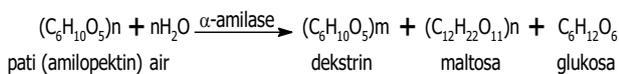
Analisis Glukosa Hasil Hidrolisis Enzimatis

Pegujian glukosa melibatkan proses sentrifugasi dan diuji dengan HPLC. Sentrifugasi adalah proses pemisahan larutan berdasarkan berat partikel, partikel yang densitasnya lebih tinggi daripada pelarut akan turun (sedimentasi) dan partikel yang lebih ringan akan mengapung ke atas (Gopala, 2016). Hasil HPLC dapat dilihat pada Gambar 2. Dengan EP (Konsentrasi Enzim dan Pati)



Gambar 2. Rata-rata kadar glukosa hasil hidrolisis

Dalam Gambar 2 terlihat bahwa kadar glukosa meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat dan volume enzim. Pada tahap likuifikasi dengan waktu hidrolisa 2 jam kadar glukosa maksimum diperoleh sebesar 3874 ppm atau 3,87 g/L dari konsentrasi pati sagu dan volume enzim (60g/L:300µL). Sedangkan kadar minimum diperoleh dari konsentrasi pati sagu dan volume enzim (40g/L:200µL) sebesar 3501 ppm. Hal ini sesuai dengan pendapat Budiyanto *et al.* (2016) yang menyatakan tingginya konsentrasi enzim akan berpengaruh terhadap kecepatan reaksinya. Lebih lanjut lagi konsentrasi substrat sedikit, kecepatan kerja enzim menjadi rendah. Sebaliknya jika konsentrasi substrat banyak, kerja enzim menjadi cepat dan pada keadaan substrat berlebih, kerja enzim tidak sampai menurun tetapi konstan. Enzim α-amilase menghidrolisis substrat terdiri dari dua tahap. Tahap pertama degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat. Tahap kedua terjadi pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir dan tidak acak. Sedangkan pada molekul amilopektin kerja α-amilase akan menghasikan glukosa, maltosa, oligosakarida⁸.



Pada tahap sakarifikasi, penambahan enzim AMG (amiglukosidase) extenda peak 1.5X sebesar 75µL dilakukan setelah proses likuifikasi. Sebelum memasuki tahap tersebut, suhu dalam shaker waterbath dikondisikan hingga suhu 60°C. Pada Gambar 1 terlihat bahwa setelah penambahan AMG kadar glukosa maksimum diperoleh sebesar 12070 ppm dari konsentrasi pati sagu dan volume enzim (60g/L:300µL) dalam waktu 48 jam. Hal ini membuktikan semakin lama waktu hidrolisa maka konsentrasi kadar glukosa juga semakin meningkat. Sebagaimana pendapat Heryanto (1992) yang menyatakan semakin lama enzim

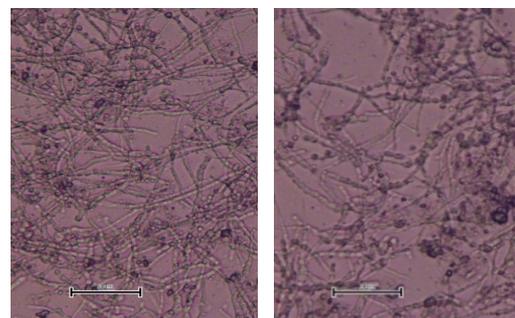
⁸glukosa (monosakarida), maltose (disakarida), dekstrin (oligosakarida)

bekerja pada suhu optimal (enzim termofilik), maka reaksi enzim berlangsung lebih cepat. Setiap peningkatan suhu 1°C dapat meningkatkan rata-rata reaksi lebih 10% hingga mencapai suhu optimal, setelah itu enzim menjadi tidak aktif. Pada tahap sakarifikasi dekstrin hasil likuifikasi akan dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim tunggal glukamilase maupun *debranching enzyme* untuk dikonversi menjadi glukosa.



Pengaruh Sirup Gula Cair Hasil Hidrolisis Enzimatis dari Sagu (Metroxylon Sp.) Sebagai Bahan Media Fermentasi Terhadap Kadar Sefalosporin C.

Sebelum melakukan penambahan hidrolisat pati sagu, perlu pengamatan morfologi kapang *A. chrysogenum*. Hal ini agar produk yang dihasilkan dalam jumlah optimum (Duan *et al.*, 2011). Pengamatan morfologi juga dilakukan agar dapat melihat pembentukan fragmen hifa⁹ yang membengkak serta kepadatan arthospora selama inkubasi lima hari. Pertumbuhan kapang *A. chrysogenum* dapat dilihat melalui bentuk morfologinya seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengamatan morfologi (a) pravegetatif dan (b) vegetative

Berdasarkan pengamatan morfologi dengan perbesaran 100x dan 400x terlihat pada tahap vegetatif, kapang yang ditumbuhkan pada media dengan penambahan sirup gula cair pati sagu (pravegetatif dan vegetatif) menunjukkan misellium menyebar dengan banyak cabang,

⁹Hifa: benang halus hasil perkecambahan spora

selain itu misellium juga cenderung lebih besar dan membengkak atau disebut arthospora. Hal ini mengindikasikan bahwa inoculum siap digunakan untuk fermentasi. Cao *et al.*, (2013) juga memperjelas bahwa antibiotik yang termasuk metabolit sekunder dihasilkan pada fase stasioner, pada fase tersebut antibiotik dihasilkan dengan jumlah tertinggi. Pertumbuhan kapang pada fase stasioner ditandai dengan perubahan morfologi hifa kapang menjadi bentuk arthospora. Hal ini menjadi acuan bahwa dengan seiring pembengkakan yang terjadi pada hifa menandakan hasil metabolit sekunder yaitu antibiotik *Sefalosporin* semakin tinggi. Untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan koloni perlu dilakukan perhitungan, agar diketahui penyebaran bakteri yang ada pada bahan salah satunya dengan perhitungan haemocytometer. Seperti yang dikemukakan oleh Volk (1993) penentuan jumlah angka mikroorganisme sangat penting dilakukan untuk menetapkan keamanan suatu sediaan farmasi dan makanan. Metode tersebut menghitung jumlah sel, massa sel, atau isi sel yang sesuai dengan jumlah sel. Adapun hasil perhitungan jumlah sel dengan faktor pengenceran 10^{-1} diperoleh jumlah sel sebanyak $4,2 \times 10^7$ CFU/mL.

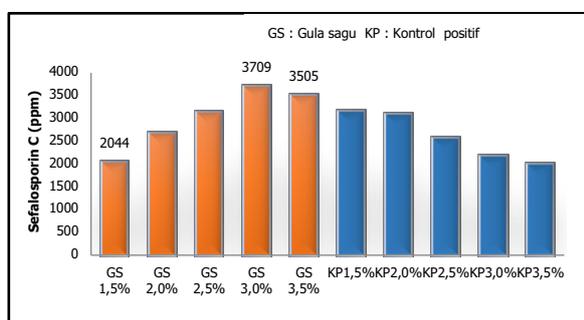
Dalam pembuatan media fermentasi, sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini ialah sirup gula cair sagu hasil hidrolisis dengan beberapa level konsentrasi yaitu (1,5%, 2,0%, 2,5%, 3,0% dan 3,5%) dan konsentrasi glukosa monohidrat (kontrol) dengan level yang sama. Glukosa merupakan senyawa monosakarida yang umumnya bersifat mudah dimetabolisme oleh mikroba dibanding gula lainnya, sehingga disebut sebagai substrat primer. Senyawa ini merupakan sumber karbon dan energi utama sebagian besar mikroba serta menjadi titik awal sebagian besar lintasan metabolisme mikroba.

Inokulasi kapang *A. chrysogenum*, fermentasi curah (*batch*) menggunakan sistem curah yakni sistem fermentasi tertutup dan tidak dilakukan penambahan substrat saat fermentasi berjalan. Menurut Stanbury (2008) keuntungan dari metode *batch* yaitu

produktivitas tinggi, waktu fermentasi cepat dan efek toksik direduksi pada komponen media. Dalam proses fermentasi, aerasi dan agitasi merupakan komponen yang penting untuk mengatur kandungan oksigen terlarut dalam media fermentasi aerob agar bahan media dan oksigen dapat terdistribusi secara merata. Hal ini sesuai dengan pendapat Hwang (2011) untuk mengatur kandungan oksigen terlarut dalam media fermentasi aerob diperlukan alat penunjang aerator dan agitator karena dapat mengatur kandungan oksigen terlarut sehingga dapat terdistribusi lebih merata dan fermentasi menjadi optimal. Media untuk perkembangbiakan bakteri harus steril sebelum digunakan oleh karena itu media fermentasi sebelum diinokulasikan disterilisasi terlebih dahulu pada autoklaf suhu 121°C selama 25 menit. Begitu pula saat proses inokulasi, perlu dilakukan secara aseptis untuk menghindari pencemaran udara yang mengandung banyak mikroorganisme. Perbedaan perlakuan media mempengaruhi *Sefalosporin C* yang dihasilkan oleh kapang *A. chrysogenum*, sehingga perlu dilakukan pengujian kadar *Sefalosporin C*. Metode pengujian kadar *Sefalosporin C* menurut Lu (2006) yang akurat yaitu dengan metode HPLC. Rata-rata kadar *Sefalosporin C* dari sirup gula cair sagu hasil hidrolisis enzimatis dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4 terlihat bahwa kadar *Sefalosporin C* maksimum diperoleh dari konsentrasi sirup gula cair sagu GS 3,0% sebesar 3709 ppm. Sedangkan kadar minimum diperoleh dari konsentrasi GS 1,5% dengan kadar *Sefalosporin C* 2044 ppm. Tinggi dan rendahnya penambahan konsentrasi sirup gula cair mempengaruhi pertumbuhan kapang *A. Chrysogenum*. Sirup tersebut dimanfaatkan sebagai nutrient (sumber karbon). Sebagaimana pendapat Srivastava (2006) bahwa dalam menghasilkan *Sefalosporin* dalam jumlah maksimum dibutuhkan sumber karbon, nitrogen, dan beberapa macam asam amino di dalam media kultivasi. Namun jumlah glukosa yang berlebih ternyata kurang tepat dalam menghasilkan *Sefaloparin*. Cao *et al.*, (2013) jumlah glukosa yang berlebih akan mendorong pertumbuhan yang cepat, namun

kurang tepat jika digunakan dalam menghasilkan *Sefalosporin*, yang dihasilkan bukan pada fase pertumbuhan melainkan pada fase stasioner. Dan apabila sirup gula cair sagu GS 3,0% dibandingkan dengan kontrol positif (glukosa monohidrat) dengan konsentrasi yang sama menghasilkan *Sefalosporin C* sebesar 3505 ppm. Perbandingan dengan kontrol positif dilakukan untuk melihat jumlah rerata kadar *Sefalosporin C* dengan penambahan sirup gula cair hasil hidrolisis enzimatis hampir sama atau tidak dengan penambahan glukosa monohidrat (glukosa murni). Glukosa monohidrat yang merupakan glukosa murni secara langsung digunakan sebagai bahan dalam aktivitas metabolisme. Sedangkan sirup gula cair sagu yang berasal dari pati (karbohidrat kompleks) tidak hanya memiliki kandungan glukosa saja tetapi juga kandungan gula lainnya. Hal ini menyebabkan kapang masih memiliki sumber karbon lainnya untuk dipakai sebagai media pertumbuhan jika glukosa telah habis digunakan. Hal ini akan mengakibatkan sel tidak terfokus pada pertumbuhannya karena harus memecah gula kompleks lainnya menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk dapat digunakan, sehingga ketika pertumbuhan sel terhambat maka sel akan memasuki fase stasioner saat metabolit sekunder dihasilkan.



Gambar 4. Analisis rata-rata kadar *Sefalosporin C* dari sirup gula cair sagu

Berdasarkan kurva pertumbuhan kapang *A. chrysogenum* diketahui produksi *Sefalosporin C* secara maksimum berada pada fase stasioner, oleh karena itu di dalam media ditambahkan senyawa yang dapat mempercepat fase pertumbuhan yaitu DL-

metionin. DL-metionin berfungsi sebagai penginduksi hifa untuk lebih besar sehingga fase pertumbuhan lebih cepat. Selain itu, Kapang *A. chrysogenum* dalam proses pembentukan hifa membutuhkan asupan nitrat untuk dapat tumbuh membesar dan menghasilkan *Sefalosporin C* dalam jumlah optimum. Nitrat mempengaruhi pembengkakan hifa sehingga mempercepat kapang *A. chrysogenum* memasuki fase stasioner ketika *Sefalosporin C* optimum dihasilkan. Sebagai antibiotik, *Sefalosporin* dihasilkan oleh kapang pada akhir fase pertumbuhannya dengan mengkatalis enzim *Sefalosporin C* sintetase (asetil transferase), yang melibatkan transfer satu gugus asetil dari koenzim asetil A ke gugus hidroksimetil atom C-3 pada deasetil sefalosporin C (Schmitt *et al.* 2004). Enzim yang berperan dalam proses pembentukan *Sefalosporin*. Menurut Ruiz (2010) enzim yang telah dibentuk, pada fase akhir pertumbuhan kapang akan digunakan untuk mengkatalis *Sefalosporin*.

Parameter pendukung lain yang perlu dilakukan untuk mendukung keabsahan pengaruh sirup gula cair terhadap kadar *Sefalosporin C* GS 3,0% ialah pengukuran PMV (Packed Mycelia Volume), pH, gula total dan glukosa akhir. Dalam pengukuran PMV, jumlah sel (biomassa) dari konsentrasi GS 3,0% memiliki rata-rata PMV sebesar 23,4%. Hal tersebut disebabkan karena sel kapang telah memasuki fase stasioner dan atau fase kematian, akibat nutrisi yang terdapat pada media telah berkurang dan mulai habis karena digunakan oleh sel sebagai nutrisi dalam pertumbuhannya. Pada saat substrat mendekati habis dan terjadi penumpukan produk-produk penghambat maka terjadi penurunan laju pertumbuhan. Pada fase stasioner konsentrasi biomassa mencapai maksimum. Setelah fase tersebut terjadi fase kematian

Dalam pengukuran pH didapatkan pH rata-rata 5,90 yang umumnya semakin aktif mikroorganisme melakukan fermentasi semakin tinggi produk yang dihasilkan baik produk utama maupun produk sampingan. Asam-asam yang dihasilkan sebagai produk sampingan inilah yang membuat pH larutan

semakin rendah. Dalam pengukuran kadar glukosa akhir didapatkan sebesar 9,74 g/L dari kadar gula total 46,8 g/L. awal fermentasi mikroorganisme akan memecah sumber karbon gula sederhana seperti glukosa, setelah glukosa habis selanjutnya mikroba akan memecah substrat yang kompleks yaitu pati dalam aktivitas metabolisme sel mikroba. Untuk mengetahui adanya pengaruh penambahan sirup gula cair pati sagu hasil hidrolisis terhadap kadar *Sefalosporin C* yang dihasilkan, perlunya dilakukan uji analisa ragam (ANOVA). Adapun hasil uji analisa ragam (ANOVA) dapat dilihat pada tabel

Tabel 3. Uji ANOVA penambahan sirup gula cair sagu terhadap kadar *Sefalosporin C*.

Sumber	Jumlah Kuadrat	Db	Kuadrat Tengah	F hitung	p-value
Perlakuan	7138298.183	4	1784574.546	88.325	.000
Error	303070.367	15	20204.691		
Total	7441368.550	19			

Berdasarkan Tabel 3 nilai P-value (0.00) lebih kecil dari nilai α (0,05). Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh penambahan sirup gula cair sagu terhadap kadar *Sefalosporin C*. Selanjutnya, dilakukan uji lanjut Duncan untuk melihat perbedaan rata-rata penambahan sirup gula cair sagu terhadap kadar *Sefalosporin C* yang dihasilkan dari tahap fermentasi. Hasil uji lanjut Duncan perbedaan rata-rata sirup gula cair sagu terhadap kadar *Sefalosporin C* yaitu pada sampel konsentrasi pati sagu 1,5%, 2,0%

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Proses hidrolisis pati sagu secara enzimatis meliputi proses likuifikasi, dan sakarifikasi. Proses likuifikasi menggunakan beberapa konsentrasi pati sagu sebesar 60 g/L dengan konsentrasi enzim Liquozyme Supra 300 μ L pada suhu 95-105°C, pH 5,0-5,5 dengan waktu hidrolisa 2 jam. Sedangkan sakarifikasi menggunakan konsentrasi enzim 75 μ L pada suhu 60°C,

pH 4,0-4,5 dengan waktu 48 jam. Setelah itu kadar glukosa dinalisis dengan HPLC

2. Hasil pengujian kadar glukosa secara enzimatis pada tahap likuifikasi optimum waktu hidrolisa 2 jam, kadar glukosa 3874 ppm dari konsentrasi pati sagu dan volume enzim (60g/L:300 μ L). Sedangkan kadar minimum diperoleh sebesar 3501 ppm dari konsentrasi pati sagu dan volume enzim (40g/L:200 μ L). Pada tahap sakarifikasi kadar glukosa maksimum sebesar 12070 ppm pada waktu hidrolisa 48 jam.
3. Kadar maksimum *Sefalosporin C* diperoleh dari penambahan sirup gula cair sagu GS 3,0% sebesar 3709 ppm dan kadar minimum diperoleh sebesar 2044 ppm dari konsentrasi GS 1,5%. Kontrol positif (glukosa monohidrat) dengan perlakuan sama (GS 3,0%) diperoleh kadar *Sefalosporin C* sebesar 3505 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih atas bantuan semua pihak khususnya Dosen Pembimbing, Pihak Dekanat Fateta UTS dan Laboran di BPPT. Tidak lupa disampaikan salalam hormat pada orang tua serta salam kompak untuk kawan-kawan THP angkatan 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Azmi, A.S., M.I.A. Malek and N.I.H. Puad 2017. A review on Acid and Enzymatic Hydrolyses of Sago Starch. *Journal International Food Research* 24: 265-273.
- Budiyanto, A., M. Pujoyuwono dan N. Richana. 2016. Optimasi Proses Pembuatan Sirup Glukosa Skala Pedesaan. *Teknologi Pasca Panen*: 28-35.
- Cao, K., H. Altaba & K. Kalama. 2013. Nitrogen Source Governs the Pattern of Growth and Prostinamycein Production in *Streptomyces Pristina Espiralis*. *Journal Microbiology* 1(147): 2447-2459.
- Derosya, Vioni. Kasim, Anwar. 2017. Optimasi produksi maltodekstrin berbasis pati sagu menggunakan α -amilase dan metode spray drying. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas* 21(1).

- Duan, S., Y. Guoqiang, Z. Yanli, L. Hongfei, N. Weijia & S. Meina. 2011. Enhanced Cephalosporin C Production With a Combinational Ammonium Sulfate and DO Based Soybean Oil Feeding. *Journal Biochemical Engineering* 6(11): 110–123.
- Gopala, J. 2016. Pengaruh Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Hasil Pemeriksaan Sedimen Urin pada Metode Konvensional. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Hermiati, E., J.i. Azuma, D. Mangunwidjaja, T.C. Sunarti, O. Suparno and B. Prasetya. 2011. Hydrolysis Of Carbohydrates in Cassava Pulp and Tapioca Flour Under Microwave Irradiation. *Indonesia Journal of Chemistry* 11(3): 2457-2469.
- Heryanto, T.E. 2012. Penentuan Aktivitas Amilase Kasar Termofil *Bacillus Subtilis* Isolat Gunung Darajat Garut, Jawa Barat. Universitas Pendidikan Indonesia. *Repository*: upi.ac.id.
- Hwang, K. 2011. Aqueous Two Phase Extraction (ATPE): An Attractive and Economically Viable Technology for Downstream Processing of *Aspergillus Oryzae* Galactosidase. *Journal Biochemistry* 43: 1293-1299.
- Misset, W. Wan-Nadiah and R. Bhat. 2013. Physicochemical Properties, Proximate Composition, and Cooking Qualities of Locally Grown and Imported Rice Varieties Marketed In Penang, Malaysia. *Journal International Food Research* 3(20):1345-1351.
- Nurkhotimah. 2017. Produksi Sirup Glukosa dari Pati Sagu Yang Berasal dari Beberapa Wilayah di Indonesia. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Onions, R. and Brady. 1987. The Effect of Heat Moisture Treatment on The Structure and Physicochemical Properties of Normal Maize, Waxymaize, Dull Waxy Maize and Amylomaize V Starches. *Journal Cereal Science* 23:153-162.
- Prabandari, E. E., Hidayati, N. Dyah., Dewi, Diana., Islamiati, D. Eni., K. Syamsu., 2017. Peningkatan Produksi *Sefalosporin C* dari *A. Chrysogenum* CB2/11/1.10.6 dengan Optimasi Media Menggunakan Metode Respon Permukaan. *Jurnal Bioteknologi dan Sains* 4(1): 548-611.
- Ruiz, B., C. Adan, & F. Angela. 2010. Production of Microbial Secondary Metabolites: Regulation by The Carbon Source. *Journal Microbiology* 36:146-167.
- Rofiq, A.A., I.A. El-Thalouth and S. Tawfik. 2013. Gelatinization of Starch in Aqueous Alkaline Solutions. *Journal Starch Starke*, 2(47): 338-345.
- Schmitt, E. K., B. Hoff, U. Kuck. 2004. Regulation of Sefalosporin Biosynthesis. *Journal Biochemistry and Biotechnology* 88: 1-43.
- Stanbury, L. 2008. Hidrolisis Serbuk Empulur Sagu (*Metroxylon Sagu* Rottb.) dengan Hidrolisis Kimiawi. *Jurnal ISBN 978-979-1165-74-7*. Lampung: Seminar Nasional Sains dan Teknologi II UNILA.
- Srivastava, P., P. Mishra, & S. Kundu. 2006. Process Strategies for Cephalosporin C Fermentation. *Journal Science Industrial Research*: 599-602.
- Tester, R.F. and J. Karkalas. 1996. Swelling and Gelatinization of Oat Starches. *Journal Cereal Chemistry* 1(73): 271-273.
- Triyono, A. 2008. Karakteristik Gula Glukosa dari Hasil Hidrolisa Pati Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*, L.) dalam Upaya Pemanfaatan Pati Umbi-Umbian. <https://media.neliti.com/media/>